

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE

**TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE CÉLULAS-TRONCO
HEMATOPOIÉTICAS NO GRUPO INFANTO/JUVENIL
NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE-
RS: UMA ANÁLISE DE SUAS CARACTERÍSTICAS,
PRINCIPAIS COMPLICAÇÕES E DESFECHOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MANOELA SANTOS BOFFO

Porto Alegre, Brasil
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE

**TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE CÉLULAS-TRONCO
HEMATOPOIÉTICAS NO GRUPO INFANTO/JUVENIL
NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE-
RS: UMA ANÁLISE DE SUAS CARACTERÍSTICAS,
PRINCIPAIS COMPLICAÇÕES E DESFECHOS**

MANOELA SANTOS BOFFO

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof. Dra. Liane Esteves Daudt

Porto Alegre, Brasil
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE

ESTA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

30 / 04 / 2014

E FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Prof. Dra. Mariana Bohns Michalowski
Departamento de Pediatria
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Prof. Dra. Lucia Mariano da Rocha Silla
Departamento de Hematologia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Lauro José Gregianin
Departamento de Pediatria e Puericultura/PPGSCA
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CIP - Catalogação na Publicação

Boffo, Manoela Santos

Transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas no grupo infante/juvenil no Hospital de Clínicas de Porto Alegre-RS: uma análise de suas características, principais complicações e desfechos / Manoela Santos Boffo. -- 2014.
119 f.

Orientadora: Liane Esteves Daudt.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Transplante de células-tronco hematopoiéticas.
2. Pediatria. I. Daudt, Liane Esteves, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

À minha mãe, que mesmo não estando mais presente, é eternamente responsável por tudo que sou.

Ao meu pai, pelo apoio e amizade sempre presentes e pelo exemplo de médico sempre a ser seguido.

À minha querida irmã Bruna que torna minha vida muito melhor.

Às minhas tias Vera, Nídia e Maiu pelo carinho e apoio incondicionais que sempre me deram.

Ao meu marido “Mineiro”, companheiro e melhor amigo de muitos anos, que me acompanha dividindo alegrias e tristezas, sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Ao Serviço de Hematologia e Transplante de Medula Óssea do HCPA, por ter possibilitado meu crescimento na área da hematologia e pelo carinho de todos os colegas.

À amiga Clarissa, por todo carinho e amizade nestes últimos anos.

Ao Matheus, por estar presente e sempre pronto a ajudar.

Ao Tony, pela ajuda e amizade incondicional.

Aos amigos Ana Cristina e “Obelix”, pela presença em todos os momentos. E a tantos outros amigos que tornaram tudo isto possível.

Aos meus queridos pacientes que certamente tornaram meus dias mais felizes e com quem muito aprendi. Obrigada pelo carinho e alegria de vocês.

Ao Dr. Raúl Sassi por toda ajuda para a realização deste trabalho.

À Dra. Liane Daudt, pelos ensinamentos e amizade nestes anos de convivência.

RESUMO

O Transplante de Células-tronco hematopoiéticas (TCTH) alogênico é um procedimento com grande potencial de cura para uma variedade de doenças malignas e não malignas, tanto no grupo pediátrico como em pacientes adultos. O objetivo do trabalho foi descrever o perfil dos pacientes pediátricos submetidos ao TCTH alogênico no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, assim como verificar a incidência das principais complicações e seus possíveis fatores de risco. Foi realizado um estudo de coorte retrospectivo de 100 pacientes entre 0 e 21 anos submetidos ao TCTH alogênico no HCPA entre 1995 e 2011. A mediana de idade do receptor foi 9,5 anos, sendo 55% do sexo masculino. As principais doenças de base foram as leucemias agudas (48%), onde 60,4% eram LLA, 37,5% LMA e 2,1% leucemia secundária. 73% dos transplantes foram de doadores aparentados e a medula óssea foi a principal fonte empregada (85,4%). A incidência de DECH aguda foi de 46% e de DECH crônica de 30,8%. Vinte pacientes recaíram da doença de base e 38 evoluíram para o óbito. A SG em 10 anos foi de 57% e a SLD para as leucemias agudas foi de 45%. Em análise multivariada, o doador não aparentado, o uso de TBI e a recaída da doença de base foram fatores de risco para a SG. Para a DECH crônica, o uso de outras profilaxias para DECH exceto CSA+MTX foi fator de risco. Nosso trabalho foi importante para descrever as características, principais desfechos e fatores de risco associados do TCTH no grupo pediátrico de nossa instituição.

Descritores: Transplante de células-tronco hematopoiéticas, criança, adolescente, Brasil.

ABSTRACT

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a potentially curative procedure for a variety of malignant and non-malignant diseases. The aim of this study was to describe the pediatric population submitted to HSCT at Hospital de Clínicas de Porto Alegre and identify the incidence and risk factors of the main outcomes. We retrospectively reviewed 100 patients from 0 to 21 years old who underwent allogeneic HSCT between 1995 and 2011. The median age was 9,5 years and 55% were male. Acute leukemia was the most prevalent disease in this group (48%), from which 60,4% were ALL, 37,5% AML and 2,1% secondary leukemia. 73% of the transplants were from related donors and the bone marrow was the source in 85,4% of the procedures. The incidence of acute GVHD was 46% and of chronic GVHD was 30,8%. Twenty patients relapsed and 38 died. The OS at 10 years was 57% and the DFS for the group transplanted with acute leucemia was 45%. Unrelated donor, TBI and relapse were associated with a worse survival on multivariate analysis. Other GVHD prophylaxis than CSA+MTX was a risk factor for chronic GVHD on multivariate analysis. Our study was important to understand the characteristics, outcomes and risk factors for the HSCT in the pediatric group of a single institution in Brazil.

Keywords: Stem Cell Transplantation, children, adolescents, Brazil.

LISTA DE TABELAS

DISSERTAÇÃO

Tabela 1 - Indicações para o Transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH).....	21
Tabela 2 - Critérios de indicação de TCTH em leucemias agudas em pediatria.....	25
Tabela 3 - Estadiamento da DECH aguda.....	44
Tabela 4 - Gradação da DECH aguda conforme o estadiamento.....	45
Tabela 5 - Variáveis preditoras relacionadas ao receptor, doador, TCTH e exames laboratoriais.....	57
Tabela 6 - Características dos pacientes e seus doadores (n=100).....	60
Tabela 7 - Características do TCTH e suas complicações.....	63
Tabela 8 - Características do TCTH e suas complicações nos pacientes transplantados com leucemia aguda (N=48).....	65
Tabela 9 - Variáveis com significância estatística em análise univariada para os desfechos.....	68
Tabela 10 - Variáveis com significância estatística na análise univariada para a sobrevida global (SG) em 10 anos.....	73
Tabela 11 - Análise multivariada dos fatores de risco para a Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro aguda (DECHa).....	75
Tabela 12 - Análise multivariada dos fatores de risco para a Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro crônica (DECHc).....	76
Tabela 13 - Análise multivariada para os fatores de risco para a sobrevida global.....	77

ARTIGO

Tabela 1 - Variáveis preditoras relacionadas ao receptor, doador e TCTH e exames laboratoriais.....	100
Tabela 2 - Características dos pacientes e seus doadores (n=100).....	103
Tabela 3 – Características do TCTH e suas complicações.....	104
Tabela 4 - Características do TCTH e suas complicações nos pacientes transplantados com leucemia aguda (N=48).....	105

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

Tabela 5 - Variáveis com significância estatística para os desfechos.	107
Tabela 6 - Variáveis com significância estatística na análise univariada para a sobrevida global (SG) em 10 anos.	109

LISTA DE QUADRO

DISSERTAÇÃO

Quadro 1 - Níveis de evidência para as recomendações para o TCTH.	27
--	----

LISTA DE FIGURAS

DISSERTAÇÃO

Figura 1 - Imunidades inata e adaptativa	37
Figura 2 - Tempo de ocorrência das principais infecções após o TCTH.	40
Figura 3 - Fisiopatologia da DECH aguda	43
Figura 4 - Distribuição da frequência (%) dos pacientes submetidos ao TCTH de acordo com a doença de base.....	62
Figura 5 - Sobrevida global em 10 anos dos pacientes submetidos ao TCTH.....	69
Figura 6 - Sobrevida global em 10 anos de acordo com o uso de TBI.....	70
Figura 7 - Sobrevida global em 10 anos conforme a presença ou não de recaída da doença de base.....	70
Figura 8 - Sobrevida global em 10 anos conforme sorologia CMV do doador.....	71
Figura 9 - Sobrevida global em 10 anos de acordo com o tipo de doador.....	71
Figura 10 - Sobrevida global em 10 anos de acordo com o status da doença.....	72
Figura 11 - Sobrevida global em 10 anos conforme o valor das plaquetas entre os dias 6 e 8 após o TCTH.....	72
Figura 12 - Sobrevida global em 10 anos no grupo com leucemia aguda e outras doenças de base.....	74
Figura 13- Sobrevida livre de doença em 10 anos dos pacientes com leucemia aguda submetidos ao TCTH.....	74

ARTIGO

Figura 1 - Sobrevida global em 10 anos dos pacientes submetidos ao TCTH.....	108
Figura 2- Sobrevida livre de doença em 10 anos dos pacientes com leucemia aguda submetidos ao TCTH.....	108

LISTA DE ABREVIATURAS

- TCTH - Transplante de células-tronco hematopoiéticas
- HLA - Antígeno leucocitário humano
- TRM - Mortalidade relacionada ao transplante
- DECH - Doença do enxerto contra o hospedeiro
- GVL - Efeito enxerto *versus* leucemia
- TBI - Irradiação corporal total
- LMA - Leucemia mielóide aguda
- LLA - Leucemia linfocítica aguda
- SMD - Síndrome mielodisplásica
- LMC - Leucemia mielóide crônica
- G-CSF - Fator estimulador de colônia de granulócitos
- MHC - Complexo maior de histocompatibilidade
- PCR - Polimerase chain reaction
- REDOME - Registro brasileiro de doadores de medula óssea
- DLI - Infusão de linfócitos do doador
- RIC - Condicionamento de intensidade reduzida
- CMV - Citomegalovírus
- APC - Célula apresentadora de antígenos
- SOS - Síndrome obstrutiva sinusoidal
- VOD - Doença hepática venoclusiva
- GH - Hormônio do crescimento
- EBV - Vírus Epstein Barr
- mHA - Antígenos menores de histocompatibilidade

GGT - Gama glutamil transferase

FA - Fosfatase alcalina

EBMT - European Group for Blood and Marrow Transplantation

SG - Sobrevida global

SLD - Sobrevida livre de doença

CSA - Ciclosporina

MTX - Metotrexate

BU - Bussulfan

CY - Ciclofosfamida

TGO - Transaminase glutâmico oxalacética

TGP - Transaminase glutâmico pirúvica

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 TCTH alogênico – Marcos históricos.....	18
2.2 Indicações para o TCTH alogênico.....	20
2.3 Fontes de células-tronco hematopoiéticas.....	27
2.4 Tipagem HLA.....	31
2.5 Condicionamento.....	33
2.6 Enxertia.....	36
2.7 Reconstituição imunológica após o TCTH.....	36
2.8 Complicações pós TCTH.....	38
2.8.1 Infecções.....	38
2.8.2 Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH).....	41
2.8.3 Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Aguda.....	42
2.8.4 Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Crônica.....	45
2.8.5 Outras complicações precoces.....	47
2.8.6 Outras Complicações tardias.....	48
2.9 Fatores de risco para a DECH aguda.....	49
2.10 Fatores de risco para a DECH crônica.....	50
2.11 Estudos brasileiros prévios no grupo pediátrico.....	52
3. JUSTIFICATIVA.....	54
4. OBJETIVOS.....	55
5. METODOLOGIA.....	56
6. RESULTADOS.....	60
6.1 Análise descritiva.....	60
6.2 Análise univariada.....	66
6.3 Sobrevida global em 10 anos e sobrevida livre de doença.....	68
6.4 Análise multivariada.....	75
7. DISCUSSÃO.....	78
8. CONCLUSÕES.....	84
REFERÊNCIAS.....	85
ARTIGO.....	98

1. INTRODUÇÃO

O Transplante de Células-tronco hematopoiéticas (TCTH) alogênico é um procedimento com um grande potencial de cura para uma variedade de doenças malignas e não malignas tanto no grupo pediátrico como nos adultos (BOUZAS, 2000; GYURKOCZA *et al.*, 2010; KOLINS *et al.*, 2011). Primeiramente foi considerado como uma opção para resgatar os pacientes dos efeitos tóxicos das altas doses de irradiação e quimioterapia que eram usadas para o tratamento de uma gama de patologias, através da reconstituição da hematopoese pelas células transplantadas. No entanto, logo ficou evidente a importância das reações imunológicas das células do doador contra as células malignas do receptor (GYURKOCZA *et al.*, 2010).

Foi usado, inicialmente, para pacientes portadores de leucemias em estágio avançado da doença ou anemia aplásica com falha aos tratamentos convencionais. Com o avanço na seleção dos doadores, na tipagem do HLA (antígeno leucocitário humano), nos regimes de condicionamento utilizados e atendimento de suporte ao paciente, suas indicações ampliaram dramaticamente, sendo atualmente importante no tratamento de doenças hematológicas malignas, outras doenças hematológicas e desordens imunológicas (GYURKOCZA *et al.*, 2010; OSAWA *et al.*, 2007). Além do aumento da gama de doenças com indicação ao TCTH, ele também vem sendo empregado em estágios cada vez mais precoces da doença, visto a importante relação encontrada em estudos entre os desfechos obtidos e o estágio da doença no momento do transplante (GYURKOCZA *et al.*, 2010).

No entanto, o TCTH alogênico apresenta uma alta morbimortalidade, com mortalidade relacionada ao transplante (TRM) em cinco anos entre 24% e 34% (LAMEGO *et al.*, 2010). O desfecho do TCTH alogênico em crianças depende de vários fatores, como a doença de base, o status de remissão da doença, o tipo de doador, o grau de compatibilidade HLA, assim

como a idade e comorbidades do receptor. Neste grupo, a TRM fica em torno de 10% a 20% nos transplantes com doadores aparentados e 20% a 40% nos transplantes não aparentados. A sobrevida global em 5 anos para as crianças submetidas ao transplante por leucemia mielóide aguda é de 70%, sendo 50% para aquelas com leucemia linfocítica aguda. Para as submetidas ao TCTH por doenças não malignas, a sobrevida global é de 85% (KOLINS et al., 2011).

Além da alta morbimortalidade, o TCTH é um procedimento passível de várias complicações tanto imediatas como tardias, tais como: infecções, toxicidade orgânica devido aos regimes de condicionamento, doença do enxerto contra o hospedeiro aguda e crônica, além da possibilidade de recaída da doença de base (WEISDORF, 2007). Dentre estas, destaca-se a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) como uma das principais complicações e causa de morbimortalidade do TCTH alogênico (FERRARA et al., 2009; VIZONI *et al.*, 2008). Esta doença resulta do ataque das células imunocompetentes do doador aos tecidos do receptor geneticamente diferente e pode ser classificada em dois tipos distintos, a DECH aguda e a DECH crônica, de acordo com o tempo de sua ocorrência e suas manifestações clínicas (VIZONI *et al.*).

A DECH aguda se mantém como uma complicação comum decorrente do TCTH alogênico, com incidência entre 35% e 59% nos transplantes aparentados, sendo causa importante de morbimortalidade nestes pacientes, enquanto que a forma crônica é a complicação tardia mais frequente nos sobreviventes, ocorrendo em aproximadamente 20 a 70% dos pacientes que sobrevivem após 100 dias do procedimento, além de ser uma das principais causas de TRM (HAHN *et al.*, 2008; HIGMAN e VOGELSANG, 2004; JAGASIA *et al.*, 2012; LAMEGO *et al.*, 2010; LEE, 2005). Apesar de estar associada a uma maior mortalidade, a DECH crônica é também responsável por um efeito anti leucemia (GVL) que confere, nos casos de DECH leve, uma melhora na sobrevida destes pacientes,

fazendo-se importante um controle do grau de desenvolvimento desta condição (CARLENS *et al.*, 1998).

Devido ao importante impacto que a DECH possui nos desfechos obtidos pós TCTH alogênico, vários estudos analisaram possíveis fatores de risco para o seu desenvolvimento, visando uma modulação destes fatores, diminuindo assim a morbimortalidade causada por esta complicação (ATKINSON *et al.*, 1990; BACIGALUPO *et al.*, 1999; BACIGALUPO *et al.*, 2001; CARLENS *et al.*, 1998; JAGASIA *et al.*, 2012; OSAWA *et al.*, 2007; REMBERGER *et al.*, 2002; SORMANI *et al.*, 2003).

Diversos fatores de risco para DECH aguda já foram descritos, tais como a incompatibilidade HLA, idade e sexo do doador e receptor, doses elevadas de irradiação corporal total (TBI), intensidade do regime de condicionamento, profilaxia para DECH aguda, falta de ambientes protetores, transfusões pós transplante, compatibilidade ABO, esplenectomia prévia e a doença de base (HAHN *et al.*, 2008). Alguns estudos também identificaram tanto fatores relacionados ao paciente (idade, estágio da doença), como ao doador (idade, grau de compatibilidade HLA, sexo) e ao transplante (condicionamento, fonte de células, quantidade de células tronco infundidas, tipo de doador), entre outros, como fatores de risco para o desenvolvimento de DECH crônica. Outros estudos tentaram identificar exames laboratoriais capazes de prever a mortalidade relacionada ao TCTH e a ocorrência de DECH crônica, como, por exemplo, níveis de bilirrubina, proteínas totais e contagem plaquetária (BACIGALUPO *et al.*, 1999; BACIGALUPO *et al.*, 2001; SORMANI *et al.*, 2003).

Apesar dos estudos realizados, pouco ainda se conhece sobre o TCTH alogênico no grupo de crianças e adolescentes, suas peculiaridades e complicações, assim como em populações com menor nível socioeconômico, como a analisada no presente estudo (CASTRO JR. *et al.*, 2003). Silla *et al.*, 2009 identificaram um menor nível socioeconômico

como um forte fator prognóstico em pacientes predominantemente adultos submetidos ao TCTH alogênico no Brasil, influenciando a TRM, o risco de DECH e a sobrevida global destes pacientes (SILLA *et al.*, 2009).

2. REVISÃO DA LITERATURA

As células-tronco são definidas como uma população de células indiferenciadas que possuem a capacidade de se dividir por período indefinido, de auto renovação e de gerar uma prole celular altamente especializada (COPELAN, 2006; WODNAR-FILIPOXICZ, 2008). As células-tronco hematopoiéticas são aquelas que tem a capacidade de se replicar e de dar origem a todas as células sanguíneas maduras (COPELAN, 2006; KOLINS *et al.*, 2011; SEBER *et al.*, 2007). O TCTH nada mais é, do que a infusão em um receptor destas células-tronco provenientes de um doador ou do próprio paciente.

Sendo assim, o TCTH pode ser classificado segundo o doador em autólogo (autogênico) quando as células são originárias do próprio paciente, em singênico quando o doador é um irmão gêmeo univitelino ou alogênico quando o doador é um indivíduo geneticamente distinto (KOLINS *et al.*, 2011; SEBER *et al.*, 2007).

2.1 TCTH alogênico – Marcos históricos

Atualmente, cerca de 55000-60000 TCTHs são realizados em todo o mundo a cada ano (GYURKOCZA *et al.*, 2010). No entanto, apesar de ser um procedimento originalmente concebido há mais de 50 anos como um tratamento para as injúrias causadas pela irradiação e após, para o tratamento do câncer, vários problemas relacionados a ele tiveram que ser solucionados ao longo do tempo para tornar possível essa realidade (COPELAN, 2006).

No final da década de 40 a falência da medula óssea foi reconhecida como causa de morte em pessoas submetidas à irradiação. Em 1949, Jacobson *et al.* perceberam que ratos submetidos a uma irradiação supostamente letal, poderiam sobreviver se tivessem seu baço

protegido e, em 1951, Lorenz *et al.* descreveram um efeito protetor similar através da infusão de células provenientes do baço ou da medula óssea. Tentativas de tratamento de pacientes com irradiação em dose supraletal seguida de transplante de medula óssea foram reportadas em 1957 por Thomas *et al.* e, em 1959, os mesmos autores relataram o tratamento de dois pacientes com leucemia em estágio avançado com irradiação e transplante de medula óssea de seus irmãos gêmeos idênticos. Apesar de ambos terem recaído da leucemia, estes foram os primeiros pacientes tratados deliberadamente com doses supra letais de irradiação e posterior transplante e, a ocorrência de recuperação hematológica nestes pacientes foi de extrema importância para confirmar os princípios do TCTH como um possível tratamento (THOMAS e BLUME, 1999).

Em 1959, Bellingham e Brent perceberam que as células do enxerto poderiam reagir imunologicamente contra as células dos tecidos do hospedeiro resultando em uma síndrome hoje conhecida como doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) (THOMAS e BLUME, 1999).

Na década de 60, o TCTH alogênico se tornou possível após a descrição do Antígeno Leucocitário Humano (HLA) por Dausset *et al.* e van Rood *et al.* e, posteriormente, estudos realizados com cachorros mostraram a importância deste grupo de antígenos no TCTH e evidenciaram conceitos importantes como falha na pega do enxerto, rejeição do enxerto, DECH, incompatibilidade HLA como fator associado à rejeição e à presença de DECH (COPELAN, 2006; THOMAS e BLUME, 1999).

Em 1975 foram publicados resultados de 37 pacientes com anemia aplásica severa e 73 com leucemia em estágio avançado que foram submetidos ao TCTH alogênico, obtendo resultados positivos com pega do enxerto nos pacientes com anemia aplásica e sobrevivência em remissão de alguns dos pacientes com leucemia. No final da década de 70 outros estudos mostraram sucesso na sobrevida livre de doença de pacientes com leucemia aguda em estágio

avançado, o que possibilitou considerar o TCTH como um procedimento possível de ser realizado em estágios mais precoces da doença. Finalmente, em 1979, alguns estudos mostraram bons resultados com o TCTH em leucemia mielóide aguda em primeira remissão e, após, o seu uso para outras doenças como a talassemia maior e a doença falciforme (THOMAS e BLUME, 1999; THOMAS *et al.*, 1979).

Todos estes esforços acabaram por transformar o TCTH alogênico em uma terapia potencialmente curativa para doenças em estágios cada vez mais precoces e para uma gama cada vez maior de patologias (GYURKOCZA *et al.*, 2010; OSAWA *et al.*, 2007; THOMAS e BLUME, 1999).

2.2 Indicações para o TCTH alogênico

Como já ressaltado, o TCTH alogênico é uma importante terapia curativa para uma ampla variedade de doenças hematológicas, destacando-se doenças neoplásicas como as leucemias, linfomas e doenças mieloproliferativas e patologias benignas como a talassemia, anemia falciforme, aplasias congênitas ou adquiridas e imunodeficiências primárias. No entanto, cada uma destas doenças possui indicações precisas para a realização do procedimento, geralmente baseadas em dados de citogenética, estágio e gravidade da doença, idade do paciente e resposta a tratamentos anteriores (AMAYIRI *et al.*, 2013; BHATIA e WALTERS, 2008; DVORAK e COWAN, 2008; GLUCKMAN e WAGNER, 2008; GYURKOCZA *et al.*, 2010; OSAWA *et al.*, 2007; SHENOY e SMITH, 2008; THOMAS *et al.*, 1979; THOMAS e BLUME, 1999).

As indicações de transplante de células tronco hematopoiéticas no Brasil são regulamentadas pela Portaria 2600 de 21 de outubro de 2009 do Ministério da Saúde, onde

estão discriminadas as patologias a serem beneficiadas com o transplante, baseado em suas características e idade do receptor para cada tipo de transplante (Tabela 1).

Tabela 1 - Indicações para o Transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH).

TCTH alogênico aparentado com mieloablação: idade do receptor ≤65 anos

Fonte Celular: Medula Óssea

*LMA em primeira remissão, exceto leucemia promielocítica (M3), t(8;21) ou inv(16)

LMA com falha na primeira indução

LMA em segunda ou terceira remissão

*LLA/linfoma linfoblástico em segunda ou remissões posteriores

LLA Ph positivo entre a primeira e a segunda remissão

*LMC em fase crônica ou acelerada (de transformação)

Anemia aplástica grave adquirida ou constitucional

*SMD de risco intermediário ou alto, incluindo-se a *LMMC nas formas adulto e juvenil - LMC juvenil

Imunodeficiência celular primária

Talassemia major (pacientes <15 anos, com hepatomegalia até 2cm, sem fibrose hepática e tratados adequadamente com quelante de ferro)

Mielofibrose primária em fase evolutiva

Fonte celular: sangue periférico

LMA em primeira remissão, exceto leucemia promielocítica (M3), t(8;21) ou inv (16)

Fonte celular: sangue periférico

LMA em segunda ou terceira remissão

LLA/linfoma linfoblástico em segunda ou remissões posteriores

Continua...

Continuação...

TCTH alogênico aparentado com mieloablação: idade do receptor ≤ 65 anos

Fonte celular: sangue periférico

LLA Ph positivo entre a primeira e a segunda remissão

LMC em fase tardia após 1 ano do diagnóstico ou em fase acelerada (de transformação)

SMD de risco intermediário ou alto, incluindo-se a LMMC nas formas adulto e juvenil – LMC juvenil

Talassemia major (pacientes <15 anos, com hepatomegalia até 2cm, sem fibrose hepática e tratados adequadamente com quelante de ferro)

Mielofibrose primária em fase evolutiva

TCTH alogênico aparentado sem mieloablação: idade do receptor ≤ 70 anos

Fonte Celular: Medula Óssea e Sangue Periférico

As mesmas indicações do transplante alogênico aparentado com mieloablação, em pacientes com comorbidades

Leucemia Linfóide Crônica

Mieloma múltiplo

Linfoma não-Hodgkin indolente

Linfoma de Hodgkin quimiossensível, como terapia de salvamento, excluídos doentes que não se beneficiaram do esquema quimioterápico atual

TCTH alogênico aparentado de sangue de cordão umbilical: idade do receptor ≤ 65 anos

LMA em primeira remissão, exceto leucemia promielocítica (M3), t(8;21) ou inv(16)

LMA em segunda ou terceira remissão

LLA/linfoma linfoblástico em segunda ou remissões posteriores

LLA Ph+ entre a primeira e a segunda remissão

Anemia aplástica grave adquirida ou constitucional

Continua...

Continuação...

TCTH alogênico aparentado de sangue de cordão umbilical: idade do receptor ≤65 anos

SMD de risco intermediário ou alto, incluindo-se a LMMC nas formas adulto e juvenil - LMC juvenil

Imunodeficiência celular primária

Talassemia major (pacientes com menos de 15 anos de idade, com hepatomegalia até dois centímetros do rebordo costal, sem fibrose hepática e tratados adequadamente com quelante de ferro)

Mielofibrose primária em fase evolutiva

Linfoma não Hodgkin indolente

Doença de Hodgkin quimiossensível, como terapia de salvamento, excluídos os doentes que não se beneficiaram do esquema quimioterápico atual

TCTH alogênico não aparentado: idade do receptor ≤60 anos

Fonte Celular: Medula Óssea

LMA em primeira remissão, exceto leucemia promielocítica (M3), t(8;21) ou inv(16)

LMA em segunda ou terceira remissão

LLA/linfoma linfoblástico em segunda ou remissões posteriores

LLA Ph+ entre a primeira e a segunda remissão

LMC em fase crônica ou acelerada (de transformação)

Anemia aplástica grave adquirida ou constitucional

SMD de risco intermediário ou alto, incluindo-se a LMMC nas formas adulto e juvenil - LMC juvenil;

Imunodeficiência celular primária

Osteopetrose

Mielofibrose primária em fase evolutiva

Fonte Celular: Sangue Periférico

LMA em primeira remissão, exceto leucemia promielocítica (M3), t(8;21) ou inv(16)

Continua...

Continuação...

TCTH alogênico não aparentado: idade do receptor ≤60 anos

Fonte Celular: Medula Óssea

LMA em segunda ou terceira remissão

LMC em fase tardia após um ano do diagnóstico ou em fase acelerada (de transformação)

LLA/linfoma linfoblástico em segunda ou remissões posteriores

LLA Ph+ entre a primeira e a segunda remissão

SMD de risco intermediário ou alto, incluindo-se a LMMC nas formas adulto e juvenil - LMC juvenil

Imunodeficiência celular primária

Mielofibrose primária em fase evolutiva

Fonte celular: Cordão Umbilical

LMA em primeira remissão, exceto leucemia promielocítica (M3), t(8; 21) ou inv(16)

LMA em segunda ou terceira remissão

LLA/linfoma linfoblástico em segunda ou remissões posteriores

LLA Ph+ entre a primeira e a segunda remissão

Anemia aplástica grave adquirida ou constitucional

SMD de risco intermediário ou alto, incluindo-se a LMMC nas formas adulto e juvenil - LMC juvenil

Imunodeficiência celular primária

Osteopetrose

Mielofibrose primária em fase evolutiva

*LMA: leucemia mielocítica aguda; LLA: leucemia linfocítica aguda; LMC: leucemia mielocítica crônica; SMD: síndrome mielodisplásica; LMMC: leucemia mielomonocítica crônica.

Fonte: Ministério da Saúde (Portaria 2600 de 21 de outubro de 2009).

Em 2009, a Sociedade Brasileira de Transplante de Medula (SBTMO) promoveu o I Encontro de Diretrizes do Transplante de Medula Óssea com o objetivo de revisão das indicações de transplante em pediatria. As indicações para as leucemias agudas podem ser vistas na tabela abaixo conforme o nível de evidência (Tabela2 e Tabela3).

Tabela 2 - Critérios de indicação de TCTH em leucemias agudas em pediatria

Doença	Critério de indicação	TCTH alogênico com irmão compatível	TCTH alogênico com doador não aparentado
LLA	1RC	2A	2A
	Muito alto risco: t(9,22), <44 cromossomos, falha indutória, 11q23 com resposta lenta ou DRM >0(Ferreira andAlves, 2003),1% no D29	1A	2A
	≥2RC		
	Linhagem B com recidiva após remissão com duração <36 meses ou qualquer LLA da linhagem T	2A	NI
	Linhagem B com recidiva >36 meses do diagnóstico ou extramedular isolada <18meses do diagnóstico		

Continua...

Continuação...

Doença	Critério de indicação	TCTH alogênico com irmão compatível	TCTH alogênico com doador não aparentado
LMA	1RC Alto risco: -7, -5, cariótipo complexo, LMA secundária; LMA-M0, M6 e M7 sem Síndrome de Down e <4anos; FLT-ITD>4; >15% de blastos ao final da 1ª indução	2A	2A
	1RC Sem fatores de alto risco (acima) Sem fatores de baixo risco (abaixo)	2A	NI
	1RC t(15;17); t(8;21); inv16; Síndrome de Down	NI	NI
	≥ 2RC	2A	2A
	Doença refratária	3B	3B

NI: não indicado fora de protocolos específicos de investigação.
Fonte: Seber *et al.*, 2010.

Qualidade da evidência

1. A recomendação baseia-se em pelo menos um estudo randomizado, metanálise, revisão sistemática
2. Estudo coorte caso-controle multi-institucional; séries de caso; resultados dramáticos
3. Opinião de profissionais experientes, estudos descritivos ou comitês de especialistas

Evidências para a recomendação

- A. Boas
- B. Moderadas
- C. Escassas

Quadro 1 - Níveis de evidência para as recomendações para o TCTH.

Fonte: Seber *et al.*, 2010.

2.3 Fontes de células-tronco hematopoiéticas

A primeira fonte utilizada para a coleta de células-tronco hematopoiéticas foi a medula óssea, a qual é realizada a partir de sucessivas aspirações nas cristas ilíacas posteriores de um doador submetido à anestesia geral ou local (COPELAN, 2006; KOLINS *et al.*, 2011). Estas células-tronco residem predominantemente na medula óssea, mas em menor número, também podem ser encontradas na circulação periférica. Este conhecimento tornou possível a sua coleta a partir do sangue periférico após a mobilização destas células através da administração do fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF) (BENSINGER *et al.*, 2001; COPELAN, 2006; KOLINS *et al.*, 2011).

Cada uma destas técnicas possui vantagens e desvantagens. A coleta a partir da medula óssea é limitada por riscos inerentes ao procedimento, principalmente os relacionados à anestesia geral ou raquidiana, os quais aumentam, nos doadores adultos, com a idade do doador e suas comorbidades. Dados sobre a segurança da coleta a partir da medula óssea em

doadores pediátricos são limitados, tendo um estudo mostrado um baixo percentual de complicações ameaçadoras à vida em doadores menores de 20 anos (0,39%). No entanto, atenção especial deve ser dada ao volume sanguíneo circulante em um doador pediátrico sendo, por vezes, necessária transfusão de sangue durante ou após o procedimento. Outro estudo realizado com doadores abaixo de 2 anos de idade mostrou que, em 85% deles, foi necessária a realização de transfusão sanguínea. Com isso, o risco de complicações pós transfusionais deve ser considerado neste grupo de doadores. O volume de medula óssea obtido variou de 11,5 a 19,3ml/Kg de peso do doador, contendo de 2,5 a 10,4 x10⁸ células nucleadas/Kg do doador. Os efeitos colaterais mais comuns são geralmente leves, como fadiga, anemia transitória e dor no local da coleta. O risco da anestesia não difere de outros procedimentos cirúrgicos (PETERS, *et al.*, 2010).

A coleta periférica é relativamente segura para doadores de 1 ano até a oitava década de idade, porém tem como principal limitação a necessidade de um acesso venoso adequado e, na ausência deste, um acesso venoso central (KOLINS *et al.*, 2011; KÖRBLING e ANDERLINI, 2001). No entanto, os riscos do procedimento são mais comuns em doadores pediátricos, o que inclui a dificuldade de acesso venoso com necessidade de cateter central, necessidade de sedação ou anestesia, baixa contagem plaquetária, anemia, necessidade de volume/transfusão prévia ao procedimento e hipocalcemia devido ao anticoagulante. Além disso, existe a preocupação de efeitos tardios do uso de fatores de crescimento em doadores previamente saudáveis, principalmente o desenvolvimento de doenças hematológicas malignas, o que ainda é pouco conhecido no grupo pediátrico (PETERS *et al.*, 2010).

A coleta periférica é realizada através de leucoafereze após mobilização com G-CSF que possui como principais efeitos adversos dor óssea severa, fadiga, cefaléia e, menos comumente, náuseas (KOLINS *et al.*, 2011; KÖRBLING e ANDERLINI, 2001; PETERS *et al.*, 2010).

Quando comparada com a coleta a partir da medula óssea, a coleta periférica produz reconstituição hematológica mais rápida (BENSINGER *et al.*, 2001; CHAMPLIN *et al.*, 2000; KOLINS *et al.*, 2011; KÖRBLING e ANDERLINI, 2001). Uma média de 15 a 23 dias para obter uma contagem de neutrófilos maior que $0,5 \times 10^9/L$ é encontrada em um enxerto a partir de células-tronco da medula óssea, quando comparado com 12 a 19 dias em pacientes que receberam células-tronco coletadas do sangue periférico (COPELAN, 2006; KÖRBLING e ANDERLINI, 2001). Já para atingir uma contagem plaquetária maior que $20 \times 10^9/L$ são necessários de 17 a 25 dias quando a coleta é realizada a partir da medula óssea e 11 a 18 dias quando a fonte celular é periférica. A quantidade de células CD34 coletadas também difere de uma fonte para outra, tendo sido relatada uma mediana de $7,6 \times 10^6/Kg$ na coleta periférica e de $2,4 \times 10^6/Kg$ quando a fonte é a medula óssea (KÖRBLING e ANDERLINI, 2001).

Um maior número de linfócitos T é encontrado nos enxertos oriundos da coleta periférica, no entanto, a incidência de DECH aguda tem se mostrado a mesma na maioria dos estudos realizados independente da fonte de células-tronco empregada, porém, alguns estudos demonstraram uma maior probabilidade de desenvolver DECH crônica nos pacientes que receberam células coletadas a partir do sangue periférico (BENSINGER *et al.*, 2001; CHAMPLIN *et al.*, 2000; KÖRBLING e ANDERLINI, 2001). No grupo pediátrico, estudos mostraram uma incidência de DECH crônica de 63% a 75%, o que é o dobro do esperado quando a fonte empregada é a medula óssea (PETERS *et al.*, 2010). A fonte celular não teve efeito na taxa de recaída na maioria dos estudos realizados, porém, alguns ensaios clínicos encontraram diferença na sobrevida global dos pacientes em favor da coleta de células-tronco periférica no grupo adulto (KÖRBLING e ANDERLINI, 2001).

O cordão umbilical é, atualmente, uma importante fonte alternativa de células-tronco hematopoiéticas para pacientes candidatos ao TCTH alogênico. O primeiro transplante com células provenientes do cordão umbilical foi realizado na França há 25 anos atrás em uma

criança com Anemia de Fanconi e, desde esta época, o seu armazenamento em bancos de cordão umbilical e seu uso em transplantes vem aumentando exponencialmente (BALLEN *et al.*, 2013; COPELAN, 2006; KOLINS *et al.*, 2011).

O cordão pode ser coletado facilmente do recém nascido e armazenado. Contém uma proporção significativa de células-tronco hematopoiéticas e apresenta a vantagem de suportar uma maior incompatibilidade HLA entre doador e receptor, representando uma opção importante para os pacientes sem outros possíveis doadores (BAEK *et al.*, 2011; COPELAN, 2006; GYURKOCZA *et al.*, 2010; KOLINS *et al.*, 2011). Outras vantagens dessa fonte celular são a ausência de risco para o doador, a rápida disponibilidade, a facilidade em ocasionais mudanças na data do TCTH e a menor probabilidade de transmissão de agentes infecciosos (BAEK *et al.*, 2011; BALLEN *et al.*, 2013; GYURKOCZA *et al.*, 2010; KOLINS *et al.*, 2011). Como desvantagem tem-se a impossibilidade de coletar novas células do doador nos casos de recaída ou falha no enxerto (GYURKOCZA *et al.*, 2010). Geralmente o cordão umbilical possui aproximadamente a décima parte do número de células CD34 em relação à medula óssea, explicando seu uso inicial principalmente em crianças, por levar a uma maior taxa de falha na enxertia e rejeição do enxerto em adultos (BALLEN *et al.*, 2013; GYURKOCZA *et al.*, 2010; KOLINS *et al.*, 2011). No entanto, o uso do transplante com duplo cordão mostrou ter uma maior taxa de pega do enxerto sem aumentar a incidência de DECH (BAEK *et al.*, 2011; GYURKOCZA *et al.*, 2010).

Nos transplantes que utilizam as células-tronco provenientes do cordão umbilical a reconstituição hematológica e imunológica são mais lentas e vários estudos têm relatado uma menor taxa de DECH aguda e crônica nestes pacientes, com taxas de sobrevida semelhantes quando comparadas com células da medula óssea (BALLEN *et al.*, 2013; COPELAN, 2006; GYURKOCZA *et al.*, 2010).

Até o momento mais de 600.000 cordões foram armazenados em bancos no mundo

inteiro e cerca de 30.000 transplantes foram realizados a partir de células-tronco de cordão umbilical (BALLEN *et al.*, 2013).

2.4 Tipagem HLA

A compatibilidade dos tecidos é determinada por genes do Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC), conhecido, no homem, como o sistema do Antígeno Leucocitário Humano (HLA), que é composto por genes encontrados no braço curto do cromossomo 6 que são herdados como haplótipos (COPELAN, 2006; KOLINS *et al.*, 2011; TIERCY, 2008). O HLA é caracterizado por um grande polimorfismo de seus loci, contando atualmente com cerca de 2584 alelos reconhecidos, que variam em frequência entre as diferentes etnias (HURLEY, 2002; TIERCY, 2008).

A função biológica das moléculas HLA consiste em apresentar antígenos peptídicos originados de patógenos às células T, desempenhando um papel central na imunidade adaptativa mediada pelas células T (TIERCY, 2008).

O complexo HLA no cromossomo 6 contém mais de 200 genes, sendo que cerca de 40 destes codificam antígenos leucocitários. Os genes HLA que estão envolvidos com a resposta imune pertencem a duas classes estruturalmente e funcionalmente distintas, a classe I e a II. Existem cerca de 20 genes da classe I e três deles são os mais envolvidos com a resposta imune, o HLA-A, B e C, também chamados de clássicos ou genes da classe Ia.

Os genes da classe II codificam as cadeias polipeptídicas α e β das moléculas de classe II e a designação dos seus *loci* no cromossomo 6 é dada por três letras: a primeira (D) indica a classe, a segunda (M, O, P, Q ou R) a família e a terceira (A ou B) a cadeia (α e β , respectivamente). O gene individual é expresso por um número e os seus alelos por um

número precedido de asterisco (KLEIN e SATO, 2000).

Os genes da classe I são expressos pela maioria das células somáticas, embora o nível de expressão dependa da sua localização tecidual, enquanto que os da classe II são expressos por um subgrupo de células do sistema imune que são as células B, células T ativadas, macrófagos e células dendríticas, que, em conjunto, recebem a denominação de células apresentadoras de antígenos (KLEIN e SATO, 2000; TIERCY, 2008).

Os avanços nas técnicas de imunogenética para tipagem HLA vêm sendo de extrema importância para a seleção de doadores, principalmente não aparentados, para o transplante de células-tronco hematopoiéticas, melhorando a sobrevivência destes pacientes (PETERSDORF, 2008). Existem técnicas de baixa resolução, que são aquelas capazes de identificar apenas a família de alelos de determinado sorotipo (por exemplo, A*02), e as de alta resolução, que permitem a identificação do alelo dentro de cada sorotipo (por exemplo, A*0201).

As primeiras técnicas empregadas eram sorológicas, as quais ainda são um método de escolha em vários laboratórios para a tipagem de baixa resolução, devido à sua simplicidade e baixo custo. No entanto, a necessidade de uma maior resolução contribuiu para o surgimento de outros métodos baseados na tipagem do DNA, que identificam a sequência de nucleotídeos do segmento polimórfico de DNA através da técnica de PCR (TIERCY, 2008).

O melhor doador é o aparentado com compatibilidade HLA, no entanto a probabilidade de um irmão ser compatível é de 25% para cada irmão e, quando este não for possível, se torna necessária a busca de um doador não aparentado nos bancos de medula óssea. O Banco de Medula Óssea mundial conta com mais de 11 milhões de doadores tipados (KOLINS *et al.*, 2011; TIERCY, 2008). No Brasil, o Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea (REDOME), foi criado em 2000 e, desde então, o número de doadores registrados vem aumentando expressivamente, contando, em maio de 2013, com 3 milhões e 112 mil doadores inscritos e com um percentual de doadores brasileiros nos transplantes

realizados em torno de 70% (REDOME).

Os critérios atualmente vigentes para o TCTH alogênico não relacionado são baseados na tipagem HLA de alta resolução da classe I HLA A, B e C e da classe II os alelos DRB1 e DQB1. Quando todos os alelos são iguais tem-se uma compatibilidade de 10/10, o que baixa consideravelmente o risco de DECH agudo e mortalidade e se relaciona com maior sobrevida livre de doença quando comparados com transplantes com menor compatibilidade entre receptor e doador. O “mismatch” (ausência de compatibilidade) em DQB1 se mostrou mais permissivo com bons resultados obtidos com compatibilidades de HLA A, B,C e DRB1 (8/8) (BAEK *et al.*, 2011; PETERSDORF, 2008).

Outra possibilidade para os pacientes que não encontraram doador compatível é o TCTH alogênico haploidêntico, geralmente um dos pais, irmão ou filho. Devido à grande incompatibilidade desse tipo de transplante, as primeiras tentativas não obtiveram grande sucesso, devido a severo DECH agudo e rejeição do enxerto. No entanto, com a possibilidade de depleção de células T do enxerto melhores resultados foram obtidos.

De uma forma geral, os avanços obtidos na seleção de doadores alternativos para o TCTH aumentaram significativamente a sua disponibilidade, sendo atualmente identificado um doador possível para a grande maioria dos pacientes eleitos pra o transplante (GYURKOCZA *et al.*, 2010).

2.5 Condicionamento

O termo condicionamento significa “condicionar”, ou seja, preparar o paciente para o transplante. Ele ocupa o cerne do grande dilema do transplante de células-tronco hematopoiéticas de como vencer a doença sem toxicidade para o paciente (GRATWOHL,

2008). O condicionamento tem como principais objetivos criar um espaço na medula óssea para receber as células transplantadas e permitir a enxertia, a imunossupressão do paciente para prevenir rejeição das células do enxerto pelas células imunocompetentes do receptor e obter a erradicação da doença (COPELAN, 2006; GRATWOHL, 2008; GYURKOCZA *et al.*, 2010; KOLINS *et al.*, 2011).

Inicialmente foram usados regimes contendo TBI, os quais mostraram ser suficientes para permitir a enxertia, mas não para obter um controle a longo prazo da doença, tendo sido posteriormente acrescentada a ciclofosfamida ao esquema (GRATWOHL, 2008). Estes regimes iniciais são considerados mieloablativos, ou seja, sem a transfusão de células-tronco hematopoiéticas do doador os pacientes invariavelmente morreriam de falência medular (GYURKOCZA *et al.*, 2010; KOLINS *et al.*, 2011). A toxicidade da TBI e a dificuldade de locais adequados para sua realização fez com que regimes livres de irradiação fossem desenvolvidos. Em 1983, um regime de bussulfan associado a altas doses de ciclofosfamida provou ser efetivo no tratamento da leucemia mielóide aguda. Até o momento, nenhum regime se mostrou superior em promover sobrevida a longo prazo do que ciclofosfamida/TBI (Cy/TBI) e bussulfan/ciclofosfamida (Bu/Cy), os quais têm sido os regimes padrão desde a década de 80 (COPELAN, 2006; GASSAS *et al.*, 2008; GRATWOHL, 2008; MEHTA e DAVIES, 2008).

Inicialmente, atribuiu-se a eliminação das células malignas da doença de base após o TCTH à quimioterapia mieloablativa e irradiação realizadas durante o condicionamento, acreditando-se que a infusão de células-tronco hematopoiéticas era somente necessária para reconstituir a hematopoese normal do paciente. No entanto, a posterior associação do desenvolvimento de DECH com uma menor chance de recaída após o transplante levou ao conceito do efeito enxerto versus leucemia (GVL). Estudos mostraram a importância das células T do enxerto tanto para o desenvolvimento de DECH como para o efeito GVL, tendo

sido relatadas remissões duradouras após a infusão de linfócitos do doador (DLI) (FALKENBURG e WARREN, 2011; GASSAS *et al.*, 2008; KOLB, 2008).

Finalmente, no final da década de 90, com um melhor entendimento do efeito enxerto versus leucemia e a possibilidade de infusão de linfócitos do doador após o transplante para aumentar este efeito, foram desenvolvidos regimes de condicionamento de intensidade reduzida (RIC), os quais são essencialmente imunossupressores (COPELAN, 2006). Tais regimes possuem a vantagem de diminuir os efeitos tóxicos do condicionamento, com importante uso para pacientes idosos e portadores de comorbidades, porém estão associados a altas taxas de recaída durante o seguimento destes pacientes (COPELAN, 2006; KOLINS *et al.*, 2011; GRATWOHL, 2008). Portanto, são efetivos para o tratamento de neoplasias com crescimento lento, como leucemia linfocítica crônica e linfoma não Hodgkin de baixo grau, enquanto que seu uso para neoplasias hematológicas avançadas está menos indicado devido às altas taxas de recaída (COPELAN, 2006). A maioria destes regimes são baseados no uso da fludarabina com um agente alquilante (melfalan, ciclofosfamida ou bussulfan), com ou sem a adição de um anticorpo anti-linfócito T (ATG ou alemtuzumab) (GYURKOCZA *et al.*, 2010). Poucos estudos foram realizados sobre a utilização de RIC para doenças hematológicas malignas no grupo pediátrico. Até o presente momento, esta abordagem deve ser reservada para pacientes com significativa comorbidade, não sendo, portanto, candidatos ao uso de regimes de condicionamento mieloablativos, ou aqueles em que se é tentado um segundo transplante com o objetivo de alcançar um efeito GVL. Para as doenças benignas, como, por exemplo, as imunodeficiências primárias, já existe dados suportando o uso de RIC em pacientes pediátricos mesmo sem comorbidades (SATWANI *et al.*, 2008).

2.6 Enxertia

Enxertia é o processo pelo qual as células tronco hematopoiéticas do doador acabam por produzir as células brancas, células vermelhas e plaquetas no receptor. Primeiramente, durante esse processo, ocorre a produção de glóbulos brancos, sendo seguida pela produção dos glóbulos vermelhos e, finalmente, das plaquetas. A enxertia dos glóbulos brancos é definida como uma contagem absoluta de neutrófilos no sangue periférico superior a $500/\text{mm}^3$ por 3 dias consecutivos ou uma única contagem superior a $1500/\text{mm}^3$. A enxertia plaquetária é definida por uma contagem de plaquetas maior que $20000/\text{mm}^3$ sem suporte transfusional nos 7 dias antecedentes (BAEK *et al.*, 2011; KOLINS *et al.*, 2011; SIERRA *et al.*, 1997). O tempo para ocorrer a enxertia depende de fatores como a dose celular infundida e a fonte de células tronco empregada. Em geral, a enxertia dos neutrófilos ocorre 10 a 21 dias após a infusão de células tronco hematopoiéticas provenientes da medula óssea e 10 a 28 dias após a infusão de células tronco do cordão umbilical (KOLINS *et al.*, 2011).

2.7 Reconstituição imunológica após o TCTH

Os pacientes submetidos ao TCTH desenvolvem um estado de imunodeficiência que pode durar mais de um ano após o procedimento, tornando-os mais susceptíveis a infecções e, com isso, aumentando a morbimortalidade. Após o TCTH alogênico ocorre uma reconstituição gradual do sistema imunológico e para atingir a plena recuperação funcional é necessário o restabelecimento tanto da imunidade inata como da imunidade adaptativa do receptor. A reconstituição celular se dá em diferentes tempos, onde os granulócitos, monócitos, macrófagos e células NK (imunidade inata) surgem mais rapidamente, dentro dos

primeiros 100 dias após o TCTH, enquanto que uma recuperação total da função dos linfócitos T e B pode levar de meses a anos para ocorrer (FRY e MCKALL, 2005; MORECKI *et al.*, 2001; REIS e VISENTAINER, 2004; STOREK *et al.*, 2011; TOUBERT, 2008) (Figura 1).

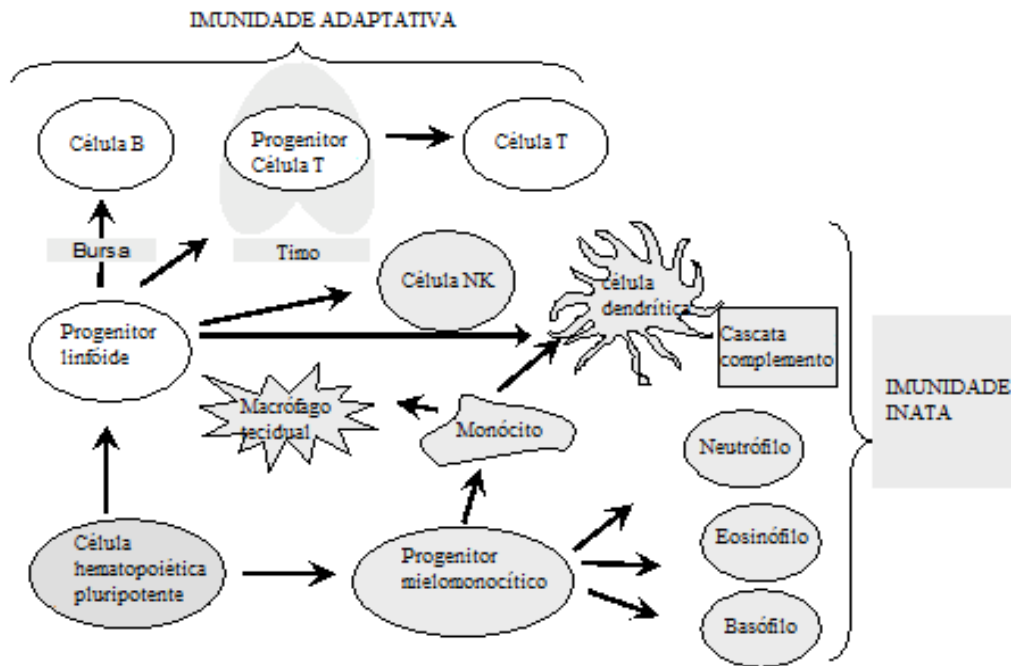


Figura 1 - Imunidades inata e adaptativa

Fonte: FRY e MACKALL, 2005.

Os linfócitos-T podem se reconstituir através de duas vias, a primeira delas é a via T-dependente a qual representa uma retomada da ontogenia da célula-T e a outra é a via de expansão periférica que consiste na proliferação de células-T maduras presentes no enxerto. A formação de novos linfócitos-T antígeno específicos a partir de células progenitoras do doador é dependente da função tímica do receptor, a qual diminui com a idade e é prejudicada pelos efeitos da radiação, das drogas citotóxicas e da DECH após o TCTH (REIS e VISENTAINER, 2004). A reconstituição humoral geralmente se completa após vários meses, podendo levar até 1 a 2 anos quando na presença de DECH. No período imediatamente após o TCTH as células do receptor resistentes ao regime de condicionamento são as principais

responsáveis pela produção de IgG e, ao redor de 4 a 6 meses após o transplante, as células progenitoras do enxerto começam a formar células B nativas produtoras de IgM. No entanto, a produção de IgG e IgA ocorre mais tardiamente na dependência da disponibilidade de células T CD4 helper, podendo seus níveis permanecerem anormais por mais de 1 ano após o TCTH. A presença de DECH agudo graus III e IV ou DECH crônico extenso está correlacionada com um menor número de células B e menor disponibilidade de células T CD4 helper, acarretando um atraso na reconstituição humoral destes pacientes (FRY e MACKALL, 2005; REIS e VISENTAINER, 2004).

2.8 Complicações pós TCTH

2.8.1 Infecções

Apesar dos avanços no tratamento das complicações pós transplante alogênico, as infecções continuam sendo grande causa de morbimortalidade nestes pacientes (CORDONNIER, 2008). O dano tecidual e a neutropenia induzida pelos regimes de condicionamento favorecem esta complicação, assim como o uso de cateteres centrais e o estado de imunodeficiência característico do paciente pós transplante (COPELAN, 2006; KOLINS *et al.*, 2011).

Os principais patógenos envolvidos nas infecções guardam estrita relação com a fase de recuperação imunológica na qual se encontra o paciente (Figura 2). Na fase de neutropenia as infecções bacterianas são causadas, principalmente, pelo estreptococo e bactérias gram negativas, sendo também o começo do maior risco para infecções fúngicas, especialmente o

Aspergillus e a *Candida*. Infecções virais também são comuns nesta fase, destacando-se o *Vírus herpes simplex* (CORDONNIER, 2008; KOLINS *et al.*, 2011).

A segunda fase abrange do período da pega do enxerto até o terceiro ou quarto mês pós transplante e é caracterizada por deficiência na imunidade celular. O principal agente nesta fase é o Citomegalovírus (CMV), principalmente a infecção causada por reativação deste agente, a qual teve sua mortalidade reduzida nos últimos anos, porém mantém-se como importante complicação e causa de morbimortalidade após o TCTH (BOECKH *et al.*, 2003; BOECKH e LJUNGMAN, 2009; CORDONNIER, 2008; ECKLE *et al.*, 2000; LJUNGMAN, 2008; UGARTE-TORRES *et al.*, 2011; ZHOU *et al.*, 2009). A soropositividade pré transplante do receptor para o CMV constitui fator de risco para aumento da mortalidade relacionada ao transplante com doadores não aparentados. A reconstituição da imunidade por células T (CD4 e CD8) específica para o CMV desempenha papel fundamental para o controle da replicação deste agente e a progressão para a reativação e doença ativa causada pelo CMV. O perfil sorológico do doador está entre os fatores que influenciam a reconstituição desta imunidade específica, tendo estudos demonstrado que pacientes positivos se beneficiam com o transplante de doadores também positivos, tendo menos reativação e doença por CMV (BOECKH *et al.*, 2003; BOECKH e LJUNGMAN, 2009; LJUNGMAN, 2008; UGARTE-TORRES *et al.*, 2011; ZHOU *et al.*, 2009). Portanto, a transferência de células T no enxerto de doadores com sorologia positiva pode fornecer imunidade celular específica para este vírus no receptor (UGARTE-TORRES *et al.*, 2011; ZHOU *et al.*, 2009). Outras infecções virais também podem ocorrer, como pelo *Adenovirus*, vírus respiratórios e entéricos.

Na última fase, a ocorrência e severidade da DECH crônica passa a ser o principal fator de atraso na recuperação imunológica destes pacientes. A partir do quarto mês pós transplante a maioria dos pacientes possui uma deficiência de imunoglobulinas, deixando-os

susceptíveis às bactérias encapsuladas como o *H. Influenzae* e *S. Pneumoniae*, além de infecções virais e fúngicas (CORDONNIER, 2008; KOLINS *et al.*, 2011) (Figura 2). Nesta fase ocorre o segundo pico de ocorrência das infecções causadas pelo *Aspergillus*, que é a infecção fúngica mais séria após o TCTH alogênico e a principal causa de óbito por infecção. A mortalidade da aspergilose entre estes pacientes permanece superior a 50% apesar dos avanços no tratamento. O uso de técnicas de PCR (*polimerase chain reaction*) e a detecção do antígeno galactomanana podem auxiliar na detecção precoce desta infecção. A infecção por *Candida* é mais rara e cada vez mais outras infecções fúngicas são relatadas em pacientes transplantados (CORDONNIER, 2008).

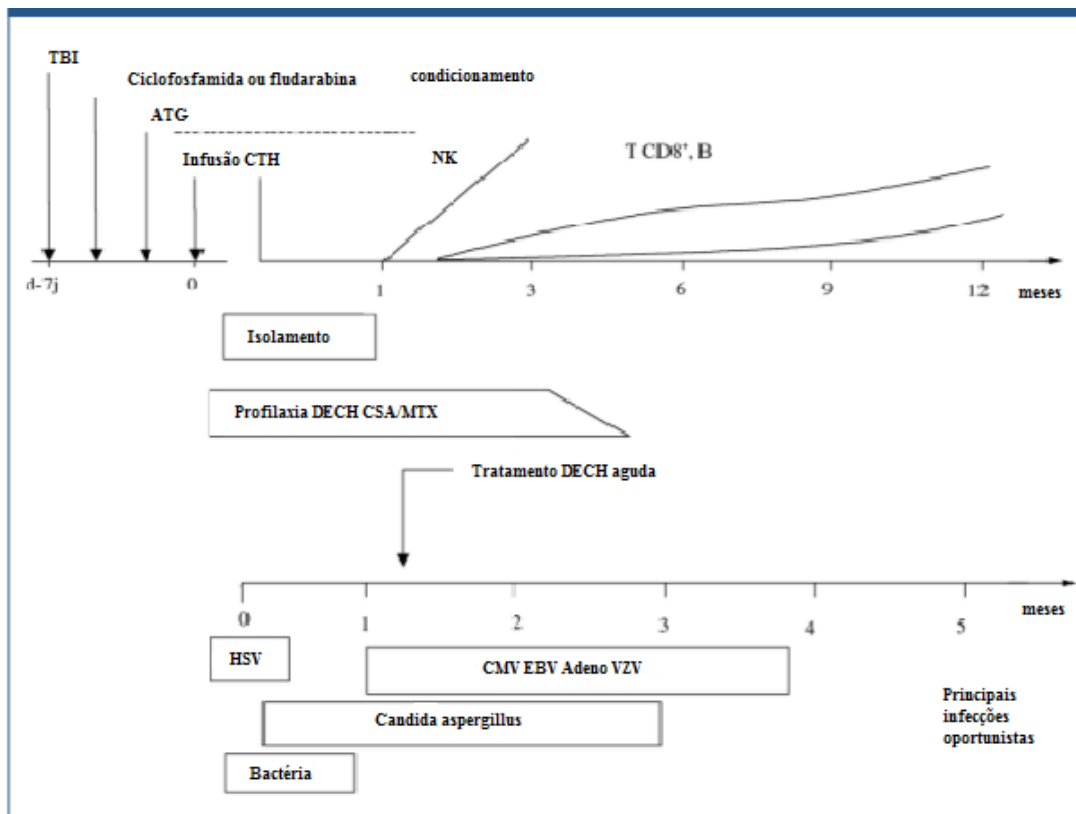


Figura 2 - Tempo de ocorrência das principais infecções após o TCTH.

Fonte: TOUBERT, 2008

2.8.2 Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH)

A DECH é uma das principais complicações após o TCTH alogênico, sendo grande causa de morbimortalidade, limitando, assim, o uso desta importante terapia. Consiste de um processo imunológico no qual as células T ativadas do doador atacam tecidos geneticamente diferentes do receptor, podendo ocorrer mesmo no transplante realizado com doador HLA idêntico e com o uso de intensa profilaxia imunossupressora (DEVERGIE, 2008; FERRARA *et al.*, 2009; GYURKOCZA *et al.*, 2010; VIZONI *et al.*, 2008; WEISDORF, 2007). Esse processo foi reconhecido já nos primeiros modelos animais, levando Billingham a propor, em 1966, três condições necessárias para o seu desenvolvimento: a presença de células imunocompetentes no enxerto (hoje reconhecidas como as células T), a expressão de antígenos pelo receptor que não estão presentes no doador e a inabilidade do receptor de eliminar ou inativar as células transplantadas (DEVERGIE, 2008; GYURKOCZA *et al.*, 2010; KOLB, 2008).

A DECH pode ser classificada em duas formas de apresentação, a DECH crônica e a aguda, as quais eram tradicionalmente diferenciadas de acordo com o tempo de aparecimento de suas manifestações, sendo a forma crônica aquela que iniciava após 100 dias do transplante e a aguda antes deste período. No entanto, definições mais recentes usam as diferenças nas suas manifestações clínicas para classificar as duas entidades e incluem duas outras formas de apresentação, a DECH aguda de início tardio (após o dia 100) e uma síndrome de sobreposição, com características tanto de DECH aguda como crônica (DEVERGIE, 2008; FERRARA *et al.*, 2009; LEE, 2005).

2.8.3 Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Aguda

Apesar dos avanços na tipagem HLA para seleção do doador e na imunossupressão pós transplante, a DECH aguda permanece sendo uma importante causa de mortalidade relacionada ao transplante e de morbidade após o TCTH alogênico (KOLB, 2008). A fisiopatologia da DECH aguda pode ser dividida em três fases: (1) fase de ativação das células apresentadoras de antígeno (APCs) (fase aferente); (2) fase de ativação das células T do doador (fase de indução e expansão) e (3) fase efetora com destruição do tecido alvo.

A primeira fase envolve a ativação das APCs devido a danos teciduais causados pela própria doença de base e pelo regime de condicionamento utilizado. Os tecidos danificados liberam uma série de citocinas pró inflamatórias e aumentam a expressão de moléculas de adesão, antígenos do MHC e moléculas coestimulatórias nas APCs do receptor. Esta cascata de citocinas é um importante determinante da ocorrência e severidade da DECH aguda.

A segunda fase consiste na ativação, proliferação e diferenciação das células T do doador em resposta às APCs do receptor, causando, por fim, inflamação e destruição dos tecidos do receptor através da citotoxicidade mediada pelas células T, completando a terceira fase do processo (FERRARA *et al.*, 2009; KOLB, 2008) (Figura 3).

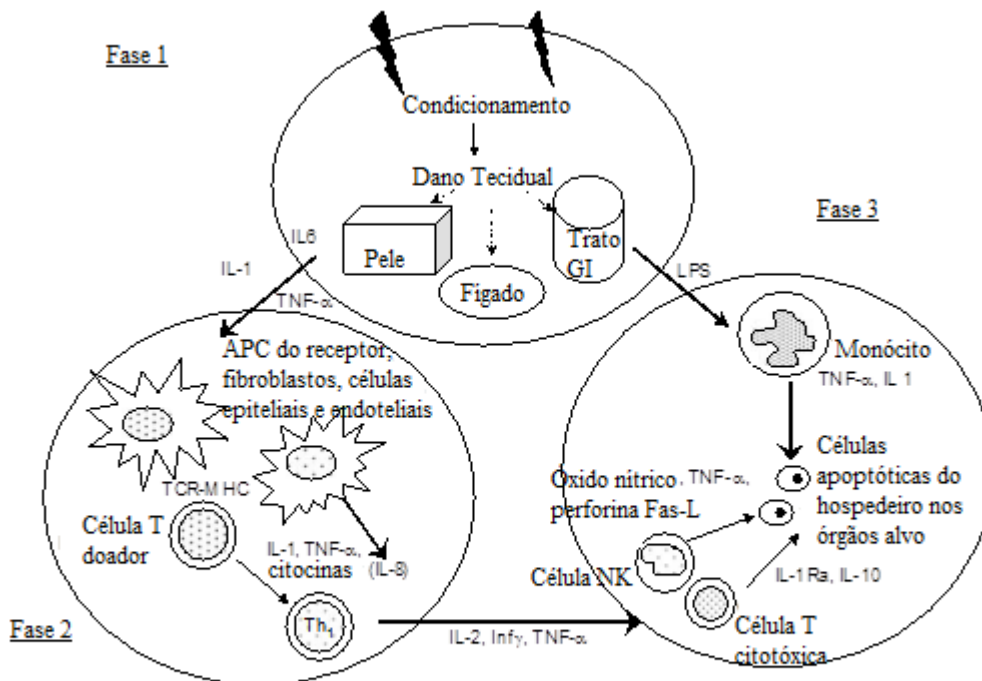


Figura 3 - Fisiopatologia da DECH aguda

Fonte: KOLB, 2008.

Os principais sítios acometidos são a pele, o trato gastrointestinal e o fígado. A pele é o mais comumente afetado e, normalmente, é o primeiro órgão envolvido. A lesão característica é um rash maculopapular que pode ser pruriginoso e se espalhar por toda a superfície corporal e, nos casos mais graves, pode apresentar lesões ulceradas e bolhosas. A DECH gastrointestinal geralmente se apresenta com diarreia secretória intensa e volumosa, mas também podem surgir vômitos, dor abdominal e anorexia. No fígado a principal manifestação é a hiperbilirrubinemia isolada sendo o aumento da fosfatase alcalina mais frequente do que o das transaminases. A doença hepática pode ser difícil de ser diferenciada das outras causas de disfunção hepática pós transplante como a doença veno-oclusiva, a toxicidade por drogas, infecções virais, sepse ou sobrecarga de ferro.

O grau de acometimento da DECH aguda é determinado pelo sítio e severidade da manifestação clínica (estadiamento) e classificado em graus I a IV (AZEVEDO, 2010; CARPENTER e MAC MILLAN, 2010; FERRARA *et al.*, 2009; KOLB, 2008; PATON *et al.*, 2000; VIZONI *et al.*, 2008) (Tabela 4 e 5). A DECH de grau II a IV ocorre em aproximadamente 20% a 50% dos pacientes transplantados de um irmão HLA idêntico e em 50% a 80% dos que recebem células de irmão com uma ou mais incompatibilidade HLA ou de doador não aparentado (VIZONI *et al.*, 2008). A profilaxia e o tratamento da DECH aguda são realizados com agentes imunossupressores (FERRARA *et al.*, 2009; GYURKOCZA *et al.*, 2010).

Tabela 3 - Estadiamento da DECH aguda

Estadio	Pele	Fígado	Trato Intestinal
0	Sem “rash” cutâneo.	Bilirrubina <2mg/dl.	Diarréia (adulto/criança) <500ml/dia; <10ml/Kg/dia.
1+	“Rash” maculopapular <25% da superfície corporal.	Bilirrubina 2-3mg/dl.	Diarréia 500-1000ml/dia; 10-19,9ml/Kg/dia ou náuseas persistentes.
2+	“Rash” maculopapular 25-50% da superfície corporal.	Bilirrubina 3-6mg/dl.	Diarréia 1001-1500ml/dia; 20-30ml/Kg/dia..
3+	Eritrodermia generalizada.	Bilirrubina 6-15mg/dl.	Diarréia >1500ml/dia; >30ml/Kg/dia .
4+	Bolhas e descamação.	Bilirrubina >15mg/dl.	Dor abdominal severa com ou sem obstrução.

Tabela 4 - Gradação da DECH aguda conforme o estadiamento

Grau	Estadio			
	Pele	Fígado	Intestino	Distúrbio Funcional
0 (nenhum)	0	0	0	0
I (leve)	+ a 2+	0	0	0
II (moderado)	+ a 3+	+	+	+
III (grave)	2+ a 3+	2+ a 3+	2+ a 3+	2+
IV (risco de vida)	2+ a 4+	2+ a 4+	2+ a 4+	3+

Fonte: PATON *et al.*, 2000.

2.8.4 Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Crônica

Dentre as complicações tardias que podem ocorrer após o transplante destaca-se a DECH crônica (DECHc) que é a complicação mais frequente nos sobreviventes do TCTH alogênico, ocorrendo em aproximadamente 20 a 70% dos pacientes que sobrevivem após 100 dias do procedimento, além de ser uma das principais causas de mortalidade relacionada ao transplante (TRM) (HIGMAN e VOGELSANG, 2004; LEE, 2005). Apesar de estar associada a uma maior mortalidade, a DECHc é também responsável pelo efeito GVL que confere, nos casos de DECH leve, uma melhora na sobrevida destes pacientes, tornando-se importante um controle no grau de desenvolvimento desta condição (CARLENS *et al.*, 1998).

A DECHc pode se apresentar de várias formas, podendo ser progressiva (na evolução de uma DECH aguda ativa), quiescente (após uma DECH aguda resolvida completamente seguida de uma DECHc) ou pode ocorrer de novo (FERRARA *et al.*, 2009). Várias evidências sugerem que a DECHc não é simplesmente uma continuação da aguda, como, por

exemplo, o fato de que mesmo apresentando uma sobreposição dos órgãos afetados em ambas complicações, a distribuição destes na DECHc é muito mais ampla, assim como a característica do seu processo fisiopatológico é muito mais inflamatória e fibrótica, enquanto que a DECH aguda é mais caracterizada por necrose e apoptose. Outra evidência é o fato de que aproximadamente 25 a 35% das DECHc ocorrem sem nenhum precedente de manifestações agudas e 20 a 30% dos pacientes que tiveram DECH aguda não desenvolverão a forma crônica posteriormente (LEE, 2005).

As manifestações clínicas mais comuns da DECHc incluem dermatite, ceratoconjuntivite, mucosite oral, síndrome *sicca* e disfunção hepática, estando associada a um estado prolongado de imunodeficiência predispondo a infecções recorrentes e, muitas vezes, letais (CARLENS *et al.*, 1998; REMBERGER *et al.*, 2002).

A apresentação da DECHc possui várias características clínicas semelhantes as das doenças autoimunes como, por exemplo, a esclerodermia e pode envolver vários sítios como a pele, fígado, cavidade oral, olhos, intestino, esôfago e pulmões (WAGNER *et al.*, 1998). Por isso, acredita-se que sua fisiopatologia esteja relacionada a uma desregulação do sistema imune, ocorrendo com características de doença autoimune (ATKINSON *et al.*, 1990). Teria como causa uma recuperação aberrante do sistema imunológico levando à perda da sua regulação normal (HIGMAN e VOGELSANG, 2004). A fisiopatologia estaria associada com a expansão de células T (*T helper*) do doador em resposta à alo ou autoantígenos, que podem atacar diretamente o tecido alvo através de agentes citolíticos, secreção de citocinas inflamatórias e promotoras de fibrose ou pela promoção de ativação de linfócitos B e consequente produção de autoanticorpos. A lesão tecidual acaba por causar fibrose e disfunção orgânica, podendo levar à morte por falência de órgãos ou infecções (LEE, 2005).

A DECH crônica pode ser classificada como limitada quando apresenta comprometimento localizado de pele e/ou fígado ou extensa, quando apresenta

comprometimento generalizado de pele ou doença limitada associada ao comprometimento de outros órgãos (BOUZAS *et al.*, 2010).

Os pacientes que desenvolvem DECHc apresentam diminuição da performance e qualidade de vida, assim como uma maior taxa de mortalidade (HIGMAN e VOGELSANG, 2004; OSAWA *et al.*, 2007). Sem tratamento menos do que 20% dos pacientes com DECHc extenso sobrevive, no entanto, com a terapia imunossupressora a morbimortalidade destes pacientes diminuiu consideravelmente, sendo importante a sua detecção precoce antes que ocorra comprometimento clínico.

2.8.5 Outras complicações precoces

A mucosite é uma importante complicação precoce pós TCTH, principalmente quando utilizados regimes mieloablativos e metotrexate para a profilaxia da DECH. A mucosite pode ocorrer em qualquer lugar ao longo do trato gastrointestinal, sendo que quando acomete a cavidade oral é bastante dolorosa, enquanto que a lesão intestinal pode causar náusea, cólicas e diarreia, podendo necessitar do uso de nutrição parenteral (COPELAN, 2006). Sua severidade pode variar de dor e eritema até ulceração importante, sendo a taxa de ocorrência de mucosite severa superior a 60% nos pacientes submetidos à TBI, podendo variar de 30 a 50% quando esta não foi empregada (KOLINS *et al.*, 2011; STONE *et al.*, 2007).

A Síndrome Obstrutiva Sinusoidal (SOS), previamente denominada de Doença Hepática Venoclusiva (VOD), é uma complicação potencialmente fatal que ocorre geralmente dentro dos primeiros 30 dias pós transplante (COPELAN, 2006; RICHARDSON *et al.*, 2012). Acredita-se que seja decorrente da injúria hepatocelular e dano endotelial causados pelo regime de condicionamento empregado e é caracterizada por rápido ganho de peso,

hepatomegalia dolorosa, hiperbilirrubinemia, icterícia e retenção de líquidos, sendo fatal em 20% a 50% dos pacientes. Sua incidência em crianças submetidas ao TCTH varia de 11% a 20% (RICHARDSON *et al.*, 2012).

2.8.6 Outras Complicações tardias

Com o aumento da sobrevida após o TCTH, vem crescendo o interesse a respeito dos efeitos tardios desse procedimento, os quais apresentam impacto direto na qualidade de vida dos pacientes. O TCTH alogênico possui uma série de complicações tardias, tanto malignas como não malignas. Dentre as complicações não malignas destacam-se as alterações endócrinas (disfunção tireoidiana, diminuição do crescimento, alterações na fertilidade), pulmonares (bronquiolite obliterante, pneumonia idiopática), cardíacas, oculares (catarata) e a osteoporese, dentre outras. Basicamente qualquer órgão pode ser afetado (TICHELLI *et al.*, 2009; SANDERS, 2008).

No grupo pediátrico, o impacto no crescimento e desenvolvimento é especialmente importante. A quimioterapia isolada parece não ter um impacto tão marcante no crescimento como quando associada com a irradiação do sistema nervoso central ou TBI. A irradiação está associada a uma deficiência na produção do hormônio do crescimento (GH), o qual é um dos principais fatores determinantes do crescimento na infância. A incidência da deficiência do GH após o uso da TBI varia de 20% a 85%. O impacto gerado dependerá da idade da criança no momento da irradiação e da dose recebida. A função tireoidiana, por sua vez, também é afetada pela irradiação, contribuindo para um maior impacto no crescimento. A disfunção tireoidiana inicial geralmente se apresenta como um hipotireoidismo subclínico, podendo progredir para o hipotireoidismo, o qual contribui para uma diminuição da estatura final no

grupo pediátrico. Além disso, os pacientes submetidos à quimio e radioterapia podem desenvolver hipogonadismo, com atraso do início da puberdade e sua progressão, acarretando em diminuição da estatura adulta final (SANDERS, 2008).

As complicações malignas incluem a recaída tardia da doença de base, o surgimento de leucemia secundária, desordens linfoproliferativas pós transplante e tumores sólidos (TICHELLI *et al.*, 2009). A desordem linfoproliferativa de células-B pós transplante está usualmente associada com a disfunção de células-T e a infecção com o vírus Epstein Barr (EBV). Dentre os tumores sólidos foi encontrado um maior risco de desenvolver melanoma, tumores da cavidade oral, câncer de tireóide, hepático, ósseo, do sistema nervoso central e do tecido conjuntivo, sendo o risco maior quanto mais jovem for o paciente no momento do transplante (TICHELLI *et al.*, 2008).

Com isso, se faz importante o seguimento das crianças submetidas ao TCTH por anos após o procedimento, a fim de detectar precocemente possíveis alterações e propiciar seu tratamento adequado (SANDERS, 2008).

2.9 Fatores de risco para a DECH aguda

Devido ao importante impacto da DECH aguda na morbimortalidade precoce dos pacientes submetidos ao TCTH alogênico, diversos estudos analisaram possíveis fatores de risco para o seu desenvolvimento, com o objetivo de melhorar os desfechos através da modulação destes fatores (JAGASIA *et al.*, 2012).

Várias características clínicas foram associadas a um maior risco de desenvolver DECH aguda, como estágio avançado da doença de base, regimes de condicionamento mais intensos e história de infecções virais prévias (como, por exemplo, infecção por CMV)

(BALL e EGELER, 2008; FERRARA *et al.*, 2009). O maior preditor desta complicação é o grau de incompatibilidade HLA entre o receptor e o doador, sendo outros fatores importantes a idade avançada do doador e receptor, incompatibilidade de gênero entre doador e receptor, incompatibilidade de antígenos de histocompatibilidade menores (mHA), fonte periférica do enxerto e dose de células tronco e profilaxia empregada. A administração de DLI também aumenta o risco desta complicação (BALL e EGELER, 2008; FLOWERS *et al.*, 2011).

Um estudo realizado por Jagasia M. *et al.*, 2012 encontrou um maior risco de DECHa nos pacientes transplantados de doador aparentado HLA idêntico que tiveram o uso de fonte periférica de células-tronco conjuntamente com condicionamento mieloablativo e TBI, enquanto que nos pacientes com doador não relacionado esse risco foi aumentado quando utilizado condicionamento mieloablativo associado à fonte periférica. Também evidenciou um risco significativamente menor de desenvolver tal complicação com o uso de RIC e de profilaxia para DECH com tacrolimus e metotrexate quando comparado com ciclosporina e metotrexate. Outros estudos identificaram doador feminino/receptor masculino, estágio avançado da doença de base e maior idade do receptor como fatores de risco para seu desenvolvimento, assim como a leucemia mielóide crônica como doença de base (JAGASIA *et al.*, 2012).

2.10 Fatores de risco para a DECH crônica

Assim como na DECH aguda, com o objetivo de detecção e tratamento precoce da DECH crônica, vários fatores de risco foram identificados, tanto fatores relacionados ao paciente (idade, estágio da doença), como ao doador (idade, grau de compatibilidade HLA, sexo) e ao transplante (condicionamento, fonte de células, quantidade de células tronco

infundidas, tipo de doador, complicações prévias), entre outros (ATKINSON *et al.*, 1990; CARLENS *et al.*, 1998; OSAWA *et al.*, 2007; REMBERGER *et al.*, 2002). Também estudos tentaram identificar exames laboratoriais capazes de prever a mortalidade relacionada ao TCTH e a ocorrência de DECHc, como, por exemplo, níveis de bilirrubina, γ glutamiltransferase, colinesterase sérica, proteínas totais e contagem plaquetária (BACIGALUPO *et al.*, 1999; BACIGALUPO *et al.*, 2001; SORMANI *et al.*, 2003).

Um estudo realizado por Osawa S. *et al* em 2007 analisou retrospectivamente 2937 pacientes submetidos ao TCTH não relacionado e que sobreviveram após 100 dias do transplante, quanto à incidência de DECHc e fatores de risco para o seu desenvolvimento, identificando em análise multivariada 7 fatores capazes de prever DECHc: idade do receptor >20 anos, idade do doador > 30 anos, diagnóstico primário de leucemia mielóide crônica, incompatibilidade HLA-A, B ou C, regime de condicionamento contendo irradiação corporal total, contagem plaquetária < $50 \times 10^9/l$ no D+100 e GVHDA prévio. Outro estudo desenvolvido por Remberger *et al* em 2001 identificou GVHDA prévio, diagnóstico inicial de leucemia mielóide crônica, transplante de doador feminino imunizado para um receptor masculino como fatores de risco independentes para DECHc em análise multivariada, quando analisados 679 pacientes com DECHc pós transplante alogênico de medula óssea.

Bacigalupo A, Oneto R *et al* em 1999 descreveu um escore preditivo de Mortalidade Relacionada ao Transplante (TRM) baseado nos níveis de bilirrubina e uréia nitrogenada sérica no d+7 após o TCTH. Este estudo incluiu 309 pacientes submetidos ao TCTH devido a desordens hematológicas, tanto de doadores aparentados como não aparentados, tendo sido testados 27 exames laboratoriais, dos quais, os níveis de bilirrubina e uréia nitrogenada sérica foram fatores preditivos independentes de TRM em análise multivariada. Foi concluído que um escore com valores laboratoriais obtidos no d+7 pós TCTH foi altamente preditivo de TRM em análise multivariada, sugerindo que seria possível, através deste, identificar

pacientes com diferentes riscos de mortalidade. Isso permitiria que aqueles classificados como alto risco pudessem ser eleitos para um programa de intensificação de profilaxia das principais complicações.

Posteriormente, Sormani MP, Oneto R et al em 2003 revisaram o escore previamente citado, incluindo, além dos exames anteriores, a colinesterase sérica, proteínas totais, γ glutamil transferase, tipo de doador e quantidade celular infundida. Foram identificados três grupos de pacientes classificados como baixo, intermediário e alto risco, com riscos de TRM em 6 anos de 15, 40 e 69%, respectivamente. Os pacientes classificados como alto risco pelo escore desenvolveram mais DECH e apresentaram contagens plaquetárias menores. Tal estudo confirma que tanto a DECHc como a TRM podem ser previstas no d+7 pós TCTH e, portanto, tratamento preemptivo pode ser avaliado para uso em pacientes de alto risco para desenvolvimento de DECHc.

Estudos em pediatria vêm demonstrando uma menor incidência desta complicação, estando em torno de 22% a 29%. Quanto aos fatores de risco, estes estudos encontraram as seguintes características associadas ao desenvolvimento de DECH crônica: idade avançada do receptor (≥ 10 anos ou ≥ 15 anos), idade avançada do doador (> 5 anos), doador feminino/receptor masculino, uso de TBI no regime de condicionamento, doenças malignas e DECH agudo prévio (KONDO *et al.*, 2001; ZECCA *et al.*, 2002).

2.11 Estudos brasileiros prévios no grupo pediátrico

Morando *et al.*, 2010 realizaram um estudo retrospectivo de 208 pacientes menores de 19 anos de idade submetidos ao TCTH por leucemia aguda em duas instituições brasileiras, o Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e o Hospital Amaral Carvalho em Jaú

(SP). 119 pacientes apresentavam como doença de base a LLA e 89 a LMA. 67% dos transplantes foram de doadores aparentados e em 63% dos casos a fonte celular foi a medula óssea. 62% dos pacientes foram transplantados em estágio precoce da doença (1RC ou 2RC). A incidência de DECH aguda foi de 37% e de DECH crônica de 18%. A SG em 3 anos neste grupo foi de 45% e a SLD em 3 anos de 39%. Não observaram diferença na SG e na SLD entre pacientes com LLA e LMA, entre transplantes aparentados e não aparentados e entre as diferentes fontes de célula-tronco utilizadas. No entanto, pacientes com doença avançada ($\geq 3RC$, doença refratária ou recaída) tiveram menor SG e SLD em 3 anos ($p < 0,001$). A TRM foi de 16%.

Outro estudo brasileiro realizado no Serviço de Oncologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre realizou uma coorte histórica que incluiu um total de 41 pacientes menores de 21 anos que receberam infusão de células-tronco hematopoiéticas, tanto em transplantes autólogos (21 pacientes) como alogênicos (20 pacientes). Dentre os pacientes submetidos ao TCTH alogênico houve um predomínio das leucemias agudas como doença de base e, nos transplantes autólogos, predominaram os tumores sólidos. A ocorrência de DECH aguda no grupo que recebeu TCTH alogênico foi de 20% e a de DECH crônica foi de 21,4% com um maior risco de desenvolver DECH crônica nos pacientes transplantados de células-tronco periféricas ($p = 0,013$). A SG em 4 anos dos pacientes submetidos ao transplante alogênico foi de 70%. A TRM neste grupo foi de 30% (CASTRO JR. *et al.*, 2003).

3. JUSTIFICATIVA

O TCTH alogênico é um importante tratamento para várias patologias hematológicas malignas e não malignas, assim como para o tratamento de outras doenças não hematológicas tanto nos adultos como no grupo pediátrico. No entanto, ainda está sujeito a uma série de complicações precoces e tardias, sendo um procedimento com alta morbimortalidade.

No entanto, poucos estudos foram realizados na população pediátrica, e, um número ainda menor, em centros brasileiros. O Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) é um serviço de referência para a realização de TCTH no Estado do Rio Grande do Sul, fazendo-se importante conhecer o perfil epidemiológico e a evolução de crianças e adolescentes submetidos ao TCTH em nossa realidade, assim como identificar possíveis fatores de risco para as principais complicações.

4. OBJETIVOS

1. Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes pediátricos submetidos ao TCTH alogênico no Serviço de Hematologia do HCPA;
2. Descrever as características relacionadas ao receptor, doador e transplante neste grupo de pacientes;
3. Identificar a incidência das principais complicações pós TCTH;
4. Verificar possíveis associações de fatores de risco já identificados em relação à ocorrência de DECH aguda, DECH crônica e óbito, assim como sua influência na sobrevida global destes pacientes.

5. METODOLOGIA

Foi realizado um estudo de coorte retrospectivo através da coleta e análise de dados registrados em prontuário médico de pacientes entre 0 e 21 anos de idade que foram submetidos ao Transplante Alogênico de Células Tronco Hematopoiéticas para doenças hematológicas no Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no período de 1995 a 2011. Não foram incluídos os transplantes realizados pelo Serviço de Oncologia Pediátrica do mesmo hospital.

Foram registradas variáveis inerentes ao paciente (idade, sexo, doença de base, status da doença, tipo sanguíneo, status sorológico para o citomegalovírus (CMV)), ao doador (idade, sexo, tipo sanguíneo, status sorológico para o CMV) e ao transplante (data do transplante, tipo de transplante, fonte de células, quantidade de células infundidas, dia da pega de neutrófilos e plaquetária, desenvolvimento de DECH aguda e crônica, compatibilidade HLA, ocorrência de óbito, tipo de condicionamento, profilaxia de DECH), assim como resultados de exames laboratoriais (hemoglobina, plaquetas, γ glutamil transferase, bilirrubinas, fosfatase alcalina, transaminases, creatinina, uréia) coletados entre os dias 6 e 8 após o TCTH. Os desfechos analisados foram: sobrevida global, sobrevida livre de doença, DECH aguda, DECH crônica e óbito. As variáveis preditoras analisadas neste estudo estão descritas na tabela abaixo (Tabela 6).

Tabela 5 - Variáveis preditoras relacionadas ao receptor, doador, TCTH e exames laboratoriais.

Variáveis Preditoras			
Receptor	Doador	TCTH	Exames
Idade	Idade	Tempo	Hemoglobina
		Diagnóstico/TCTH	
Sexo	Sexo	Tipo de Doador	Plaquetas
Doador F/ Receptor M	Incompatibilidade Sanguínea	Compatibilidade HLA	GGT
Incompatibilidade Sanguínea	Sorologia CMV	Fonte de células-tronco	Bilirrubinas
	Discordância CMV	Condicionamento	FA
Doença de Base		TBI	Transaminases
Status da Doença		Profilaxia DECH	Creatinina
Sorologia CMV		Pega neutrófilos	Uréia
Discordância CMV		Pega plaquetas	Sódio
		Quantidade de células infundida	Potássio
		DECH aguda	
		DECH crônica	

F=feminino; M=masculino; CMV=citomegalovírus; TBI=irradiação corporal total; GGT=gamaglutamiltransferase; FA= fosfatase alcalina.

Para a análise da idade, tanto os pacientes como seus doadores foram divididos em três categorias: menores de 10 anos, entre 10 e 20 anos (inclusive) e maiores de 20 anos. O sexo foi analisado isoladamente e também quanto à presença da combinação doador feminino/receptor masculino. Quanto à sorologia para o CMV, foram avaliadas a soropositividade do receptor e do doador isoladamente, assim como a discordância do status sorológico entre doador e receptor (receptor -/doador + ou receptor +/doador -) com relação

aos desfechos. Para fins de análise, as doenças de base foram divididas em duas categorias: leucemias e outras doenças. As leucemias também foram classificadas de acordo com o status da doença pré transplante em: status precoce, o qual incluiu as leucemias agudas em primeira e segunda remissão e LMC em fase crônica e status tardio, que são as leucemias agudas em terceira ou mais remissões, LMC em crise blástica e leucemias recaídas ou refratárias. O tempo entre o diagnóstico e o TCTH foi dividido em duas categorias: menor que 12 meses e maior que 12 meses, como proposto pelo escore de risco da EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation) (GRATWOHL, 2012). A quantidade de células CD34 infundida foi dividida em três categorias: $<2 \times 10^6$ células/Kg, de 2×10^6 células/Kg a 4×10^6 células/Kg (inclusive) e $>4 \times 10^6$ células/Kg do receptor. A profilaxia de DECH e o tipo de condicionamento foram analisados em duas categorias: ciclosporina + metotrexate e outros; bussulfam + ciclofosfamida e outros, respectivamente, sendo que na categoria “outros” foram incluídos todas as demais profilaxias/condicionamentos empregados. O uso de TBI no regime de condicionamento foi analisado separadamente. Por fim, para a análise dos dados laboratoriais foi realizada a média observada nos três dias (D6, D7 e D8) e, para a contagem de plaquetas, foram criadas duas categorias: $\leq 50000/\text{mm}^3$ e $> 50000/\text{mm}^3$.

Como enxertia dos glóbulos brancos foi considerada uma contagem absoluta de neutrófilos no sangue periférico superior a $500/\text{mm}^3$ por 3 dias consecutivos ou uma única contagem superior a $1500/\text{mm}^3$ e para a enxertia plaquetária uma contagem de plaquetas maior que $20000/\text{mm}^3$ sem suporte transfusional nos 7 dias antecedentes.

Foram considerados como mortalidade relacionada ao transplante (TRM) os pacientes que evoluíram a óbito por qualquer outra causa que não a recaída da doença. Os pacientes que sobreviveram mais de 100 dias após o transplante foram considerados avaliáveis para a ocorrência de DECH crônica.

A sobrevida global foi calculada do dia do transplante até a data do óbito ou do último contato com o paciente e a sobrevida livre de doença foi calculada do dia do transplante até o dia da recaída, do óbito ou do último contato realizado.

Os dados coletados foram compilados em planilhas do Excel e para a sua análise estatística foi utilizado o programa STATA 11.1. As variáveis categóricas foram descritas através de frequências enquanto que as variáveis quantitativas pela mediana. Para a análise bivariada das variáveis categóricas foram utilizados o Teste do Qui Quadrado ou o Exato de Fisher, enquanto que para a comparação entre variáveis categóricas e quantitativas foi usado o Teste t de Student e para amostras sem distribuição normal o teste de Kruskal Wallis. Foi calculado um Intervalo de Confiança (IC) de 95% para a ocorrência dos desfechos, sendo um valor de p menor ou igual a 0,05 considerado como de significância estatística. Para a análise da sobrevida global (SG) e sobrevida livre de doença (SLD) foram utilizadas as curvas de Kaplan-Meier, enquanto que para a análise das diferenças de sobrevida entre os grupos, foi empregado o teste de verossimilhança de log-rank. Para a análise multivariada dos desfechos DECH aguda e DECH crônica foi usada a regressão de Poisson, enquanto que para a sobrevida global foi utilizado o modelo de regressão de Cox. Foi realizada a regressão do tipo *stepwise backward*. Foram incluídas na análise as variáveis que apresentaram $p \leq 0,2$.

6. RESULTADOS

6.1 Análise descritiva

No período de julho de 1995 a janeiro de 2011 foram transplantados 100 pacientes com idades entre 0 e 21 anos no Serviço de Hematologia Clínica e Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A tabela 5 resume as características dos receptores e doadores de células tronco hematopoiéticas incluídos no estudo. A mediana de idade do receptor foi de 9,5 anos, sendo 55% do sexo masculino, dos quais 24% receberam o enxerto de doadores femininos. A sorologia para o CMV era positiva em 81% dos pacientes, sendo que 42% dos casos apresentava discordância desta sorologia em relação ao seu doador (Tabela 7).

Tabela 6 - Características dos pacientes e seus doadores (n=100).

CARACTERÍSTICAS	MEDIANA (intervalo)	N (%)
Receptor	9,5 (0,5 - 21)	-
Idade (anos)	-	55 (55%)
Sexo masculino	-	45 (45%)
Sexo feminino	-	81 (81%)
*CMV +	-	19 (19%)
CMV -		

Continua...

Continuação....

CARACTERÍSTICAS	MEDIANA (intervalo)	N (%)
Doador		
Idade (anos)	14 (1 – 45)	-
Sexo masculino	-	44 (44%)
Sexo feminino	-	43 (43%)
Sexo desconhecido	-	13 (13%)
*Doador F/Receptor M	-	21 (24%)
CMV +	-	57 (57%)
CMV -	-	43 (43%)
CMV discordante	-	42 (42%)

*CMV: citomegalovírus; F: feminino; M: masculino.

A principal doença de base neste grupo foram as leucemias agudas, presentes em 48% dos pacientes, sendo 60,4% delas do tipo Leucemia Linfocítica Aguda (LLA), 37,5% Leucemia Mielocítica Aguda (LMA) e 2,1% Leucemia Aguda Secundária. Após as leucemias agudas, a Aplasia de Medula Óssea foi o diagnóstico predominante, contribuindo com 25% dos pacientes transplantados (Figura 4).

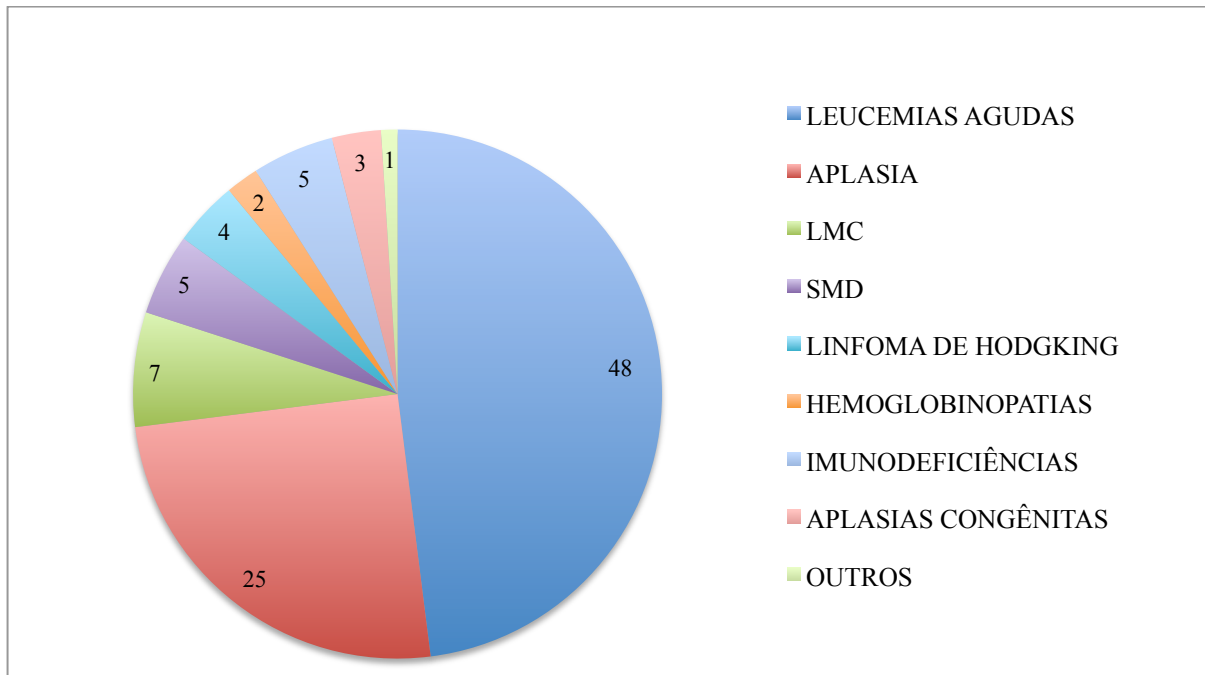


Figura 4 - Distribuição da frequência (%) dos pacientes submetidos ao TCTH de acordo com a doença de base.

O doador foi, em 73% dos casos, um doador aparentado. A medula óssea foi a principal fonte de células tronco hematopoiéticas, tendo sido empregada para 85,4% dos pacientes transplantados, enquanto que em 8,3% foi usado cordão umbilical e em 6,3% o sangue periférico. Em 36% dos transplantes, o esquema bussulfam e ciclofosfamida (BUCY) foi utilizado como regime de condicionamento, tendo sido empregada a TBI em 26,7% dos pacientes. Como profilaxia para a DECH, 56% dos casos receberam ciclosporina (CSA) em conjunto com o metotrexate (MTX). A mediana da pega dos neutrófilos e das plaquetas foi de 20 e 19 dias, respectivamente (Tabela 6).

Um total de 42 pacientes apresentou DECH aguda, com uma incidência de 46%, enquanto que 25 tiveram DECH crônica (30,8%). Vinte pacientes (21%) recaíram da doença de base após o transplante, sendo a mediana de tempo do transplante até a recaída de 158 dias. Trinta e oito pacientes evoluíram com óbito, sendo que destes, 24 (63%) foram ao óbito por complicações relacionadas ao transplante. A mediana de tempo do transplante até o óbito foi de 3 meses (Tabela 8).

Tabela 7 - Características do TCTH e suas complicações.

CARACTERÍSTICAS (“n” disponível)	MEDIANA (intervalo)	N (%)
Tipo de doador (n= 100)		
Aparentado		73 (73%)
Não aparentado		27 (27%)
Fonte celular (n= 96)		
Medula óssea		82 (85,4%)
Sangue de cordão		8 (8,3%)
Sangue periférico		6 (6,3%)
Condicionamento (n= 100)		
*BUCY		36 (36%)
Outros		64 (64%)
*TBI (n= 90)		
		24 (26,7%)
Profilaxia *DECH (n= 100)		
*CSA + *MTX		56 (56%)
Outras		44 (44%)
*HLA (n=97)		
Compatível		94 (96,9%)
<i>Mismatch</i>		3 (3,1%)
DECH Aguda (n= 91)		
		42 (46,2%)
DECH Crônica (n= 81)		
		25 (30,8%)
Recaída (n= 96)		
		20 (20,8%)
Óbito (n= 99)		
		38 (38,4%)
*TRM (n=99)		
		24 (24,2%)
Tempo diagnóstico/TCTH (meses)	21 (1,2 – 213)	

Continua...

Continuação...

CARACTERÍSTICAS (“n” disponível)	MEDIANA (intervalo)	N (%)
Tempo TCTH/óbito (meses)	3 (0,2-69)	
Tempo TCTH/recaída (meses)	5,3 (1,3 – 48,5)	
Pega neutrófilos (dias)	20 (13 – 45)	
Pega plaquetas (dias)	19 (4 – 316)	

*BUCY: bussulfan+ciclofosfamida; TBI: irradiação corporal total; DECH: doença do enxerto contra o hospedeiro; CSA: ciclosporina; MTX: metotrexate; HLA: antígeno leucocitário humano; TRM: mortalidade relacionada ao transplante.

No grupo de pacientes transplantados com leucemia aguda, 61,4% receberam medula óssea de um doador aparentado e, no que diz respeito à fonte celular, 84,4% das células tronco hematopoiéticas infundidas eram provenientes da medula óssea, 11,1% de cordão umbilical e 4,5% de coleta periférica. Nestes pacientes o condicionamento empregando BUCY ocorreu em 37,2% dos casos e 48,9% receberam TBI. A maioria recebeu CSA+MTX como profilaxia para a DECH (60,5%). A incidência de DECH aguda ficou em 51,2% e DECH crônica em 30,7%. Quinze pacientes recaíram da doença de base (31,2%) e 45,8% foram ao óbito. Neste grupo, 67% foram transplantados em fase tardia da doença. Estas e outras características podem ser observadas na Tabela 9.

Tabela 8 - Características do TCTH e suas complicações nos pacientes transplantados com leucemia aguda (N=48).

CARACTERÍSTICAS (“n” disponível)	MEDIANA (intervalo)	N (%)
Tipo de doador (n=44)		
Aparentado		27 (61,4%)
Não aparentado		15 (34,1%)
Gêmeo monozigótico		2 (4,5%)
Fonte celular (n=45)		
Medula óssea		38 (84,4%)
Sangue de cordão		5 (11,1%)
Sangue periférico		2 (4,5%)
Estágio da doença (n=46)		
*1RC		15 (32,6%)
2RC		22 (47,8%)
≥ 3RC, doença refratária ou recaída		9 (19,6%)
Condicionamento (n=43)		
*BUCY		16 (37,2%)
Outros		27 (62,8%)
*TBI (n=45)		
		22 (49,9%)
*Profilaxia DECH (n=43)		
CSA + MTX		26 (60,5%)
Outras		17 (39,5%)
*DECHc (n=39)		
		12 (30,7%)

Continua...

Continuação...

CARACTERÍSTICAS ("n" disponível)	MEDIANA (intervalo)	N (%)
*DECHa (n=43)		22 (51,2%)
Recaída (n=48)		15 (31,2%)
Óbito (n=48)		22 (45,8%)
Tempo diagnóstico/TCTH (meses)	25 (4 - 72)	
Tempo TCTH/óbito (meses)	4,5 (0,6 – 69)	
Tempo TCTH/recaída (meses)	4 (1,3 – 47,6)	
Pega neutrófilos (dias)	20 (13 – 45)	
Pega plaquetas (dias)	18 (7 – 105)	

*RC: remissão completa; BUCY: bussulfan+ciclofosfamida; TBI: irradiação corporal total; DECH: doença do enxerto contra o hospedeiro; CSA: ciclosporina; MTX: metotrexate; DECHc: doença do enxerto contra o hospedeiro crônica; DECHa: doença do enxerto contra o hospedeiro aguda.

6.2 Análise univariada

Na tabela 10 estão listadas as variáveis que apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação à ocorrência dos diferentes desfechos. Em relação ao desfecho DECH aguda, pode-se observar que os pacientes que receberam células-tronco de doadores não aparentados tiveram maior ocorrência do desfecho quando comparados com os de doadores aparentados ($p=0,037$). A ocorrência de DECH aguda também se mostrou aumentada com o uso de TBI nos regimes de condicionamento ($p=0,027$) e na presença de *mismatches* do HLA ($p=0,031$). Receptores de doadores com idade maior que 20 anos também apresentaram associação com uma maior chance de DECH aguda ($p=0,007$). Quanto aos exames laboratoriais no D+7, a uréia ($p=0,053$), a TGO ($p=0,035$) e a fosfatase alcalina ($p=0,005$) se mostraram associadas à ocorrência de DECH aguda.

Quanto ao desfecho DECH crônica, ocorreu uma tendência de receptores mais jovens apresentarem menos DECH crônica, assim como receptores de doadores com menores idades ($p=0,048$ e $p=0,023$, respectivamente). O uso de ciclosporina e metotrexate como profilaxia para a DECH teve associação com uma menor ocorrência de DECH crônica ($p=0,001$), assim como a ausência de incompatibilidade sanguínea entre o receptor e o doador ($p=0,045$). O status sorológico positivo para o CMV do receptor também mostrou associação com uma menor ocorrência deste desfecho ($p=0,037$), o que também ocorreu para receptores de doadores com sorologia positiva para o CMV ($p=0,030$). A análise da discordância do status sorológico entre receptor e doador para o CMV mostrou que o grupo com ausência de discordância teve uma menor chance de desenvolver DECH crônica, porém sem significância estatística ($p=0,065$). A quantidade de células CD34 infundidas não apresentou relação com a ocorrência de DECH aguda ou crônica ($p=0,632$ e $p=0,348$, respectivamente). Na análise dos exames laboratoriais, a média da creatinina se mostrou mais elevada no grupo que apresentou DECH crônica ($p=0,0063$).

Quando analisado o óbito como desfecho, o status tardio da doença de base antes do TCTH teve relação com uma maior mortalidade ($p=0,012$). Pacientes transplantados de doadores não aparentados e de doadores com sorologia negativa para o CMV também tiveram maior ocorrência de óbito ($p=0,00$ e $p=0,022$, respectivamente). Quando analisado a fonte de células tronco, os receptores de células tronco periféricas tiveram menor taxa de óbito (16,7%), enquanto que os transplantados de cordão umbilical foram os que apresentaram maior taxa (50%), no entanto a diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,433$). O uso de TBI no esquema de condicionamento mostrou associação com óbito, assim como a não ocorrência de “pega” do enxerto ($p=0,018$ e $p=0,001$, respectivamente). A mortalidade também foi maior nos pacientes que apresentaram DECH aguda como complicação (42,9% x 29,2%), no entanto com $p=0,176$. Os pacientes que apresentaram recaída da doença após o

TCTH tiveram maior mortalidade com um nível de significância $p=0,00$ (75% de óbito nos que recaíram contra 25,3% nos grupo sem recaída). O valor das plaquetas <50000 como média entre os dias 6 a 8 após o TCTH teve associação com uma maior taxa de óbito, porém com $p=0,068$. Não foi encontrada diferença significativa na mortalidade dos receptores portadores de leucemias quando comparados com os portadores de outras doenças de base ($p=0,139$). A TGP também se mostrou associada à ocorrência de óbito ($p=0,0043$).

Tabela 9 - Variáveis com significância estatística em análise univariada para os desfechos.

DECH aguda	DESFECHOS DECH crônica	Óbito
Tipo de doador	Profilaxia para DECH	Status da doença
*TBI	Incompatibilidade sanguínea	Tipo de doador
<i>Mismatch</i> no HLA	*CMV do receptor e doador	*CMV doador
Idade doador	Idade receptor e doador	*TBI
Uréia	Creatinina	Ausência de “pega” do enxerto
*TGO		Recaída
Fosfatase alcalina		*TGP

*TBI: irradiação corporal total; TGO: transaminase glutâmico-oxalacética; TGP: transaminase glutâmico pirúvica; CMV: citomegalovírus.

6.3 Sobrevida global em 10 anos e sobrevida livre de doença

A sobrevida global estimada em 10 anos dos pacientes submetidos ao TCTH foi de 57% (Figura 5). Os pacientes que receberam TBI no regime de condicionamento apresentaram uma menor sobrevida global em 10 anos ($p=0,015$), o que também ocorreu para os pacientes que recaíram da doença de base ($p=0,0002$; sobrevida de 20% para os recaídos e

73% para os sem recaída), os que receberam células-tronco de doadores com sorologia negativa para o CMV e de doadores não aparentados ($p=0,0154$ e $p= 0,0001$, respectivamente) (Figura 6, 7, 8 e 9). Os pacientes transplantados com doença em estágio avançado também apresentaram menor sobrevida em 10 anos ($p=0,0278$), assim como os que apresentavam plaquetas <50000 na média dos dias 6 a 8 após o TCTH, porém este com um nível de significância $p=0,0635$ (Figura 10 e 11). A sobrevida global em 10 anos das variáveis que apresentaram significância estatística pode ser observada na tabela 11.

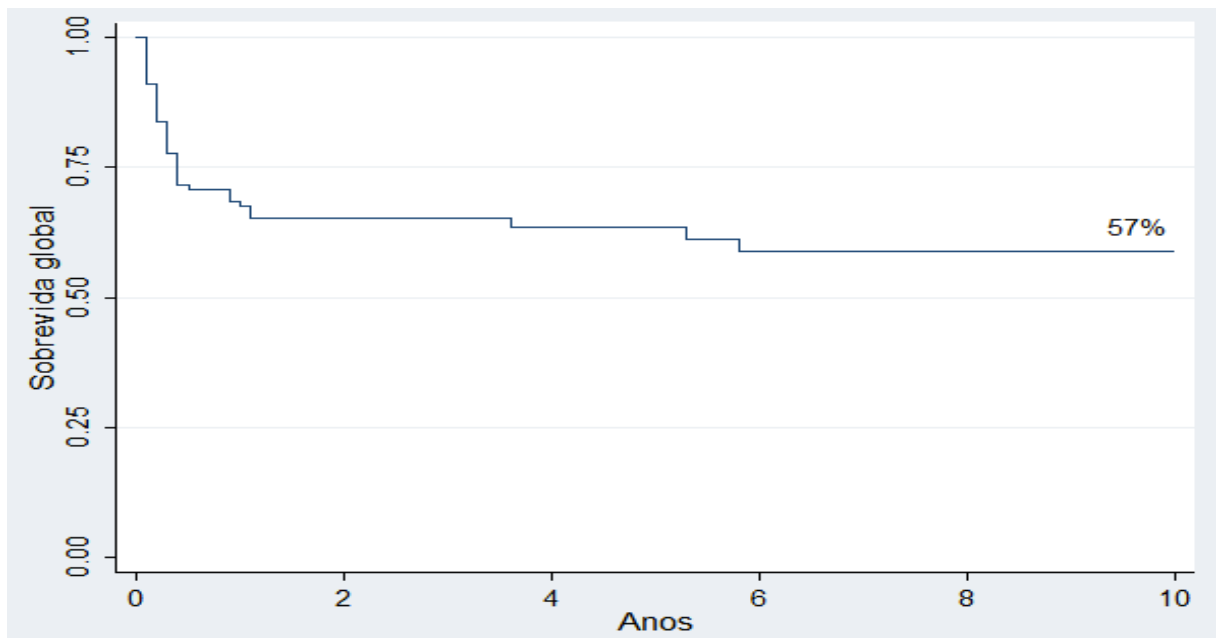


Figura 5 - Sobrevida global em 10 anos dos pacientes submetidos ao TCTH.

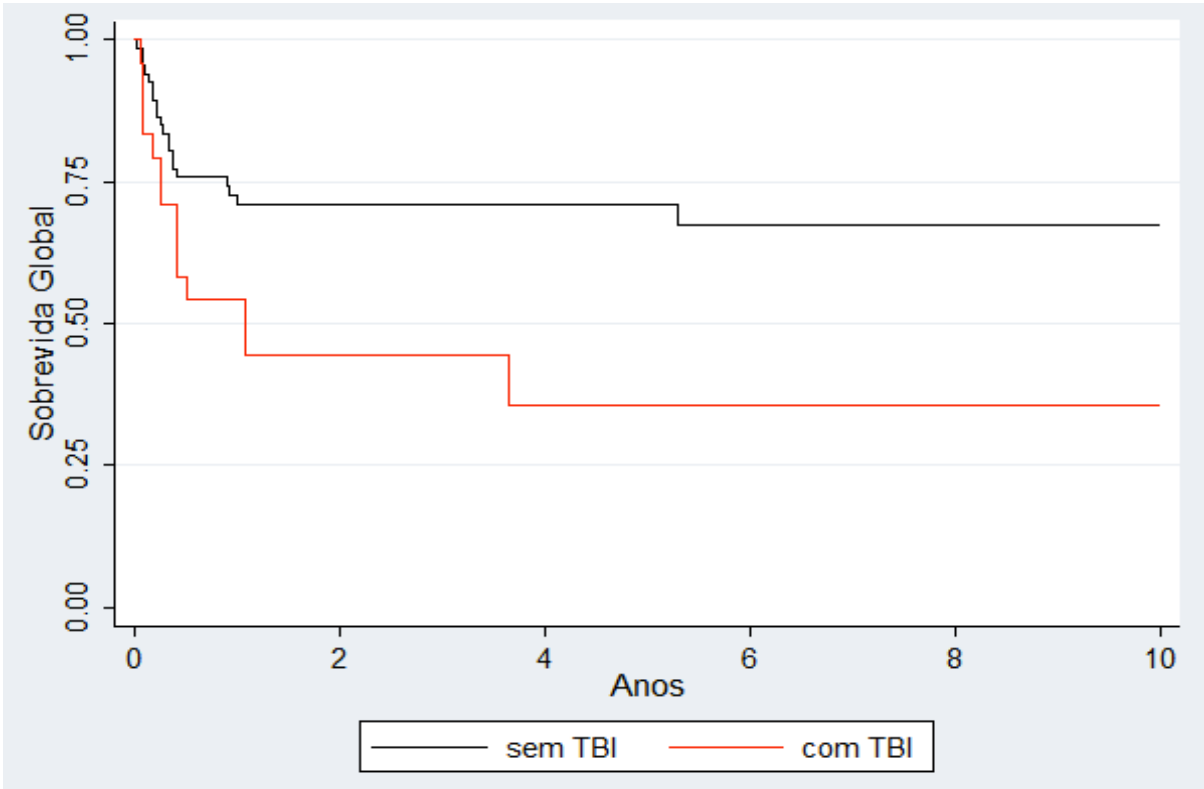


Figura 6 - Sobrevida global em 10 anos de acordo com o uso de TBI.

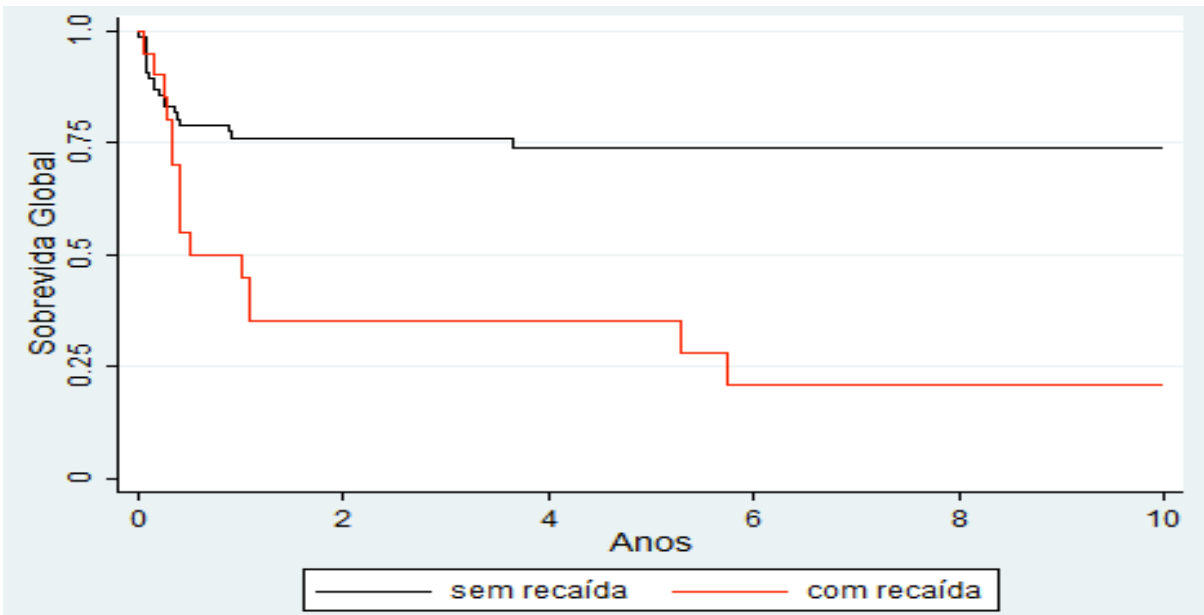


Figura 7 - Sobrevida global em 10 anos conforme a presença ou não de recaída da doença de base.

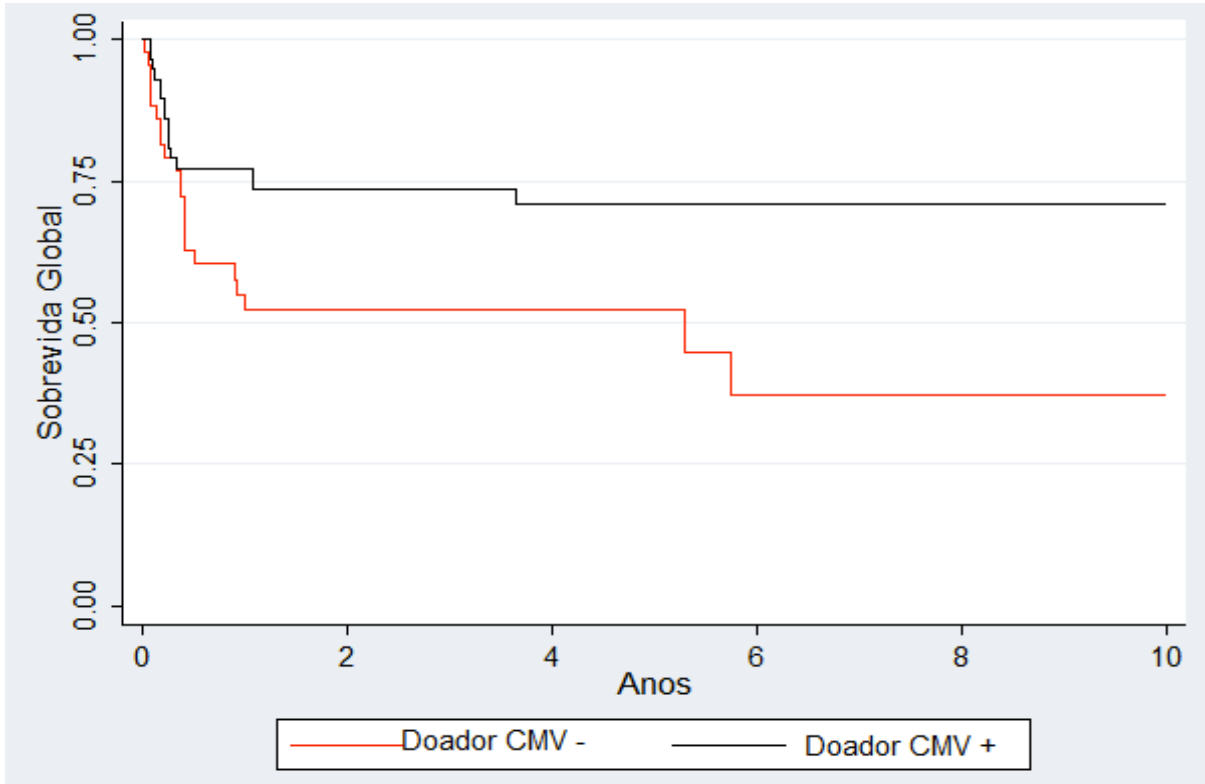


Figura 8 - Sobrevida global em 10 anos conforme sorologia CMV do doador.

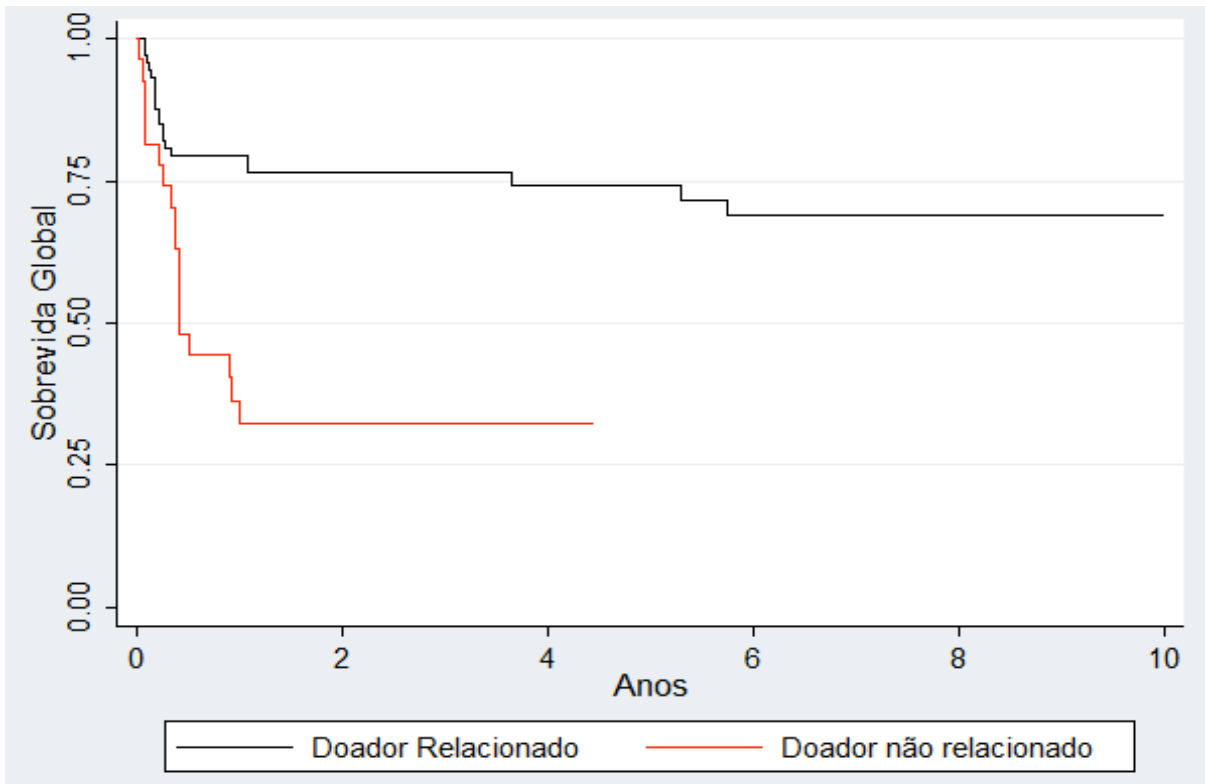


Figura 9 - Sobrevida global em 10 anos de acordo com o tipo de doador.

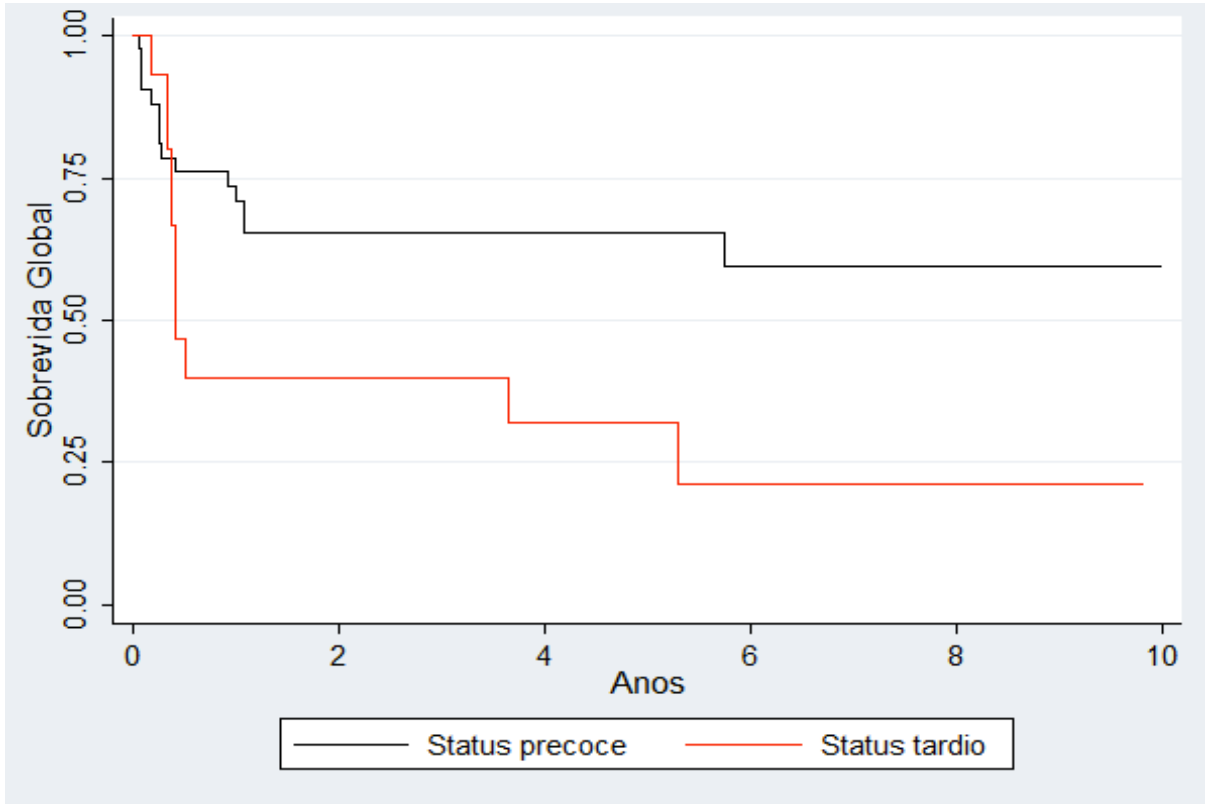


Figura 10 - Sobrevida global em 10 anos de acordo com o status da doença.

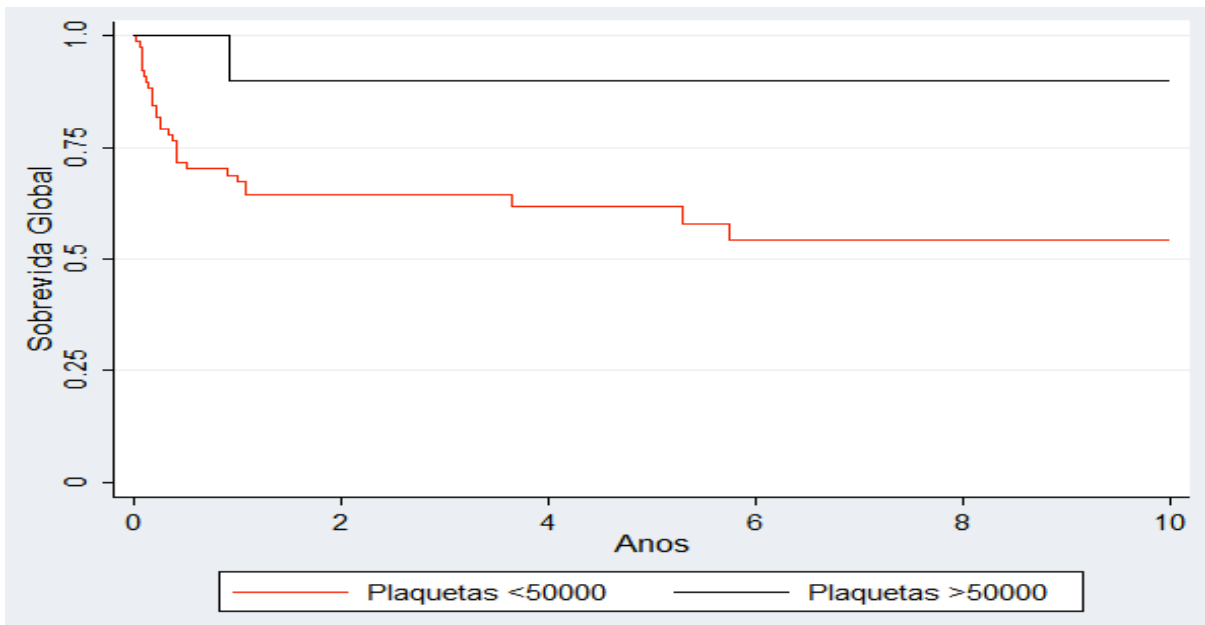


Figura 11 - Sobrevida global em 10 anos conforme o valor das plaquetas entre os dias 6 e 8 após o TCTH.

Tabela 10 - Variáveis com significância estatística na análise univariada para a sobrevida global (SG) em 10 anos.

Variável	SG em 10 anos (%)	Valor de p
*TBI		0,015
Sim	34	
Não	66	
Recaída		0,0002
Sim	20	
Não	73	
Doador *CMV		0,0154
Negativo	36	
Positivo	70	
Tipo de doador		0,0001
Aparentado	68	
Não aparentado	31	
Status da doença		0,0278
Precoce	59	
Tardio	21	

*TBI: irradiação corporal total; CMV: citomegalovírus.

Não teve diferença na sobrevida dos pacientes submetidos ao TCTH por leucemia aguda (SG=47%) quando comparados com outras doenças hematológicas (SG=65%), com $p=0,1959$ (Figura 12). A sobrevida livre de doença em 10 anos foi de 45% (Figura 13).

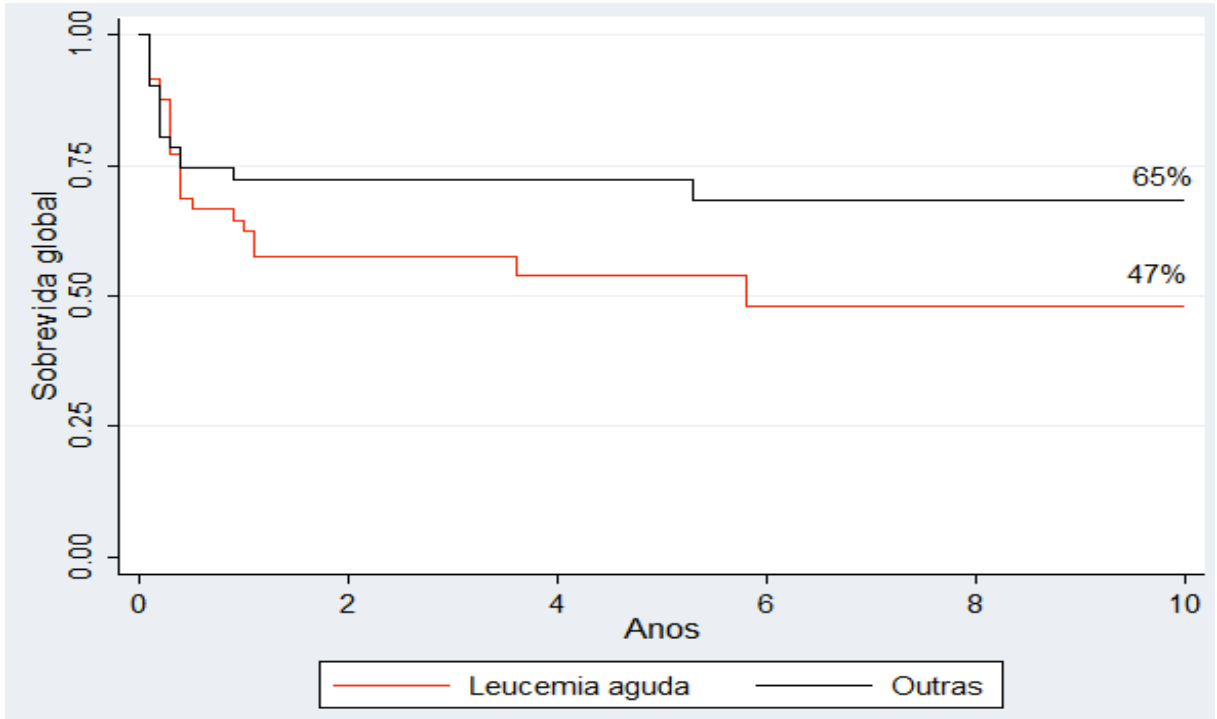


Figura 12 - Sobrevida global em 10 anos no grupo com leucemia aguda e outras doenças de base.

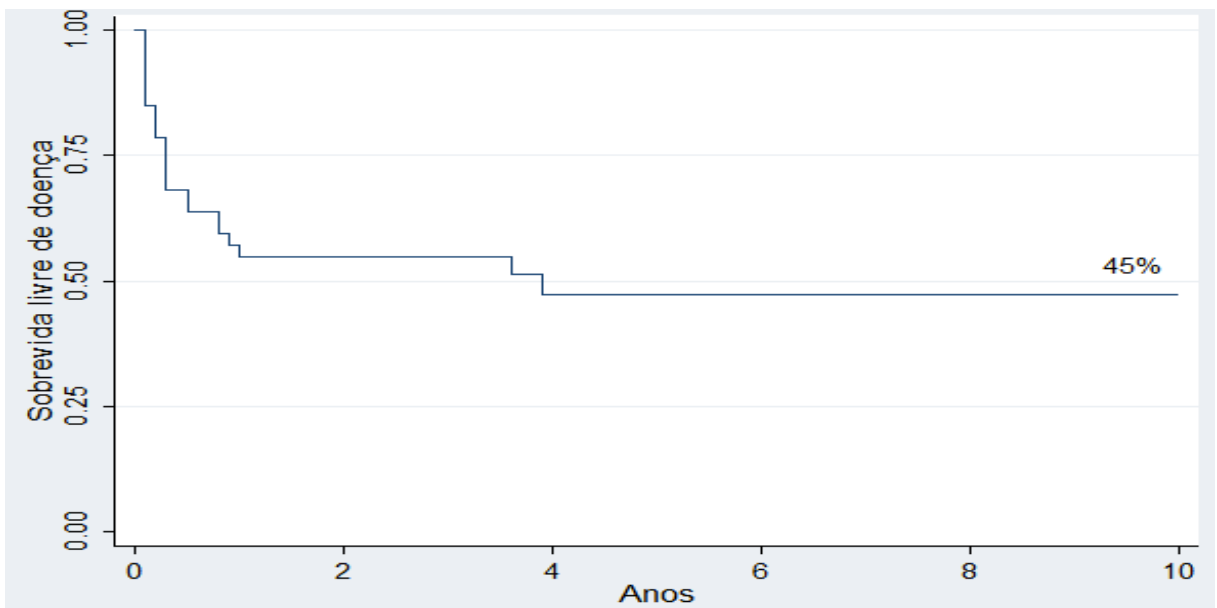


Figura 13- Sobrevida livre de doença em 10 anos dos pacientes com leucemia aguda submetidos ao TCTH.

6.4 Análise multivariada

Quando realizada a análise multivariada para a DECH aguda, nenhuma das variáveis apresentou significância estatística, sendo que a idade avançada do doador apresentou um $p=0,060$ (Tabela 12). Em relação à DECH crônica, a profilaxia para a DECH com ciclosporina e metotrexate se mostrou como um fator protetor, com $p=0,015$ (Tabela 13). Na análise da sobrevida global, tanto o doador não aparentado, como o uso de TBI e a recaída da doença de base se mantiveram como variáveis de risco com $p=0,002$, $p=0,020$ e $p=0,034$, respectivamente (Tabela 14).

Tabela 11 - Análise multivariada dos fatores de risco para a Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro aguda (DECHa).

DECH AGUDA				
	*IRR	“p” bruto	“p” ajustado	*IC 95%
Doador não aparentado	0,97	0,129	0,975	(0,12-7,68)
Doador *CMV+	0,95	0,342	0,926	(0,34-2,64)
*TBI	1,90	0,101	0,194	(0,72-5,01)
Mismatch *HLA	1,44	0,153	0,104	(0,93-2,23)
Idade doador >10 anos	1,88	0,019	0,060	(0,97-3,65)

*IRR: Risco relativo de incidência; IC: intervalo de confiança; CMV: citomegalovírus; TBI: irradiação corporal total; HLA: antígeno leucocitário humano.

Tabela 12 - Análise multivariada dos fatores de risco para a Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro crônica (DECHc).

DECH CRÔNICA				
	*IRR	“P” bruto	“p” ajustado	*IC 95%
Fonte celular				
Medula óssea	1	-	-	-
Periférica	1,24	0,312	0,809	0,21-7,11
Cordão	1,25	0,097	0,800	0,22-7,09
*CSA+MTX	0,26	0,010	0,015	(0,89-0,77)
*CMV discordante	1,64	0,134	0,303	(0,64-4,34)
Incompatibilidade sanguínea	1,43	0,099	0,476	(0,53-3,86)
*Doador F/receptor M	1,46	0,251	0,441	(0,56-3,84)
Idade receptor >10 anos	1,19	0,318	0,808	(0,29-4,79)
Doador não aparentado	1,16	0,146	0,863	(0,21-6,28)
Doador CMV+	1,07	0,080	0,905	(0,34-3,37)
*TBI	0,79	1,000	0,766	(0,17-3,73)
Mismatch *HLA	0,92	0,230	0,869	(0,33-2,51)
DECH CRÔNICA				
	*IRR	“p” bruto	“p” ajustado	*IC95%
Idade doador >10 anos	1,39	0,110	0,558	(0,46-4,22)

*IRR: Risco relativo de incidência; IC: intervalo de confiança; CSA: ciclosporina; MTX: metotrexate; CMV: citomegalovírus; F=feminino; M= masculino; TBI: irradiaçãoo corporal total; HLA: antígeno leucocitário humano.

Tabela 13 - Análise multivariada para os fatores de risco para a sobrevida global.

SOBREVIDA GLOBAL				
	*HR	“p” bruto	“p” ajustado	*IC 95%
Status tardio da doença	1,02	0,035	0,968	(0,35-2,93)
Diagnóstico de leucemia	1,13	0,202	0,922	(0,97-13,19)
Doador não aparentado	4,79	0,000	0,002	(1,80-12,76)
Doador *CMV +	0,93	0,019	0,950	(0,09-8,98)
Fonte celular				
Medula óssea	1	-	-	-
Periférica	0,75	0,281	0,854	(0,04-15,5)
Cordão	0,73	0,190	0,729	(0,12-4,32)
*TBI	2,76	0,019	0,020	(1,17-6,51)
*DECH aguda	0,55	0,125	0,241	(0,19-1,49)
Recaída	2,41	0,001	0,034	(1,07-5,43)
CMV discordante	1,92	0,192	0,109	(0,86-4,27)
Plaquetas >50000	0,92	0,100	0,941	(0,09-8,66)

*HR: Hazard Ratio; IC: intervalo de confiança; CMV: citomegalovírus; TBI: irradiação corporal total; DECH: doença do enxerto contra o hospedeiro.

7. DISCUSSÃO

O TCTH alogênico é um tratamento já bem estabelecido para uma ampla variedade de doenças hematológicas, oncológicas e imunológicas, sendo, no entanto, um procedimento ainda com alta morbimortalidade e sujeito a várias complicações. Apesar de sua importância, poucos estudos foram realizados nos pacientes pediátricos submetidos ao TCTH (BOUZAS, 2000; GYURKOCZA *et al.*, 2010; KOLINS *et al.*, 2011; MORANDO *et al.*, 2010). Com isso, o presente trabalho teve por objetivo descrever as principais características do TCTH no grupo pediátrico nesta instituição.

De forma geral, nossa população em estudo não diferiu quanto à distribuição etária e de sexo de outros estudos em crianças. Porém, no nosso estudo, um menor percentual de crianças com leucemia foi transplantada com doença em estágio avançado quando comparado com um estudo realizado em duas outras instituições brasileiras, provavelmente por serem instituições pioneiras no TCTH alogênico (19,6% e 38%, respectivamente), o que se torna importante tendo em vista os piores resultados obtidos nos pacientes em estágio tardio da doença (MORANDO *et al.*, 2010). Outro estudo brasileiro também apresentou um maior número de transplantes em pacientes com doença em estágio tardio (56%), porém este realizado na faixa etária adulta (LAMEGO *et al.*, 2010).

Em torno de 49% dos pacientes com leucemia aguda tiveram a TBI como parte do seu regime de condicionamento e, em 37,2%, foi empregado o bussulfan juntamente com a ciclofosfamida, os quais são os condicionamentos de escolha neste grupo de pacientes (MEHTA e DAVIES, 2008; GASSAS *et al.*, 2008). Mehta *et al.* em um artigo de revisão que visava o uso apropriado do TCTH para o tratamento de crianças com LLA, mostraram uma sobrevida livre de doença em 3 anos significativamente maior no grupo que recebeu CY+TBI no condicionamento quando comparado ao grupo que recebeu BU+CY em pacientes que

realizaram transplante HLA idêntico aparentado. O grupo que recebeu BU+CY também apresentou uma maior TRM nesta revisão (MEHTA e DAVIES, 2008). No nosso estudo, não foi encontrada diferença significativa na sobrevida global quando comparado o grupo de pacientes que recebeu BU+CY com o grupo que recebeu outros regimes de condicionamento e, quando analisado o uso ou não de TBI, o grupo que apresentou TBI no esquema de condicionamento teve uma menor sobrevida global. Em nosso serviço o condicionamento mieloablativo empregado de rotina para a LMA é o esquema BU+CY e para LLA CY+TBI. No entanto, foram analisadas as leucemias agudas em geral, sem diferenciação entre LLA e LMA, o que pode confundir os resultados.

A maioria dos transplantes realizados em nosso centro foram de doadores aparentados (73% no total de pacientes e 61,4% dos pacientes com leucemia aguda), tendo o programa com doadores não aparentados iniciado somente em 2005. A medula óssea foi a fonte celular mais empregada, sendo que somente 4,5% dos pacientes com leucemia aguda e 6,3% do total de pacientes receberam células-tronco de coleta periférica e 11,1%/8,3%, respectivamente, de cordão umbilical. Apesar de poucos dados sobre a segurança nos doadores pediátricos, o uso da coleta periférica é realizada em cerca de 23% dos transplantes com doadores aparentados e seus resultados mostraram uma maior incidência de DECH crônica neste grupo de pacientes, a qual foi aproximadamente o dobro da esperada para a coleta a partir da medula óssea. Um único estudo multicêntrico realizado mostrou uma maior mortalidade no grupo transplantado com células-tronco a partir de coleta periférica. Como não existe evidência de superioridade dos resultados obtidos com a coleta periférica quando comparada com a medula óssea, seu uso deve ser reservado a situações especiais nos pacientes pediátricos (PETERS *et al.*, 2010). O transplante de células-tronco oriundas do cordão umbilical foi um grande avanço no tratamento de crianças com leucemia aguda nos últimos 25 anos, com vantagens no que diz respeito a sua rápida disponibilidade, suportar uma maior incompatibilidade HLA e apresentar

uma menor taxa de DECH (MEHTA e DAVIES, 2008; COPELAN, 2006; BALLEEN *et al.*, 2013). Estudos mostraram resultados comparáveis com os de transplantes não aparentados, com a ressalva de maior incidência de falha na enxertia dos transplantes de cordão umbilical (PETERS *et al.*, 2010). Em nosso estudo não foi encontrada relação entre as diferentes fontes de células-tronco e os desfechos analisados, ressaltando o ainda pequeno número de pacientes transplantados com células de cordão umbilical (8 pacientes).

A incidência de DECH aguda (46,2%) foi compatível com dados da literatura, assim como a TRM (24,2%) (BALL e EGELER, 2008; HIGMAN e VOGELSANG, 2004; LAMEGO *et al.*, 2010; LEE, 2005; MORANDO *et al.*, 2010; VIZONI *et al.*, 2008). Estudos em pacientes pediátricos mostraram uma incidência de DECH aguda variando entre 8% e 85%, a depender do tipo de doador e fonte de células-tronco empregadas, assim como do grau da DECH aguda desenvolvida (JACOBSON, 2008). No entanto, a incidência de DECH crônica encontrada no nosso estudo (30,8%) foi um pouco superior à encontrada em estudos com crianças (22% a 29%), o que talvez seja explicado pela mediana maior de idade dos nossos pacientes (9,5 anos) quando comparada com outros dois destes estudos (7 anos), tendo em vista que pacientes mais velhos parecem ter maior risco de desenvolver tal complicação (KONDO *et al.*, 2001; ZECCA *et al.*, 2002). A TRM no grupo transplantado com leucemia aguda (20,8%) também foi próxima a relatada por outros estudos no grupo pediátrico, sendo que Morando *et al.* mostraram uma TRM de 20% para o grupo com LLA e de 11% quando a doença de base era a LMA (KOLINS *et al.*, 2011; MORANDO *et al.*, 2010). A taxa de recaída encontrada foi de 31,2%, a qual também é compatível com os dados da literatura, os quais variam em torno de 20% a 40% dependendo do tipo de leucemia (GASSAS *et al.*, 2008; MORANDO *et al.*, 2010).

A sobrevida global em 10 anos no presente estudo foi de 57%, sendo de 47% quando a doença de base era leucemia aguda e 65% para outras doenças hematológicas. A sobrevida

livre de doença em 10 anos foi de 45% para o grupo das leucemias agudas. Tais dados são discretamente superiores aqueles relatados em outro estudo brasileiro, o qual mostrou uma sobrevida global em 3 anos para crianças transplantadas com LLA de 43% e com LMA de 44%, enquanto que a sobrevida livre de doença no mesmo período foi de 38% e 40%, respectivamente (MORANDO *et al.*, 2010). Isso pode ser explicado pelo fato de um número maior de crianças terem sido transplantadas em estágio avançado da doença nestes centros.

O estágio tardio da doença de base já foi bem definido como um fator de risco para a DECH aguda, no entanto, tal fato não foi encontrado no nosso grupo de pacientes, talvez pelo número pequeno de pacientes analisados e, ainda menor, de pacientes que desenvolveram o desfecho (FLOWERS, 2011; JACOBSON, 2008; KOLB, 2008). O principal fator de risco já estabelecido para o desenvolvimento de DECH aguda é a incompatibilidade HLA, onde os pacientes transplantados de doadores aparentados com 100% de compatibilidade possuem menor taxa de DECH aguda quando comparados com aqueles que receberam enxertos com algum grau de incompatibilidade. Dados do *National Marrow Donor Program* sugerem que o uso da tipagem HLA de alta resolução apresenta vantagem para uma diminuição da incidência de DECH aguda, o que também vem sendo observado para o grupo pediátrico. O mesmo se evidencia para o transplante com doadores não aparentados, onde é maior a chance de *mismatches* no HLA (JACOBSON, 2008). No presente estudo, tanto os transplantes com doadores não aparentados como os que apresentaram *mismatches* no HLA estiveram associados com um maior desenvolvimento de DECH aguda em análise univariada ($p=0,037$ e $p=0,031$, respectivamente). Devido a um maior dano tecidual, regimes de condicionamento mais intensos e aqueles com altas doses de irradiação, também se mostraram mais associados à DECH aguda em diversos estudos (JACOBSON, 2008; JAGASIA *et al.*, 2012). No nosso grupo de pacientes, os que foram expostos à TBI também tiveram maior ocorrência desta complicação em análise univariada ($p=0,027$). Vários autores já relataram a idade avançada

tanto do receptor como do doador como fator de risco para a DECH aguda, no entanto, no presente estudo, somente a idade avançada do doador mostrou associação com tal desfecho ($p=0,007$ em análise univariada e $p=0,060$ na multivariada). Outros fatores também já foram descritos como associados à DECH aguda, como a incompatibilidade sanguínea, doador feminino/receptor masculino e a discordância na sorologia para o CMV, os quais não apresentaram significância estatística em nossa análise univariada, com $p=0,990$ ($n=78$), $p=0,276$ ($n=78$) e $p=0,671$ ($n=91$), respectivamente (FLOWERS, 2011; JACOBSON, 2008; KOLB, 2008). A maioria dos estudos foi realizada para a população adulta, no entanto, no grupo pediátrico, pelo menos dois destes últimos fatores de risco para a DECH aguda parecem desempenhar papel importante, os quais são: idade avançada do doador e doador feminino (JACOBSON, 2008). No nosso estudo, não foi encontrado registro do sexo do doador em 13% dos casos, o que pode ter interferido em nossos resultados.

Em relação à DECH crônica, a idade avançada do receptor e do doador apresentaram associação com maior ocorrência do desfecho em análise univariada, assim como já relatado em diferentes estudos tanto em adultos como em pediatria. Porém, outros fatores associados à DECH crônica já foram relatados em estudos prévios, como o uso de TBI no condicionamento, incompatibilidade HLA, DECH agudo anterior e a combinação doador feminino/receptor masculino, os quais não estiveram associados ao desfecho neste estudo. Tal fato talvez também possa ser explicado pelo pequeno número de pacientes analisados em nosso estudo e, um ainda menor número, que desenvolveu a DECH crônica. Outras características estiveram associadas a este desfecho no presente trabalho, como o uso de outras profilaxia para DECH exceto CSA+MTX ($p=0,001$; $n=78$) que se manteve em análise multivariada ($p=0,015$); incompatibilidade sanguínea ($p=0,045$; $n=68$) e receptor e doador com sorologia negativa para CMV ($p=0,037$; $n=78$ e $p=0,030$; $n=78$, respectivamente). Na

análise dos exames laboratoriais, a creatinina apresentou associação com o desfecho ($p=0,0063$).

Na análise univariada para o desfecho óbito, foi encontrada influência de fatores já reconhecidos, como o tipo de doador e o status da doença. Diferente de outros estudos, o uso de TBI no regime de condicionamento esteve associado a uma menor sobrevida global e também a uma maior ocorrência de óbito, destacando-se novamente, que não analisamos as leucemias agudas (LLA e LMA) em separado (MORANDO *et al.*, 2010). Novamente, o status sorológico negativo para o CMV do doador apareceu associado ao desfecho. Estudos já evidenciaram a importância do perfil sorológico do CMV do receptor e doador (receptores CMV positivos se beneficiariam de doadores também positivos) no que diz respeito à reativação e à doença por CMV, assim como fator de risco para mortalidade relacionada ao transplante (LJUNGMAN, 2008). No entanto, não foi associado como fator de risco para DECH aguda ou crônica.

Nosso estudo mostrou uma descrição e análise inicial dos transplantes alogênicos de células-tronco hematopoiéticas realizados no Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no grupo pediátrico, porém o número de pacientes acompanhado pode ter sido responsável pelas diferenças encontradas em relação aos outros estudos realizados. Por se tratar de um estudo retrospectivo, outra problemática enfrentada foi a dificuldade na busca de dados em prontuários médicos, sendo muitos deles não encontrados.

8. CONCLUSÕES

1. É essencial o conhecimento da evolução dos pacientes pediátricos submetidos ao TCTH, a fim de reconhecer as características inerentes ao procedimento, principais complicações e desfechos neste grupo específico de pacientes.

2. As incidências de DECH aguda, DECH crônica e a TRM no grupo pediátrico transplantado no HCPA foram compatíveis com dados da literatura geral.

3. A sobrevida global e a sobrevida livre de doença para as crianças transplantadas por leucemia aguda foram discretamente superiores às encontradas em outro estudo brasileiro.

4. Fatores de risco já estabelecidos para a DECH aguda também estiveram associados com o desfecho em nossa análise univariada, como a incompatibilidade HLA, o doador não aparentado, o uso de TBI no condicionamento e idade avançada do doador. No entanto, nenhum manteve significância na análise multivariada.

5. A idade avançada do receptor e do doador se mostrou como fator de risco para a DECH crônica, como já identificado em outros estudos. Nosso estudo também evidenciou como fator de risco o uso de outras profilaxias para a DECH exceto CSA e MTX (também em análise multivariada), receptor CMV negativo, doador CMV negativo, incompatibilidade sanguínea e aumento na creatinina.

6. A sobrevida global teve influência de fatores já conhecidos, como doador não aparentado e status tardio da doença de base. Além disso, o status sorológico negativo para o CMV do doador também apareceu como fator de risco, assim como o uso de TBI, a recaída da doença de base e as plaquetas abaixo de 50000 no D+7.

7. O número de pacientes acompanhados e a dificuldade de obtenção de todos os dados em prontuários médicos, tornando o número de dados analisados ainda menor, podem ter sido responsáveis pelas diferenças encontradas neste estudo.

REFERÊNCIAS

1. Amayiri N, Al-Zaben A, Ghatasheh L, Frangoul H, Hussein AA. Hematopoietic stem cell transplantation for children with primary immunodeficiency diseases: Single center experience in Jordan. *Pediatr Transplantation* 2013; 17: 394-402.
2. Atkinson K, Horowitz MM, Gale RP, van Bekkum DW, Gluckman E, Good RA, et al. Risk Factors for Chronic Graft-Versus-Host Disease After HLA-Identical Sibling Bone Marrow Transplantation. *Blood* 1990 Jun 15; 75(12): 2459-2464.
3. Azevedo W. Doença enxerto versus hospedeiro aguda A-GVHD. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2010; 32 (Supl. 1): 16-21.
4. Bacigalupo A, Oneto R, Bruno B, Soracco M, Lamparelli T, Gualandi F, et al. Early predictors of transplant-related mortality (TRM) after allogeneic bone marrow transplants (BMT): blood urea nitrogen (BUN) and bilirubin. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 653-659.
5. Bacigalupo A, Oneto R, Bruno B, Lamparelli T, Gualandi F, Bregante S, et al. Serum cholinesterase is an early and sensitive marker of graft-versus-host disease (GVHD) and transplant-related mortality (TRM). *Bone Marrow Transplant* 2001; 28: 1041-1045.

6. Baek HJ, Kook H, Han DK, Hwang TJ. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with Leukemia: A Single Institution Experience with Respect to Donors. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 1548-1555.
7. Ball LM, Egeler RM. Acute GvHD: pathogenesis and classification. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: S58-S64.
8. Ballen KK, Gluckman E, Broxmeyer HE. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. *Blood* 2013 Jul 25; 122(4): 491-498.
9. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R, et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematological cancers. *N Engl J Med* 2001 Jan 18; 344(3): 175-181.
10. Bhatia M, Walters MC. Hematopoietic cell transplantation for thalassemia and sickle cell disease: past, present and future. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 109-117.
11. Boeckh M, Nichols WG, Papanicolaou G, Rubin R, Wingard JR, Zaia J. Cytomegalovirus in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: Current Status, Known Challenges, and Future Strategies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9: 543-558.
12. Boeckh M, Ljungman P. How we treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients. *Blood* 2009 Jun 4; 113(23): 5711-5719.

13. Bouzas LFS. Transplante de medula óssea em pediatria e transplante de cordão umbilical. *Medicina, Ribeirão Preto* 2000 Jul/Set; 33: 241-263.
14. Bouzas LFS, Silva MM, Tavares RCBS, Moreira MCR, Correa MEP, Funke VAM, et al. Diretrizes para o diagnóstico, classificação, profilaxia e tratamento da doença enxerto contra hospedeiro crônica. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2010; 32(Supl. 1): 22-39.
15. Carlens S, Ringdén O, Remberger M, Lönnqvist B, Hägglund H, Klaesson S, et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: a retrospective single centre analysis. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 755-761.
16. Carpenter PA, Mac Millan ML. Management of Acute Graft Versus Host Disease in Children. *Pediatr Clin North Am.* 2010 Feb; 57(1):273-295.
17. Castro Jr CG, Gregianin LJ, Brunetto AL. Clinical and epidemiological analysis of bone marrow transplantation in a pediatric oncology unit. *J Pediatr* 2003; 79(5): 413-422.
18. Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, Chapis B, Chopra R, Cornelissen JJ, et al. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. *Blood* 2000 Jun15; 95(12): 3702-3709.

19. Copelan EA. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med* 2006 Apr 27; 354: 1813-1826.
20. Cordonnier C. Infections after HSCT. In: *The EBMT handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. 5th ed. 2008. p.198-217.
21. Devergie A. Graft versus host disease. In: *The EBMT handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. 5th ed. 2008. p.218-235.
22. Dvorak CC, Cowan MJ. Hematopoietic stem cell transplantation for primary immunodeficiency disease. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 119-126.
23. Falkenburg JHF, Warren EH. Graft versus Leukemia Reactivity after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17: S33-S38.
24. Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-Host Disease. *Lancet* 2009 May 2; 373(9674): 1550-1561.
25. Flowers MED, Inamoto Y, Carpenter PA, Lee SJ, Kiem HP, Petersdorf EW, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood* 2011 Mar 17; 117(11): 3214-3219.

26. Fry TJ, Mackall CL. Immune reconstitution following hematopoietic progenitor cell transplantation: challenges for the future. *Bone Marrow Transplant* 2005; 35: S53-S57.
27. Gassas A, Ishaqi MK, Afzal S, Finkelstein-Schechter T, Dupuis A, Doyle J. A comparison of the outcomes of children with acute myelogenous leukemia in either first or second remission (CR1 vs CR2) following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation at a single transplant center. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 941-945.
28. Gluckman E, Wagner JE. Hematopoietic stem cell transplantation in childhood inherited bone marrow failure syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 127-132.
29. Gratwohl A. Principles of conditioning. In: *The EBMT handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. 5th ed. 2008. p.128-145.
30. Gratwohl A. The EBMT risk score. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47: 749-756.
31. Gyurkocza B, Rezvani A, Storb RF. Allogeneic hematopoietic cell transplantation: the state of the art. *Expert Rev Hematol* 2010 Jun; 3(3): 285-299.
32. Hahn T, McCarthy Jr PL, Zhang M, Wang D, Arora M, Frangoul H, et al. Risk Factors for Acute Graft-Versus-Host Disease After Human Leukocyte Antigen-Identical Sibling Transplants for Adults with Leukemia. *J Clin Oncol* 2008 Dec 10; 26(35): 5728-5734.

33. Higman MA, Vogelsang GB. Chronic graft *versus* host disease. *Br J Haematol* 2004; 125: 435-454.
34. Hurley CK. HLA Diversity: Detection and Impact on Unrelated Hematopoietic Stem Cell Donor Characterization and Selection. *International Journal of Hematology* 2002; 76 Suppl 2: 152-154.
35. Jacobsohn DA. Acute graft-versus-host disease in children. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 215-221.
36. Jagasia M, Arora M, Flowers MED, Chao NJ, McCarthy PL, Cutler CS, et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2012 Jan 5; 119(1): 296-307.
37. Klein J, Sato A. The HLA System. *N Engl J Med* 2000 Sep 7; 343: 702-709.
38. Kolb HJ. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood* 2008 Dec 1; 112(12): 4371-4383.
39. Kolins JA, Zbylut C, McCollom S, Aquino VM. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children. *Crit Care Nurs Clin N Am* 2011; 23: 349-376.
40. Kondo M, Kojima S, Horibe K, Kato K, Matsuyama T. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation in children. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 727-730.

41. Körbling M, Anderlini P. Peripheral blood stem cell versus bone marrow allotransplantation: does the source of hematopoietic stem cells matter? *Blood* 2001 Nov 15; 98(10): 2900-2908.
42. Lamego RM, Clementino NCD, Costa ALB, Oliveira MJM, Bittencourt H. Transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas em leucemias agudas: a experiência de dez anos do Hospital das Clínicas da UFMG. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2010; 32(2): 108-115.
43. Lee SJ. New approaches for preventing and treating chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2005 Jun 1; 105(11): 4200-4206.
44. Ljungman P. CMV infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: S70-S72.
45. Mehta PA, Davies SM. Allogeneic transplantation for childhood ALL. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 133-139.
46. Morando J, Mauad MA, Fortier SC, Piazero FZ, Souza MP, Oliveira C, et al. Transplante de células-tronco hematopoéticas em crianças e adolescentes com leucemia aguda. Experiência de duas instituições brasileiras. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2010; 32(5): 350-357.

47. Morecki S, Gelfand Y, Nagler A, Or R, Naparstek E, Varadi G, et al. Immune reconstitution following allogeneic stem cell transplantation in recipients conditioned by low intensity vs myeloablative regimen. *Bone Marrow Transplant* 2001; 28: 243-249.
48. Ozawa S, Nakaseko C, Nishimura M, Maruta A, Cho R, Ohwada C, et al. Chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation from an unrelated donor: incidence, risk factors and association with relapse. A report from the Japan Marrow Donor Program. *Br J Haematol* 2007; 137: 142-151.
49. Paton EJA, Coutinho MA, Voltarelli JC. Diagnóstico e tratamento de complicações agudas do transplante de células progenitoras hematopoiéticas. *Medicina, Ribeirão Preto* 2000 Jul/Set; 33: 264-277.
50. Peters C, Cornish JM, Parikh SH, Kurtzberg J. Stem Cell Source and Outcome After Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) in Children and Adolescents with Acute Leukemia. *Pediatr Clin N Am* 2010; 57: 27-46.
51. Petersdorf EW. Optimal HLA matching in hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008; 20: 588-593.
52. Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea (REDOME) - INCA [Internet]. [inca.gov.br](http://www.inca.gov.br). [cited 2012 Jan. 20]; Available from: http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=677

53. Reis MAL, Visentainer JEL. Reconstituição imunológica após o transplante de medula óssea alogênico. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2004; 26(3): 212-217.
54. Remberger M, Kumlien G, Aschan J, Barkholt L, Hentschke P, Ljungman P, et al. Risk Factors for Moderate-to-Severe Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 674-682.
55. Richardson PG, Ho VT, Giralt S, Arai S, Mineishi S, Cutler C, et al. Safety and efficacy of defibrotide for the treatment of severe hepatic veno-occlusive disease. *Ther Adv Hematol* 2012; 3(4): 253-265.
56. Sanders JE. Growth and development after hematopoietic cell transplant in children. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 223-227.
57. Satwani P, Cooper N, Rao K, Veys P, Amrolia P. Reduced intensity conditioning and allogeneic stem cell transplantation in childhood malignant and nonmalignant diseases. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 173-182.
58. Seber A, Castro Jr CG, Daudt L. Transplante de Medula Óssea. In: Braga JAP, Tone LG, Loggetto SR, coordenadores. *Hematologia para o pediatra*. Editora Atheneu, 2007. p.385-400.
59. Seber A, Bonfim CMS, Daudt LE, Gouveia RV, Ginani VC, Mauad M, et al. Indicações de Transplante de Células-Tronco hematopóéticas em Pediatria: Consenso

- apresentado no I Encontro de Diretrizes Brasileiras em Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas – Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea, Rio de Janeiro, 2009. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2010; 32(3): 225-239.
60. Shenoy S, Smith FO. Hematopoietic stem cell transplantation for childhood malignancies of myeloid origin. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 141-148.
 61. Sierra J, Storer B, Hansen JA, Bjerke JW, Martin PJ, Petersdorf EW, *et al.* Transplantation of Marrow Cells From Unrelated Donors for Treatment of High-Risk Acute Leukemia: The Effect of Leukemic Burden, Donor HLA-Matching, and Marrow Cell Dose. *Blood* 1997 Jun1; 89(11): 4226-4235.
 62. Silla L, Fischer GB, Paz A, Daudt LE, Mitto I, Katz B, *et al.* Patient socioeconomic status as a prognostic factor for allo-SCT. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43: 571-577.
 63. Sormani MP, Oneto R, Bruno B, Fiorone M, Lamparelli T, Gualandi F, *et al.* A revised day +7 score for transplant-related mortality: serum cholinesterase, total protein, blood urea nitrogen, γ glutamyl transferase, donor type and cell dose. *Bone Marrow Transplant* 2003; 32: 205-211.
 64. Stone R, Potting CMJ, Clare S, Uhlenhopp M, Davies M, Mank A, *et al.* Management of oral mucositis at European transplantation centres. *European Journal of Oncology Nursing* 2007; 11: S3-S9.

65. Storek J, Dawson MA, Storer B, Stevens-Ayers T, Maloney DG, Marr KA, et al. Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood* 2001 Jun 1; 97(11): 3380-3389.
66. Thomas ED, Blume KG. Historical markers in the development of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 1999; 5: 341-346.
67. Thomas ED, Buckner CD, Clift RA, Fefer A, Johnson FL, Neiman PE, et al. Marrow Transplantation for Acute Nonlymphoblastic Leukemia in First Remission. *N Engl J Med* 1979; 301(11): 597-599.
68. Tichelli A, Rovó A, Passweg J, Schwarze CP, Lint MTV, Arat M, et al. Late complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Rev Hematol* 2009; 2(5): 583-601.
69. Tichelli A, Schwarze CP, Socié G. Long term survivorship, general health status, quality of life and late complications after HSCT. In: *The EBMT handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. 5th ed. 2008. p.236-253.
70. Tiercy JM. Immunogenetics of allogeneic HSCT. The role of HLA in HSCT. In: *The EBMT handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. 5th ed. 2008. p. 46-65.
71. Tobias E, Prix L, Jahn G, Klingebiel T, Handgretinger R, Selle B, et al. Drug-resistant human cytomegalovirus infection in children after allogeneic stem cell transplantation may have different clinical outcomes. *Blood* 2000 Nov 1; 96(9): 3286-3289.

72. Toubert A. Immune reconstitution after allogeneic HSCT. In: The EBMT handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 5th ed. 2008. p.296-307.
73. Ugarte-Torres A, Hoegh-Petersen M, Liu Y, Zhou F, Williamson TS, Quinlan D, et al. Donor Serostatus Has an Impact on Cytomegalovirus Specific Immunity, Cytomegaloviral Disease Incidence, and Survival in Seropositive Hematopoietic Cell Transplant Recipients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17: 574-585.
74. Vizoni SL, Lieber SR, de Souza CA, Sell AM, Visentainer JEL. Papel das citocinas na imunopatogênese da Doença do Enxerto contra o Hospedeiro. *Rev bras hematol hemoter* 2008; 30(2): 142-152.
75. Wagner JL, Flowers MED, Longton G, Storb R, Schubert M, Sullivan KM. The development of chronic graft-versus-host disease: an analysis of screening studies and the impact of corticosteroid use at 100 days after transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 139-146.
76. Weisdorf D. GVHD-The Nuts and Bolts. *Hematology* 2007; 62-67.
77. Wodnar-Filipowicz A. Biological properties of haematopoietic stem cells. In: The EBMT handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 5th ed. 2008. p. 34-45.

78. Zecca M, Prete A, Rondelli R, Lanino E, Balduzzi A, Messina C, et al. Chronic graft-versus-host disease in children: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Blood* 2002 Aug 15; 100(4): 1192-1200.

79. Zhou W, Longmate J, Lacey SF, Palmer JM, Gallez-Hawkins G, Thao L, et al. Impact of donor CMV status on viral infection and reconstitution of multifunction CMV-specific T cells in CMV-positive transplant recipients. *Blood* 2009 Jun 18; 113(25): 6465-6476.

ARTIGO

Transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas no grupo infanto/juvenil no Hospital de Clínicas de Porto Alegre-RS: uma análise de suas características, principais complicações e desfechos

Resumo

O Transplante de Células-tronco Hematopoiéticas (TCTH) alogênico é um procedimento com grande potencial de cura para uma variedade de doenças malignas e não malignas, tanto no grupo pediátrico como em pacientes adultos. O objetivo do trabalho é descrever o perfil dos pacientes pediátricos submetidos ao TCTH alogênico no Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), assim como verificar a incidência das principais complicações e seus possíveis fatores de risco. Foi realizado um estudo de coorte retrospectivo de 100 pacientes entre 0 e 21 anos submetidos ao TCTH alogênico no HCPA entre 1995 e 2011. A mediana de idade do receptor foi 9,5 anos, sendo 55% do sexo masculino. As principais doenças de base foram as leucemias agudas (48%), onde 60,4% eram LLA, 37,5% LMA e 2,1% leucemia secundária. 73% dos transplantes foram de doadores aparentados e a medula óssea foi a principal fonte empregada (85,4%). A incidência de DECH aguda foi de 46% e de DECH crônica de 30,8%. Vinte pacientes recaíram da doença de base e 38 evoluíram para o óbito. A SG em 10 anos foi de 57% e a SLD nas leucemias agudas foi de 45%. Em análise multivariada, o doador não aparentado, o uso de TBI e a recaída da doença de base foram fatores de risco para a SG. Para a DECH crônica, o uso de outras profilaxias para DECH exceto CSA+MTX foi fator de risco. Nosso trabalho foi importante para descrever as características, principais desfechos e fatores de risco associados do TCTH no grupo pediátrico de nossa instituição.

Descritores: Transplante de células-tronco hematopoiéticas, criança, adolescente, Brasil.

Introdução

O Transplante de Células-tronco Hematopoiéticas (TCTH) alogênico é um procedimento com grande potencial de cura para uma variedade de doenças malignas e não malignas, tanto no grupo pediátrico como em pacientes adultos.¹⁻³

No entanto, é um procedimento que apresenta uma alta morbimortalidade, com mortalidade relacionada ao transplante (TRM) no grupo pediátrico em torno de 10% a 20% nos transplantes com doadores aparentados e 20% a 40% nos transplantes não aparentados. A sobrevida global em 5 anos para as crianças submetidas ao transplante por leucemia mieloide aguda é de 70%, sendo 50% para aquelas com leucemia linfocítica aguda. Para as submetidas ao TCTH por doenças não malignas, a sobrevida global é de 85%.³ O desfecho do TCTH alogênico em crianças depende de vários fatores, como a doença de base, o status de remissão da doença, o tipo de doador, o grau de compatibilidade HLA, assim como a idade e comorbidades do receptor.

Além disso, o TCTH é passível de várias complicações tanto imediatas como tardias, tais como: infecções, toxicidade orgânica devido aos regimes de condicionamento, doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) aguda e crônica, além da possibilidade de recaída da doença de base.⁴

Poucos estudos mostram os resultados de transplantes em crianças e adolescentes e, menos ainda, em populações com menor nível socioeconômico. O presente trabalho tem como objetivo descrever o perfil dos pacientes pediátricos submetidos ao TCTH alogênico no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), assim como verificar a incidência das principais complicações e possíveis associações destas com fatores de risco já identificados previamente.

Métodos

Foi realizado um estudo de coorte retrospectivo através da coleta e análise de dados registrados em prontuário médico de pacientes entre 0 e 21 anos de idade que foram submetidos ao TCTH alogênico para doenças hematológicas no HCPA no período de 1995 a 2011.

Foram registradas características relacionadas aos receptores, doadores e ao transplante. Os desfechos analisados foram: sobrevida global, DECH aguda, DECH crônica e óbito. A tabela 1 mostra as variáveis analisadas neste estudo.

Tabela 1: Variáveis preditoras relacionadas ao receptor, doador e TCTH.

Variáveis Preditoras			
Receptor	Doador	TCTH	Exames
Idade	Idade	Tempo	Hemoglobina
		Diagnóstico/TCTH	
Sexo	Sexo	Tipo de Doador	Plaquetas
Doador F/ Receptor M	Incompatibilidade Sanguínea	Compatibilidade HLA	GGT
Incompatibilidade Sanguínea	Sorologia CMV	Fonte de Células-tronco	Bilirrubinas
Doença de Base	Discordância CMV	Condicionamento	FA
Status da Doença		TBI	Transaminases
Sorologia CMV		Profilaxia DECH	Creatinina
Discordância CMV		Pega neutrófilos	Uréia
		Pega plaquetas	Sódio
		Quantidade de células infundidas	Potássio
		DECH aguda	
		DECH crônica	

F=feminino; M=masculino; GGT=gama glutamil transferase; CMV=citomegalovírus; FA=fosfatase alcalina; TBI=irradiação corporal total

As leucemias foram classificadas de acordo com o status da doença pré transplante em: status precoce, o qual incluiu as leucemias agudas em primeira e segunda remissão e Leucemia mielóide crônica (LMC) em fase crônica e status tardio, que são as leucemias agudas em terceira ou mais remissões, LMC em crise blástica e leucemias recaídas ou refratárias. O tempo entre o diagnóstico e o TCTH foi dividido em duas categorias: menor que 12 meses e maior que 12 meses, como proposto pelo escore de risco da EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation).⁵

Foram considerados como mortalidade relacionada ao transplante (TRM) os pacientes que evoluíram a óbito por qualquer outra causa que não a recaída da doença. Os pacientes que sobreviveram mais de 100 dias após o transplante foram considerados avaliáveis para a ocorrência de DECH crônica. A sobrevida global foi calculada do dia do transplante até a data do óbito ou do último contato com o paciente e a sobrevida livre de doença foi calculada do dia do transplante até o dia da recaída, do óbito ou do último contato realizado.

Os dados coletados foram compilados em planilhas do Excel e para a sua análise estatística foi utilizado o programa STATA 11.1. As variáveis categóricas foram descritas através de frequências enquanto que as variáveis quantitativas pela mediana. Para a análise bivariada das variáveis categóricas foram utilizados o Teste do Qui Quadrado ou o Exato de Fisher, enquanto que para a comparação entre variáveis categóricas e quantitativas foi usado o Teste t de Student e para amostras sem distribuição normal o teste de Kruskal Wallis. Foi calculado um Intervalo de Confiança (IC) de 95% para a ocorrência dos desfechos, sendo um valor de p menor ou igual a 0,05 considerado como de significância estatística. Para a análise da sobrevida global (SG) e sobrevida livre de doença (SLD) foram utilizadas as curvas de Kaplan-Meier, enquanto que para a análise das diferenças de sobrevida entre os grupos, foi empregado o teste de verossimilhança de log-rank. Para a análise multivariada dos desfechos DECH aguda e DECH crônica foi usada a regressão de Poisson, enquanto que para a

sobrevida global foi utilizado o modelo de regressão de Cox. Foi realizada a regressão do tipo *stepwise backward*, tendo sido incluídas na análise as variáveis que apresentaram $p \leq 0,2$.

Resultados

Análise descritiva

No período de julho de 1995 a janeiro de 2011 foram transplantados 100 pacientes com idades entre 0 e 21 anos no Serviço de Hematologia Clínica e Transplante de Medula Óssea do HCPA. A tabela 2 resume as características dos receptores e doadores de células-tronco hematopoiéticas incluídos no estudo. A mediana de idade do receptor foi de 9,5 anos, sendo 55% do sexo masculino, dos quais 24% receberam o enxerto de doadores femininos. A sorologia para o CMV era positiva em 81% dos pacientes, sendo que 42% dos casos apresentava discordância desta sorologia em relação ao seu doador (Tabela 2).

A principal doença de base neste grupo foram as leucemias agudas, presentes em 48% dos pacientes, sendo 60,4% delas do tipo Leucemia Linfocítica Aguda (LLA), 37,5% Leucemia Mielocítica Aguda (LMA) e 2,1% Leucemia Aguda Secundária. Após as leucemias agudas, a Aplasia de Medula Óssea foi o diagnóstico predominante, contribuindo com 25% dos pacientes transplantados. O restante dos pacientes apresentava uma das seguintes doenças: Leucemia Mielóide Crônica (LMC), Síndrome Mielodisplásica, Linfoma de Hodgking, hemoglobinopatias, imunodeficiências ou aplasias congênitas.

O doador foi, em 73% dos casos, um doador aparentado. A medula óssea foi a principal fonte de células-tronco hematopoiéticas, tendo sido empregada para 85,4% dos pacientes transplantados, enquanto que em 8,3% foi usado cordão umbilical e em 6,3% o sangue periférico. Em 36% dos transplantes, o esquema bussulfam e ciclofosfamida (BUCY) foi utilizado como regime de condicionamento, tendo sido empregada a TBI em 26,7% dos pacientes. Como profilaxia para a DECH, 56% dos casos receberam ciclosporina (CSA) em

conjunto com o metotrexate (MTX). A mediana da pega dos neutrófilos e das plaquetas foi de 20 e 19 dias, respectivamente (Tabela 3).

Um total de 42 pacientes apresentou DECH aguda, com uma incidência de 46%, enquanto que 25 tiveram DECH crônica (30,8%). Vinte pacientes (21%) recaíram da doença de base após o transplante, sendo a mediana de tempo do transplante até a recaída de 158 dias. Trinta e oito pacientes evoluíram com óbito, sendo que destes, 24 (63%) foram ao óbito por complicações relacionadas ao transplante. A mediana de tempo do transplante até o óbito foi de 3 meses (Tabela 3). A tabela 4 descreve as características dos pacientes transplantados com leucemia aguda.

Tabela 2: Características dos pacientes e seus doadores (n=100).

CARACTERÍSTICAS	MEDIANA (intervalo)
	N (%)
Receptor	
Idade (anos)	9,5 (0,5 - 21)
Sexo masculino	55 (55%)
Sexo feminino	45 (45%)
CMV +	81 (81%)
CMV -	19 (19%)
Doador	
Idade (anos)	14 (1 – 45)
Sexo masculino	44 (44%)
Sexo feminino	43 (43%)
Sexo desconhecido	13 (13%)
Doador F/Receptor M	21 (24%)
CMV +	57 (57%)
CMV -	43 (43%)
CMV discordante	42 (42%)

Tabela 3: Características do TCTH e suas complicações.

CARACTERÍSTICAS (“n” disponível)	MEDIANA (intervalo) N (%)
Tipo de doador (n= 100)	
Aparentado	73 (73%)
Não aparentado	27 (27%)
Fonte celular (n= 96)	
Medula óssea	82 (85,4%)
Sangue de cordão	8 (8,3%)
Sangue periférico	6 (6,3%)
Condicionamento (n= 100)	
BUCY	36 (36%)
Outros	64 (64%)
TBI (n= 90)	24 (26,7%)
Profilaxia DECH (n= 100)	
CSA + MTX	56 (56%)
Outras	44 (44%)
HLA (n=97)	
Compatível	94 (96,9%)
<i>Mismatch</i>	3 (3,1%)
DECH Aguda (n= 91)	42 (46,2%)
DECH Crônica (n= 81)	25 (30,8%)
Recaída (n= 96)	20 (20,8%)
Óbito (n= 99)	38 (38,4%)
TRM (n=99)	24 (24,2%)
Tempo diagnóstico/TCTH (meses)	21 (1,2 – 213)
Tempo TCTH/óbito (meses)	3 (0,2 – 69)
Tempo TCTH/recaída (meses)	5,3 (1,3 – 48,5)
Pega neutrófilos (dias)	20 (13 – 45)
Pega plaquetas (dias)	19 (4 – 316)

Tabela 4: Características do TCTH e suas complicações nos pacientes transplantados com leucemia aguda (N=48).

CARACTERÍSTICAS (“n” disponível)	MEDIANA (intervalo) N (%)
Tipo de doador (n=44)	
Aparentado	27 (61,4%)
Não aparentado	15 (34,1%)
Gêmeo monozigótico	2 (4,5%)
Fonte celular (n=45)	
Medula óssea	38 (84,4%)
Sangue de cordão	5 (11,1%)
Sangue periférico	2 (4,5%)
Estágio da doença (n=46)	
1RC	15 (32,6%)
2RC	22 (47,8%)
≥ 3RC, doença refratária ou recaída	9 (19,6%)
Condicionamento (n=43)	
BUCY	16 (37,2%)
Outros	27 (62,8%)
TBI (n=45)	22 (49,9%)
Profilaxia DECH (n=43)	
CSA + MTX	26 (60,5%)
Outras	17 (39,5%)
DECHc (n=39)	12 (30,7%)
DECHa (n=43)	22 (51,2%)
Recaída (n=48)	15 (31,2%)
Óbito (n=48)	22 (45,8%)
Tempo diagnóstico/TCTH (meses)	25 (4 - 72)
Tempo TCTH/óbito (meses)	4,5 (0,6 – 69)
Tempo TCTH/recaída (meses)	4 (1,3 – 47,6)
Pega neutrófilos (dias)	20 (13 – 45)
Pega plaquetas (dias)	18 (7 – 105)

Análise das variáveis e desfechos

Na tabela 5 estão listadas as variáveis que apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação à ocorrência dos diferentes desfechos. Em relação ao desfecho DECH aguda, pode-se observar que os pacientes que receberam células-tronco de doadores não aparentados tiveram maior ocorrência do desfecho quando comparados com os de doadores aparentados ($p=0,037$). A ocorrência de DECH aguda também se mostrou aumentada com o uso de TBI nos regimes de condicionamento ($p=0,027$) e na presença de *mismatches* do HLA ($p=0,031$). Receptores de doadores com idade maior que 20 anos também apresentaram associação com uma maior chance de DECH aguda ($p=0,007$). Quanto aos exames laboratoriais no D+7, a uréia ($p=0,053$), a TGO ($p=0,035$) e a fosfatase alcalina ($p=0,005$) se mostraram associadas à ocorrência de DECH aguda.

Quanto ao desfecho DECH crônica, ocorreu uma tendência de receptores mais jovens apresentarem menos DECH crônica, assim como receptores de doadores com menores idades ($p=0,048$ e $p=0,023$, respectivamente). O uso de ciclosporina e metotrexate como profilaxia para a DECH teve associação com uma menor ocorrência de DECH crônica ($p=0,001$), assim como a ausência de incompatibilidade sanguínea entre o receptor e o doador ($p=0,045$). O status sorológico positivo para o CMV do receptor também mostrou associação com uma menor ocorrência deste desfecho ($p=0,037$), o que também ocorreu para receptores de doadores com sorologia positiva para o CMV ($p=0,030$). A análise da discordância do status sorológico entre receptor e doador para o CMV mostrou que o grupo com ausência de discordância teve uma menor chance de desenvolver DECH crônica, porém sem significância estatística ($p=0,065$). A quantidade de células CD34 infundidas não apresentou relação com a ocorrência de DECH aguda ou crônica ($p=0,632$ e $p=0,348$, respectivamente). Na análise dos exames laboratoriais, a média da creatinina se mostrou mais elevada no grupo que apresentou DECH crônica ($p=0,0063$).

Quando analisado o óbito como desfecho, o status tardio da doença de base teve relação com uma maior mortalidade ($p=0,012$). Pacientes transplantados de doadores não aparentados e de doadores com sorologia negativa para o CMV também tiveram maior ocorrência de óbito ($p=0,00$ e $p=0,022$, respectivamente). O uso de TBI no esquema de condicionamento mostrou associação com óbito, assim como a não ocorrência de “pega” do enxerto ($p=0,018$ e $p=0,001$, respectivamente). Os pacientes que apresentaram recaída da doença após o TCTH tiveram maior mortalidade com um nível de significância $p=0,00$ (75% de óbito nos que recaíram contra 25,3% no grupo sem recaída). O valor das plaquetas <50000 como média entre os dias 6 a 8 após o TCTH teve associação com uma maior taxa de óbito, porém com $p=0,068$. Não foi encontrada diferença significativa na mortalidade dos receptores portadores de leucemias quando comparados com os portadores de outras doenças de base ($p=0,139$). A TGP também se mostrou associada à ocorrência de óbito ($p=0,0043$).

Tabela 5: Variáveis com significância estatística para os desfechos.

Desfechos		
DECH aguda	DECH crônica	Óbito
Tipo de doador	Profilaxia para DECH	Status da doença
TBI	Incompatibilidade sanguínea	Tipo de doador
“Mismatch” no HLA	CMV do receptor e doador	CMV doador
Idade doador	Idade receptor e doador	TBI
Uréia	Creatinina	Ausência de “pega” do enxerto
TGO		Recaída
Fosfatase alcalina		TGP

Sobrevida global em 10 anos e sobrevida livre de doença

A sobrevida global (SG) estimada em 10 anos dos pacientes submetidos ao TCTH foi de 57% (Figura 1). Os pacientes que receberam TBI no regime de condicionamento apresentaram uma menor SG ($p=0,015$), o que também ocorreu para os pacientes que

recaíram da doença de base ($p=0,0002$) e com os que receberam células-tronco de doadores com sorologia negativa para o CMV ou de doadores não aparentados ($p=0,0154$ e $p=0,0001$, respectivamente). Os pacientes transplantados com doença em estágio avançado também apresentaram menor SG ($p=0,0278$), assim como os que apresentavam plaquetas <50000 na média dos dias 6 a 8 após o TCTH, porém este com um nível de significância $p=0,0635$. A SG em 10 anos das variáveis que apresentaram significância estatística pode ser observada na tabela 6. A sobrevida livre de doença (SLD) em 10 anos para os pacientes transplantados por leucemia aguda foi de 45% (Figura 2).

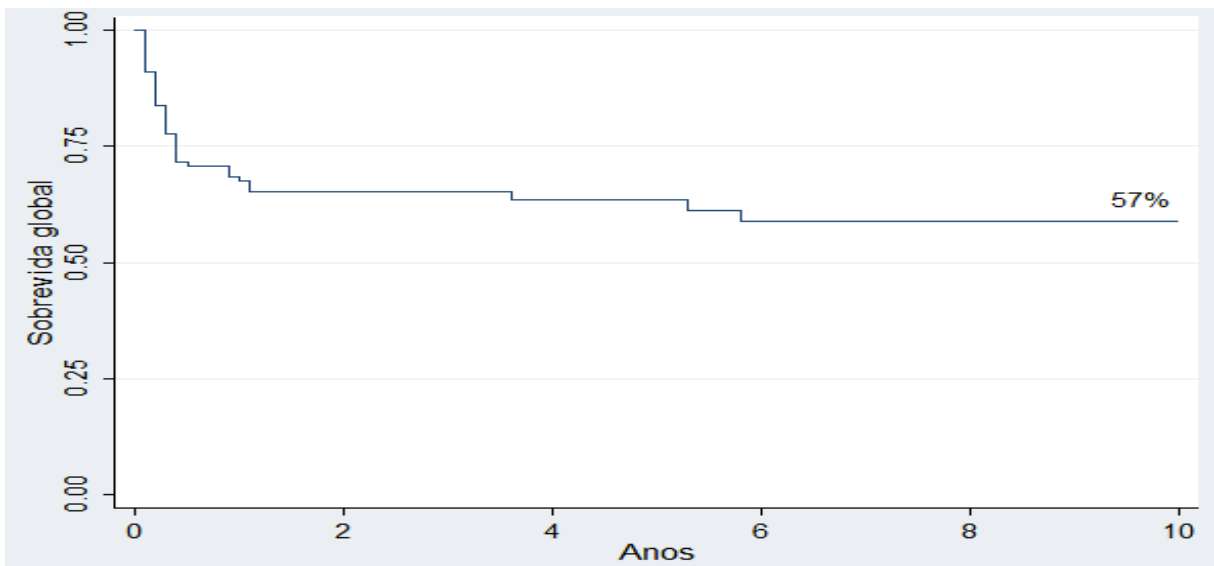


Figura 1: Sobrevida global em 10 anos dos pacientes submetidos ao TCTH.

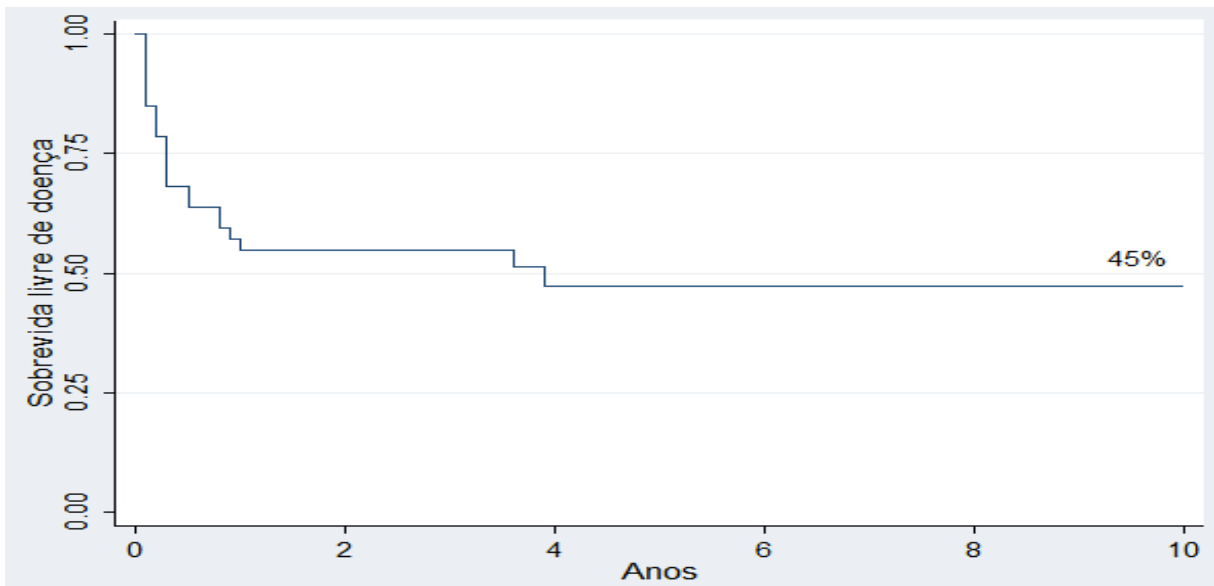


Figura 2: Sobrevida livre de doença em 10 anos dos pacientes com leucemia aguda submetidos ao TCTH.

Tabela 6: Variáveis com significância estatística em análise univariada em relação à SG em 10 anos.

Variável	SG em 10 anos (%)	Valor de p
TBI		0,015
Sim	34	
Não	66	
Recaída		0,0002
Sim	20	
Não	73	
Doador CMV		0,0154
Negativo	36	
Positivo	70	
Tipo de doador		0,0001
Aparentado	68	
Não aparentado	31	
Status da doença		0,0278
Precoce	59	
Tardio	21	

Análise multivariada

Quando realizada a análise multivariada para a DECH aguda, nenhuma das variáveis apresentou significância estatística, sendo que a idade avançada do doador apresentou um $p=0,060$. Em relação à DECH crônica, a profilaxia para a DECH com ciclosporina e metotrexate se mostrou como um fator protetor, com $p=0,015$. Na análise da sobrevida global, tanto o doador não aparentado, como o uso de TBI e a recaída da doença de base se mantiveram como variáveis de risco com $p=0,002$, $p=0,020$ e $p=0,034$, respectivamente.

Discussão

O TCTH alogênico é um tratamento já bem estabelecido para uma ampla variedade de doenças hematológicas, oncológicas e imunológicas, sendo, no entanto, um procedimento ainda com alta morbimortalidade e sujeito a várias complicações. Apesar de sua importância, poucos estudos foram realizados nos pacientes pediátricos submetidos ao TCTH.^{1-3,6} Com isso, o presente trabalho teve por objetivo descrever as principais características do TCTH no grupo pediátrico nesta instituição.

De forma geral, nossa população em estudo não diferiu quanto à distribuição etária e de sexo de outros estudos em crianças. Porém, no nosso estudo, um menor número de crianças com leucemia foi transplantada com doença em estágio avançado quando comparado com um estudo realizado em duas outras instituições brasileiras (19,6% e 38%, respectivamente), o que se torna importante tendo em vista os piores resultados obtidos nos pacientes em estágio tardio da doença.⁶ Outro estudo brasileiro também apresentou um maior número de transplantes em pacientes com doença em estágio tardio (56%), porém este realizado na faixa etária adulta.⁷

Em torno de 49% dos pacientes com leucemia aguda tiveram a TBI como parte do seu regime de condicionamento e, em 37,2%, foi empregado o bussulfan juntamente com a ciclofosfamida, os quais são os condicionamentos de escolha neste grupo de pacientes.^{8,9} Mehta *et al.* em um artigo de revisão que visava o uso apropriado do TCTH para o tratamento de crianças com LLA, mostraram uma SLD em 3 anos significativamente maior no grupo que recebeu CY+TBI no condicionamento quando comparado ao grupo que recebeu BU+CY em pacientes que realizaram transplante HLA idêntico aparentado. O grupo que recebeu BU+CY também apresentou uma maior TRM nesta revisão.⁸ No nosso estudo, não foi encontrada diferença significativa na sobrevida global quando comparado o grupo de pacientes que recebeu BU+CY com o grupo que recebeu outros regimes de condicionamento e, quando

analisado o uso ou não de TBI, o grupo que apresentou TBI no esquema de condicionamento teve uma menor SG. No entanto, foram analisadas as leucemias agudas em geral, sem diferenciação entre LLA e LMA, o que pode confundir os resultados.

A maioria dos transplantes realizados em nosso centro foram de doadores aparentados (73% no total de pacientes e 61,4% dos pacientes com leucemia aguda), tendo o programa com doadores não aparentados iniciado somente em 2005. A medula óssea foi a fonte celular mais empregada, sendo que somente 4,5% dos pacientes com leucemia aguda e 6,3% do total de pacientes receberam células-tronco de coleta periférica e 11,1%/8,3%, respectivamente, de cordão umbilical. Apesar de poucos dados sobre a segurança nos doadores pediátricos, o uso da coleta periférica é realizada em cerca de 23% dos transplantes com doadores aparentados e seus resultados mostraram uma maior incidência de DECH crônica neste grupo de pacientes, a qual foi aproximadamente o dobro da esperada para a coleta a partir da medula óssea. Um único estudo multicêntrico realizado mostrou uma maior mortalidade no grupo transplantado com células-tronco a partir de coleta periférica. Como não existe evidência de superioridade dos resultados obtidos com a coleta periférica quando comparada com a medula óssea, seu uso deve ser reservado a situações especiais nos pacientes pediátricos.¹⁰ O transplante de células-tronco oriundas do cordão umbilical foi um grande avanço no tratamento de crianças com leucemia aguda nos últimos 25 anos, com vantagens no que diz respeito a sua rápida disponibilidade, suportar uma maior incompatibilidade HLA e apresentar uma menor taxa de DECH.^{8,11,12} Estudos mostraram resultados comparáveis com os de transplantes não aparentados, com a ressalva de maior incidência de falha na enxertia dos transplantes de cordão umbilical.¹⁰

A incidência de DECH aguda (46,2%) foi compatível com dados da literatura, assim como a TRM (24,2%).^{6,7,13-16} Estudos em pacientes pediátricos mostraram uma incidência de DECH aguda variando entre 8% e 85%, a depender do tipo de doador e fonte de células-

tronco empregadas, assim como do grau da DECH aguda desenvolvida.¹⁷ No entanto, a incidência de DECH crônica encontrada no nosso estudo (30,8%) foi um pouco superior à encontrada em estudos com crianças (22% a 29%), o que talvez seja explicado pela mediana maior de idade dos nossos pacientes (9,5 anos) quando comparada com outros dois destes estudos (7 anos), tendo em vista que pacientes mais velhos parecem ter maior risco de desenvolver tal complicação.^{18,19} A TRM no grupo transplantado com leucemia aguda (20,8%) também foi próxima a relatada por outros estudos no grupo pediátrico, sendo que Morando *et al.* mostraram uma TRM de 20% para o grupo com LLA e de 11% quando a doença de base era a LMA.^{3,6} A taxa de recaída encontrada foi de 31,2%, a qual também é compatível com os dados da literatura, os quais variam em torno de 20% a 40% dependendo do tipo de leucemia.^{6,9}

A SG em 10 anos no presente estudo foi de 57%, sendo de 47% quando a doença de base era leucemia aguda e 65% para outras doenças hematológicas. A SLD em 10 anos foi de 45% para o grupo das leucemias agudas. Tais dados são discretamente superiores aqueles relatados em outro estudo brasileiro, o qual mostrou uma sobrevida global em 3 anos para crianças transplantadas com LLA de 43% e com LMA de 44%, enquanto que a sobrevida livre de doença no mesmo período foi de 38% e 40%, respectivamente.⁶ Isso pode ser explicado pelo fato de um número maior de crianças terem sido transplantadas em estágio avançado da doença nestes centros.

O estágio tardio da doença de base já foi bem definido como um fator de risco para a DECH aguda, no entanto, tal fato não foi encontrado no nosso grupo de pacientes, talvez pelo número pequeno de pacientes analisados e, ainda menor, de pacientes que desenvolveram o desfecho.^{17,20,21} O principal fator de risco já estabelecido para o desenvolvimento de DECH aguda é a incompatibilidade HLA, onde os pacientes transplantados de doadores aparentados com 100% de compatibilidade possuem menor taxa de DECH aguda quando comparados com

aqueles que receberam enxertos com algum grau de incompatibilidade. Dados do *National Marrow Donor Program* sugerem que o uso da tipagem HLA de alta resolução apresenta vantagem para uma diminuição da incidência de DECH aguda, o que também vem sendo observado para o grupo pediátrico. O mesmo se evidencia para o transplante com doadores não aparentados, onde é maior a chance de *mismatches* no HLA.¹⁷ No presente estudo, tanto os transplantes com doadores não aparentados como os que apresentaram *mismatches* no HLA estiveram associados com um maior desenvolvimento de DECH aguda em análise univariada ($p=0,037$ e $p=0,031$, respectivamente). Devido a um maior dano tecidual, regimes de condicionamento mais intensos e aqueles com altas doses de irradiação, também se mostraram mais associados à DECH aguda em diversos estudos.^{17,22} No nosso grupo de pacientes, os que foram expostos à TBI também tiveram maior ocorrência desta complicação em análise univariada ($p=0,027$). Vários autores já relataram a idade avançada tanto do receptor como do doador como fator de risco para a DECH aguda, no entanto, no presente estudo, somente a idade avançada do doador mostrou associação com tal desfecho ($p=0,007$ em análise univariada e $p=0,060$ na multivariada). Outros fatores também já foram descritos como associados à DECH aguda, como a incompatibilidade sanguínea, doador feminino/receptor masculino e a discordância na sorologia para o CMV, os quais não apresentaram significância estatística em nossa análise univariada, com $p=0,990$, $p=0,276$ e $p=0,671$, respectivamente.^{17,20,21} A maioria dos estudos foi realizada para a população adulta, no entanto, no grupo pediátrico, pelo menos dois destes últimos fatores de risco para a DECH aguda parecem desempenhar papel importante, os quais são: idade avançada do doador e doador feminino.¹⁷

Em relação à DECH crônica, a idade avançada do receptor e do doador apresentaram associação com maior ocorrência do desfecho em análise univariada, assim como já relatado em diferentes estudos tanto em adultos como em pediatria. Porém, outros fatores associados à

DECH crônica já foram relatados em estudos prévios, como o uso de TBI no condicionamento, incompatibilidade HLA, DECH agudo anterior e a combinação doador feminino/receptor masculino, os quais não estiveram associados ao desfecho neste estudo.^{23,24} Tal fato talvez também possa ser explicado pelo pequeno número de pacientes analisados em nosso estudo e, um ainda menor número, que desenvolveu a DECH crônica. Outras características estiveram associadas a este desfecho no presente trabalho, como o uso de outras profilaxia para DECH exceto CSA+MTX ($p=0,001$) que se manteve em análise multivariada ($p=0,015$); incompatibilidade sanguínea ($p=0,045$) e receptor e doador com sorologia negativa para CMV ($p=0,037$ e $p=0,030$, respectivamente). Na análise dos exames laboratoriais, a creatinina apresentou associação com o desfecho ($p=0,0063$).

Na análise univariada para o desfecho óbito, foi encontrada influência de fatores já reconhecidos, como o tipo de doador e o status da doença. Diferente de outros estudos, o uso de TBI no regime de condicionamento esteve associado a uma menor SG e também a uma maior ocorrência de óbito, destacando-se novamente, que não analisamos as leucemias agudas (LLA e LMA) em separado.⁶ Novamente, o status sorológico negativo para o CMV do doador apareceu associado ao desfecho. Estudos já evidenciaram a importância do perfil sorológico do CMV do receptor e doador (receptores CMV positivos se beneficiariam de doadores também positivos) no que diz respeito à reativação e à doença por CMV, assim como fator de risco para mortalidade relacionada ao transplante.²⁵ No entanto, não foi associado como fator de risco para DECH aguda ou crônica.

Nosso estudo mostrou uma descrição e análise inicial dos TCTH alogênicos realizados no HCPA no grupo pediátrico, porém o número de pacientes acompanhados pode ter sido responsável pelas diferenças encontradas em relação aos outros estudos realizados. Por se tratar de um estudo retrospectivo, outra problemática enfrentada foi a dificuldade na busca de dados em prontuários médicos, sendo muitos deles não encontrados.

Referências

1. Bouzas LFS. Transplante de medula óssea em pediatria e transplante de cordão umbilical. *Medicina*, Ribeirão Preto 2000 Jul/Set; 33: 241-263.
2. Gyurkocza B, Rezvani A, Storb RF. Allogeneic hematopoietic cell transplantation: the state of the art. *Expert Rev Hematol* 2010 Jun; 3(3): 285-299.
3. Kolins JA, Zbylut C, McCollom S, Aquino VM. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children. *Crit Care Nurs Clin N Am* 2011; 23: 349-376.
4. Weisdorf D. GVHD-The Nuts and Bolts. *Hematology* 2007; 62-67.
5. Gratwohl A. The EBMT risk score. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47: 749-756.
6. Morando J, Mauad MA, Fortier SC, Piazero FZ, Souza MP, Oliveira C, et al. Transplante de células-tronco hematopoéticas em crianças e adolescentes com leucemia aguda. Experiência de duas instituições brasileiras. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2010; 32(5): 350-357.
7. Lamego RM, Clementino NCD, Costa ALB, Oliveira MJM, Bittencourt H. Transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas em leucemias agudas: a experiência de dez anos do Hospital das Clínicas da UFMG. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2010; 32(2): 108-115.
8. Mehta PA, Davies SM. Allogeneic transplantation for childhood ALL. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 133-139.
9. Gassas A, Ishaqi MK, Afzal S, Finkelstein-Schechter T, Dupuis A, Doyle J. A comparison of the outcomes of children with acute myelogenous leukemia in either first or second remission (CR1 vs CR2) following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation at a single transplant center. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 941-945.

10. Peters C, Cornish JM, Parikh SH, Kurtzberg J. Stem Cell Source and Outcome After Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) in Children and Adolescents with Acute Leukemia. *Pediatr Clin N Am* 2010; 57: 27-46.
11. Copelan EA. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med* 2006 Apr 27; 354: 1813-1826.
12. Ballen KK, Gluckman E, Broxmeyer HE. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. *Blood* 2013 Jul 25; 122(4): 491-498.
13. Ball LM, Egeler RM. Acute GvHD: pathogenesis and classification. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: S58-S64.
14. Higman MA, Vogelsang GB. Chronic graft *versus* host disease. *Br J Haematol* 2004; 125: 435-454.
15. Lee SJ. New approaches for preventing and treating chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2005 Jun 1; 105(11): 4200-4206.
16. Vizoni SL, Lieber SR, de Souza CA, Sell AM, Visentainer JEL. Papel das citocinas na imunopatogênese da Doença do Enxerto contra o Hospedeiro. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2008; 30(2): 142-152.
17. Jacobsohn DA. Acute graft-versus-host disease in children. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 215-221.
18. Kondo M, Kojima S, Horibe K, Kato K, Matsuyama T. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation in children. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 727-730.
19. Zecca M, Prete A, Rondelli R, Lanino E, Balduzzi A, Messina C, et al. Chronic graft-versus-host disease in children: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Blood* 2002 Aug 15; 100(4): 1192-1200.

20. Flowers MED, Inamoto Y, Carpenter PA, Lee SJ, Kiem HP, Petersdorf EW, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood* 2011 Mar 17; 117(11): 3214-3219.
21. Kolb HJ. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood* 2008 Dec 1; 112(12): 4371-4383.
22. Jagasia M, Arora M, Flowers MED, Chao NJ, McCarthy PL, Cutler CS, et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2012 Jan 5; 119(1): 296-307.
23. Atkinson K, Horowitz MM, Gale RP, van Bekkum DW, Gluckman E, Good RA, et al. Risk Factors for Chronic Graft-Versus-Host Disease After HLA-Identical Sibling Bone Marrow Transplantation. *Blood* 1990 Jun 15; 75(12): 2459-2464.
24. Remberger M, Kumlien G, Aschan J, Barkholt L, Hentschke P, Ljungman P, et al. Risk Factors for Moderate-to-Severe Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 674-682.
25. Ljungman P. CMV infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: S70-S72.