



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL**

**ANA SOFIA FIGUEIREDO PEREIRA**

***TRANSPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES  
HEMATOPOIÉTICOS EM HEMATO-ONCOLOGIA***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA ANA BELA SARMENTO RIBEIRO

PROFESSORA DOUTORA CATARINA GERALDES

FEVEREIRO/2017

**Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra**

**Transplante Alogénico de Progenitores  
Hematopoiéticos em Hemato-Oncologia**

ARTIGO DE REVISÃO

---

**Ana Sofia Figueiredo Pereira\***

\*Endereço eletrónico da autora: [sfigpereira@gmail.com](mailto:sfigpereira@gmail.com)

## ÍNDICE

Resumo.....	8
Abstract .....	9
Introdução .....	10
1. Células estaminais .....	12
2. Sistema HLA.....	14
3. Antígenos Minor de Histocompatibilidade (AMH) .....	15
4. Aloreatividade .....	16
5. Efeito Enxerto versus Tumor (EvT) .....	18
6. Quimerismo .....	20
7. Tolerância .....	21
8. Indicações clínicas para alotransplante.....	22
9. Regimes de Condicionamento.....	25
10. Fontes de células estaminais para alotransplante .....	27
10.1 Medula Óssea (MO).....	28
10.2 Sangue Periférico (SP) .....	29
10.3 Cordão Umbilical (CU) .....	32

11. Correspondência HLA entre dador e recetor .....	34
11.1 Testes serológicos .....	35
11.2 Testes moleculares.....	36
12. Tipos de dadores .....	40
12.1 Dador não aparentado .....	42
12.2 Dador Haploidêntico .....	44
13. Complicações pós-transplante alogénico.....	47
13.1 Complicações precoces .....	47
13.2. Complicações infecciosas.....	48
13.3. Doença Enxerto contra Hospedeiro (DEcH) .....	51
13.3.1 DEcH hiperaguda .....	52
13.3.2 DEcH aguda.....	53
13.3.3. DEcH crónica.....	55
13.4. Complicações tardias.....	60
14. Aplicação de células mesenquimatosas no Transplante Alogénico de Progenitores	
Hematopoiéticos .....	62
Conclusão .....	66
Agradecimentos .....	67
Referências .....	68

## **Índice de Figuras**

Figura 1: Processo de diferenciação das células sanguíneas (hematopoiese)

Figura 2: Estrutura genómica do complexo major de histocompatibilidade humano

Figura 3: Fisiopatologia da DEcH: A - Interação da célula T dadora com uma célula apresentadora de antigénios do hospedeiro (monócito/célula dendrítica); B - Estimulação das células T CD8+ citotóxicas pelas APC ativadas

Figura 4: Reação Enxerto versus Tumor (EvT)

Figura 5: Transplante com regime de condicionamento de baixa intensidade e subsequente quimerismo

Figura 6: Proporções relativas de indicações para Alo-SCT na Europa em 2014

Figura 7: Números Absolutos de Transplantes Alogénicos de Progenitores Hematopoiéticos na Europa entre 1990 e 2014 com diferentes tipos de dadores

Figura 8: Exantema morbiliforme da DEcH aguda

Figura 9: Manifestações clínicas cutâneo-mucosas de DEcH crónica

Figura 10: DEcH crónica com acantose e infiltrado em banda na derme papilar (100x)

Figura 11: Aplicações terapêuticas possível das MSCs na alotransplantação, baseadas nas suas propriedades imunomoduladoras e de regeneração de tecidos

## **Índice de Tabelas**

Tabela 1: Indicações clínicas para Alo-SCT

Tabela 2: Principais diferenças entre fontes de células estaminais hematopoiéticas

Tabela 3: Efeitos clínicos de *mismatches* únicos

Tabela 4: Complicações infecciosas após alotransplante

**Índice de Abreviaturas**

AF: Anemia Falciforme

Alo-SCT: *Allogeneic Stem Cell Transplantation*

AMH: Antígenos minor de histocompatibilidade

APCs: *antigen presenting cells*

ATG: *anti-thymocyte globulin*

CFC: Células formadoras de colônias

CIBMTR: *Center for International Blood and Marrow Transplant Research*

CMV: Citomegalovírus

CVC: Cateter Venoso Central

CU: Cordão Umbilical

CXCR4: *CXC chemokine receptor 4*

DEcH: Doença Enxerto contra Hospedeiro

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNA: *Deoxyribonucleic acid*

DSAs: *Donor-specific antibodies*

EBMT: *European Society for Blood and Marrow Transplantation*

EUA: Estados Unidos da América

EvT: Enxerto versus Tumor

FMO: Falência da Medula Óssea

G-CSF: *granulocyte colony stimulating factor*

HGF: *hepatocyte growth factor*

HLA: *human leukocyte antigen*

HSV: *Herpes Simplex Virus*

IL: Interleucina

ISCT: *International Society for Cellular Therapy*

KIR: *killer immunoglobulin-like receptor*

LH: Linfoma de Hodgkin

LLA: Leucemia Linfoblástica Aguda

LLC: Leucemia Linfocítica Crónica

LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda

LMC: Leucemia Mielóide Crónica

LNH: Linfoma Não Hodgkin

MHC: *Major Histocompatibility Complex*

MO: Medula Óssea

MSCs: *Mesenchymal Stem Cells*

NIMA: *Non-Inherited Maternal Antigens*

NK: *Natural killer*

NMDP: *National Marrow Donor Program*

NMP: Neoplasias Mieloproliferativas

NO: *Nitric Oxide*

NRM: *Non Relapse Mortality*

PCR: *Polymerase Chain Reaction*

QT: Quimioterapia

SBT: *Sequence Based Typing*

SDF-1: *Stromal cell-derived factor 1*

SMDs: Síndromes Mielodisplásicos

SNP: *Single Nucleotide Polimorphisms*

SP: Sangue periférico

SSOP: *Sequence Specific Oligonucleotide Probes*

SSP: *Sequence Specific Priming*

Tal: Talassémia

TBI: *Total Body Irradiation*

TGF- $\beta$ : *Transforming Growth Factor  $\beta$*

TNF: *Tumor Necrosis Factor*

VZV: *Varicella Zoster Virus*



## Resumo

O Transplante Alogénico de Progenitores Hematopoiéticos (Alo-SCT) é uma opção terapêutica cada vez mais utilizada no tratamento de várias patologias, principalmente neoplasias malignas do foro hematológico. O potencial curativo do Alo-SCT baseia-se na eliminação da doença neoplásica residual (resistente a protocolos de quimio e/ou radioterapia previamente administrados) e na substituição parcial ou completa do sistema imunitário do doente pelo do dador.

Os resultados de um Alo-SCT dependem de diversas variáveis, entre as quais se destacam o tipo e estado da doença subjacente, a idade e comorbilidades do doente, a fonte de células progenitoras, o tipo de dador selecionado, o regime de condicionamento aplicado e os cuidados pós-transplante.

Tratando-se de um procedimento com morbimortalidade significativa, é fundamental o máximo controlo dos riscos a ele associados. A investigação científica dos diversos fatores que influenciam o sucesso de um Alo-SCT tem vindo a permitir, ao longo dos anos, que este seja oferecido a um maior número de doentes, com taxas de eficácia e segurança crescentes. Assim, é pertinente elaborar uma sistematização da informação mais atual relativa a esta abordagem terapêutica, com o objetivo final de proporcionar aos doentes o melhor acompanhamento possível.

Com o intuito de consolidar estes conhecimentos, escrevi esta revisão, que constitui um auxiliar à prática clínica, com base em diversas fontes literárias fiáveis sobre o Transplante Alogénico de Progenitores Hematopoiéticos.

**Palavras chave:** transplante alogénico; doença do enxerto contra hospedeiro; efeito enxerto versus tumor; progenitores hematopoiéticos; sistema HLA; hemato-oncologia

## **Abstract**

The allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation (Allo-SCT) is a therapeutic option increasingly being used for the treatment of several diseases, mainly malignant neoplasms of hematologic origin. The curative potential of the allogeneic transplant is based on the elimination of the residual neoplastic disease (which had been resistant to previously administered chemo and/or radiotherapy protocols) and on the partial or total replacement of the patient's immunitary system by the donor's.

The outcome of an Allo-SCT depends on several variables, most importantly the type and state of the underlying disease, patient's age and comorbidities, source of stem cells, type of selected donor, the preparative regimen used and the post-transplant care, among others.

Being a procedure with significant morbidity and mortality, the maximum control of the associated risks is fundamental. Scientific research on the various factors which influence the outcome of an Allo-SCT has allowed, throughout the years, to offer this treatment to more patients with increasing rates of efficacy and security. Therefore, it is pertinent to elaborate a systematization of the most recent information about this therapeutic approach, with the final purpose of giving patients the best clinical accompaniment possible.

In order to gather this knowledge, I wrote this review as an helper to clinical practice, based on many reliable literary sources on allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation.

**Keywords:** allogeneic transplantation; graft versus host disease; graft versus leukemia effect; hematopoietic progenitor cell; HLA system; hemato-oncology

## Introdução

O Transplante Alogénico de Progenitores Hematopoiéticos (Alo-SCT) é um procedimento terapêutico que consiste na destruição do sistema hematopoiético do doente através de quimio e/ou radioterapia seguida da sua substituição por células estaminais hematopoiéticas de um dador.

Atualmente, 70% dos Alo-SCT são realizados em doentes com neoplasias malignas hematológicas<sup>1</sup>, entre as quais se destaca a Leucemia Mielóide Aguda (36%), e menos frequentemente no contexto de doenças não malignas.<sup>2</sup>

E. Donnall Thomas desenvolveu um trabalho pioneiro na área da alotransplantação, demonstrando em 1957 a possibilidade de colheita e administração de Medula Óssea (MO) humana em quantidades significativas, assim como o seu potencial proliferativo em recetores previamente submetidos a irradiação corporal total (TBI).<sup>3</sup> Posteriormente, em 1959, Thomas e a sua equipa reportaram a primeira tentativa de Alo-SCT numa doente com leucemia linfocítica aguda avançada a partir da MO da sua gémea idêntica.<sup>4</sup>

Estima-se que desde então mais de 240.000 transplantes (autólogos e alogénicos) de progenitores hematopoiéticos tenham sido realizados a nível mundial em 450 centros de 47 países diferentes.<sup>5</sup> De acordo com o *European Society for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT), só no ano de 2014 realizaram-se 15.765 Alo-SCT na Europa.<sup>2</sup>

O Alo-SCT comporta várias etapas importantes, desde a avaliação do doente candidato a transplante até ao acompanhamento do doente pós-transplante, passando pela seleção do dador e pelos aspetos técnicos inerentes ao procedimento. É, de facto, um exemplo de medicina altamente especializada, de elevado custo, que requer infraestruturas adequadas, assim como a atuação conjunta de médicos de diferentes especialidades.<sup>6</sup>

Esta é a única terapêutica com intuito curativo para vários doentes com patologias hemato-oncológicas<sup>7,8</sup> e efetivamente resulta em mais curas e remissões do que os tratamentos

alternativos.<sup>9</sup> No entanto, pode associar-se a grande morbidade e mortalidade: estima-se que 40% dos doentes morram por complicações relativas ao procedimento de transplantação.<sup>9</sup>

A sobrevivência global aos 5 e aos 10 anos, segundo dados do EBMT, é de cerca de 53% e 44% respetivamente.<sup>1</sup>

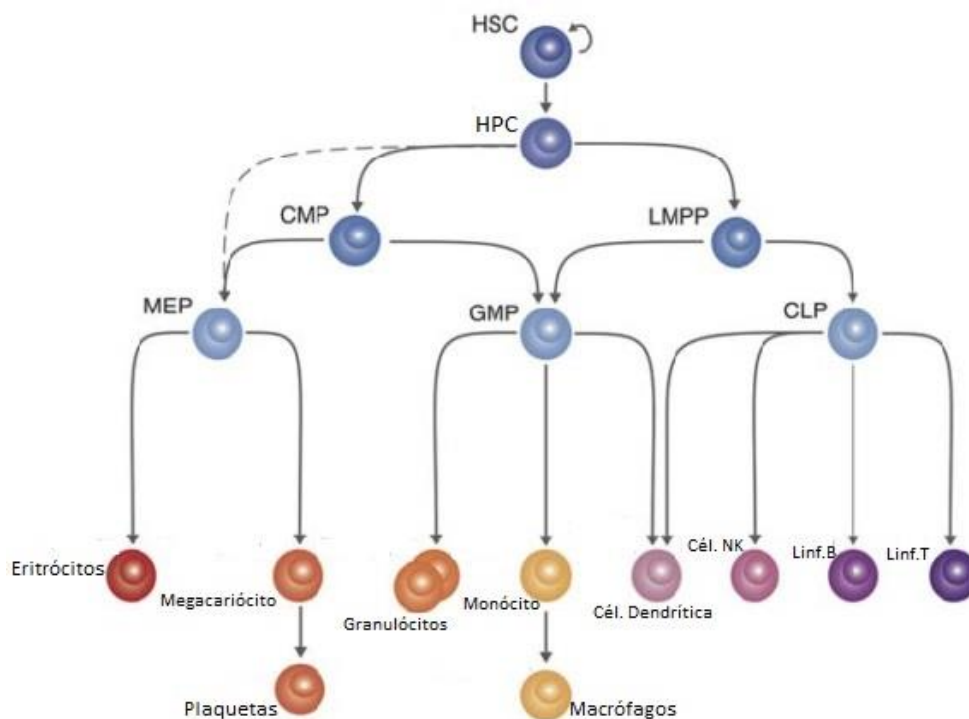
Um Alo-SCT bem sucedido é definido, em última instância, pela capacidade de obtenção e manutenção de *engraftment* e reconstituição do sistema imunitário do doente, pelo controlo da Doença Enxerto contra Hospedeiro (DEcH) e, em doentes com neoplasias hematológicas malignas, pela completa erradicação das células tumorais<sup>10</sup>.

São vários os fatores que influenciam o sucesso de um Alo-SCT: o tipo e o estado da doença, a idade e o nível funcional do doente, a fonte de células estaminais e a seleção do dador, entre outros.<sup>11</sup> O crescente conhecimento destas variáveis e a investigação na área perspectiva melhores resultados e mais aplicações terapêuticas do Alo-SCT.

Deste modo, o objetivo desta tese de mestrado consiste em elaborar uma sistematização teórica atualizada da informação existente relativa ao Transplante Alogénico de Progenitores Hematopoiéticos, abordando o estado atual do conhecimento acerca das diferentes etapas que este integra e enfatizando os seus mais recentes avanços. Para o efeito, foram consultados diversos livros e selecionados artigos científicos maioritariamente dos últimos 10 anos em inglês e português. A National Library of Medicine (EUA) constituiu um auxiliar muito importante nesta tarefa, como fonte qualificada de literatura biomédica, e no qual foi realizada a pesquisa através da base de dados Medical Subject Headings (MeSH).

## 1. Células estaminais

As células sanguíneas presentes no sangue periférico resultam da diferenciação de células estaminais hematopoiéticas que são continuamente produzidas na MO (hematopoiese), tal como é apresentado de forma esquemática na Figura 1.<sup>9</sup>



**Figura 1:** Processo de diferenciação das células sanguíneas (hematopoiese). HSC – Células estaminais hematopoiéticas; HPC – Células estaminais progenitoras; CMP – Progenitor mieloide comum; LMPP- Progenitor linfóide primário multipotente; CLP – Progenitor linfóide comum; MEP – Progenitor de Eritrócitos e Megacariócitos; GMP- Progenitor de Granulócitos e Macrófagos (Adaptado de MacLean *et al*, “Stem Cell Population Biology: Insights from Haematopoiesis”, 2016)<sup>12</sup>

As células estaminais (entre as quais as hematopoiéticas) definem-se, de uma forma geral, por três aspetos característicos:

- 1- Auto-Renovação (prolifera e dão origem a células idênticas entre si);<sup>13</sup>

- 2- Clonalidade (uma única célula estaminal tem potencial para criar novas células estaminais);<sup>13</sup>
- 3- Capacidade de diferenciação em vários tipos especializados de células ou tecidos.<sup>13</sup>

As células estaminais hematopoiéticas possuem diferentes fenótipos e podem ser identificadas por distintos recetores à superfície das células. Ensaio funcionais de células formadoras de colónias (CFC) *in vitro* permitiram a identificação de células estaminais hematopoiéticas, CD34+, CD90 (Thy1)+ e Lin-, com capacidade de diferenciação em progenitores mielóides e linfóides, e de células CD34+, CD90-, Lin- , sem essa capacidade.<sup>14</sup>

O antígeno de superfície CD34, marcador importante da capacidade regenerativa de medula óssea, expressa-se em cerca de 1-3% das células na medula óssea, em 0,1-0,4% das células do sangue do cordão umbilical e em 0,01- 0,1% no sangue periférico.<sup>15</sup>

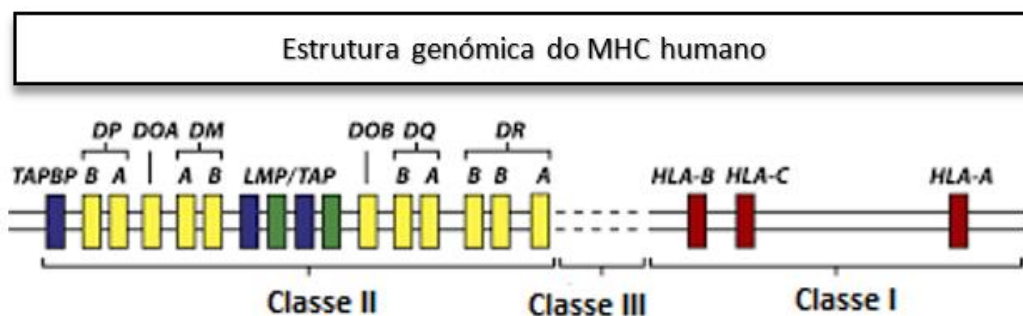
As células hematológicas neoplásicas podem provir de diferentes níveis de diferenciação na hierarquia celular da hematopoiese. A maioria das células neoplásicas têm um potencial de proliferação limitado e são continuamente substituídas por células estaminais malignas. A quimioterapia (QT) utilizada para tratar estas neoplasias atua principalmente nas células em proliferação, o que significa que as células quiescentes (tanto as normais, como as malignas) serão insensíveis a esta arma terapêutica. As células estaminais malignas quiescentes, sendo poupadas pela QT, permitem a recidiva da doença neoplásica.<sup>9</sup> É portanto aqui que se encontra um dos fundamentos dos transplantes de progenitores hematopoiéticos, supondo-se que tais células quiescentes poderão ser eliminadas por células dadoras imunologicamente ativas.

## 2. Sistema HLA

Os avanços no campo da transplantação de órgãos e tecidos intensificaram-se significativamente desde a descoberta do complexo major de histocompatibilidade (MHC) em 1967.<sup>5</sup>

O MHC existe em todos os vertebrados e é constituído por genes com importantes funções imunológicas. Nos humanos, localiza-se no braço curto do cromossoma 6 (6p21.31) e codifica antigénios intervenientes no processo aloreativo, globalmente designados por sistema HLA (*human leukocyte antigen*).<sup>5</sup>

O MHC subdivide-se em 3 classes: I, II e III, com base na sua distribuição tecidual, estrutura e função.<sup>5</sup> Os genes que codificam os antigénios leucocitários humanos localizam-se nas classes I e II do sistema MHC, conforme se apresenta na Figura 2.



**Figura 2:** Estrutura genómica do complexo major de histocompatibilidade humano (Adaptada de Muller et al. “Janeway’s Immunobiology” 2012)<sup>16</sup>

O sistema HLA classe I é codificado por três *loci* dominantes: HLA-A, -B e -C. Estes antigénios encontram-se à superfície de todas as células nucleadas do organismo.<sup>5</sup>

Por sua vez, o sistema HLA classe II é codificado por outros três *loci*: HLA-DR, -DP e -DQ e tem uma expressão mais limitada, encontrando-se em linfócitos B, macrófagos, linfócitos T ativados, células dendríticas, células de Langerhans, células endoteliais e epiteliais.<sup>5, 13, 17</sup>

Quanto à classe III, localiza-se entre os *loci* HLA-B e HLA-D e determina a estrutura de três componentes do sistema do complemento: C2, C4 e o fator B.<sup>5</sup>

As moléculas HLA desempenham um papel fundamental nas respostas imunitárias mediadas por linfócitos T. As de classe I (HLA-A, -B, -C) funcionam ainda como ligandos para os recetores KIR (*killer immunoglobulin-like receptor*) das células NK (*natural killer*), envolvidos na imunidade inata.<sup>18</sup>

### **3. Antígenos Minor de Histocompatibilidade (AMH)**

O fator genético mais importante para a histocompatibilidade no contexto da alotransplantação é, sem dúvida, o complexo HLA. No entanto, estudos com modelos animais indicam a presença de vários genes não HLA importantes na mediação da resposta imunitária após um Alo-SCT, entre os quais os chamados “antígenos minor de histocompatibilidade”.<sup>10,19</sup>

No panorama clínico, o papel dos antígenos minor de histocompatibilidade foi evidenciado em 1976 e até 2014 tinham sido identificados 54 antígenos minor codificados por genes em autossomas<sup>20</sup>, sabendo-se contudo que eles existem também nos cromossomas sexuais.

Os antígenos minor de histocompatibilidade são epítomos nas células T derivados de genes polimórficos<sup>19</sup>, sendo a forma mais comum de polimorfismos genéticos resultantes em antígenos minor de histocompatibilidade os SNPs (*Single-Nucleotide Polymorphisms*), isto é, uma única diferença num único nucleótido que resulta num aminoácido diferente em determinado peptídeo.<sup>20</sup>

Os genes que codificam os AMH são herdados de forma independente do sistema HLA. Ou seja, dador e recetor HLA-idênticos muito provavelmente terão várias diferenças (*mismatches*) nos *loci* de antígenos minor. No entanto, está claro que dadores e recetores não



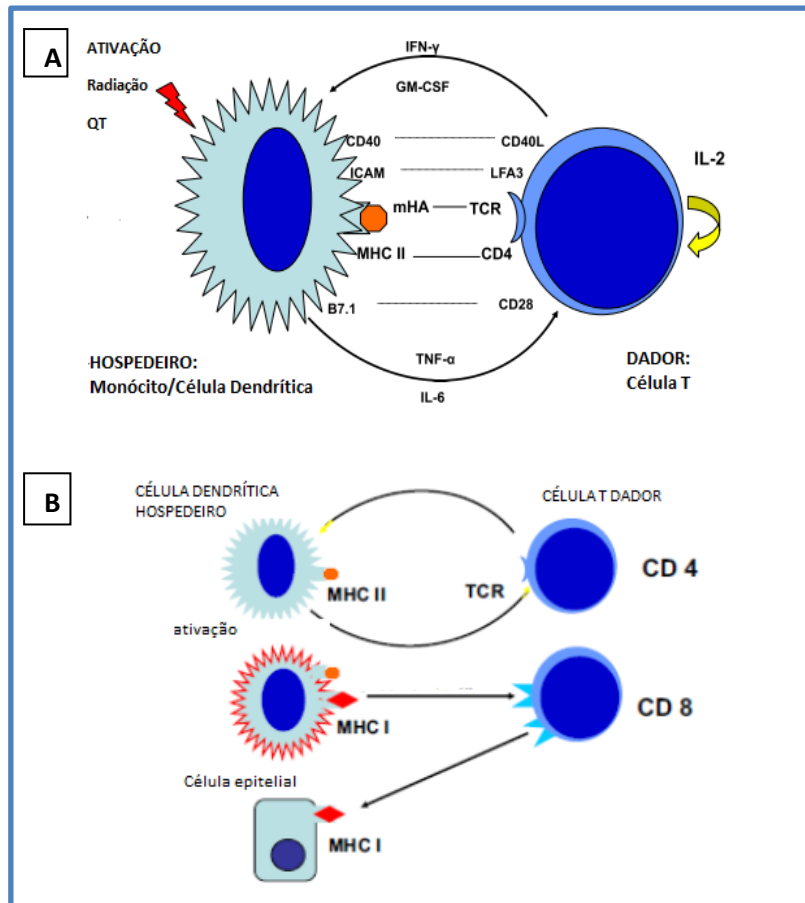
aparentados terão sempre à partida maior probabilidade de *mismatch* nestes *loci* do que dadores e recetores familiares.<sup>10,19</sup>

#### **4. Aloreatividade**

Uma reação aloimune ocorre sob circunstâncias em que as células hematopoiéticas imunocompetentes são transplantadas de um indivíduo para outro e as diferenças genéticas entre os dois levam a ativação celular e a mecanismos de resposta imunitária.<sup>10</sup> Tanto as células do recetor como as do dador têm potencial para se rejeitarem mutuamente, resultando na rejeição do enxerto ou em Doença Enxerto contra Hospedeiro (DEcH)<sup>5</sup>, sendo esta última considerada a principal complicação do alo-SCT.<sup>21</sup>

Os mecanismos de aloreatividade têm por base a interação entre células T e células apresentadoras de antígenos (APCs), sendo as células T *helper* CD4+ e as células T CD8+ citotóxicas estimuladas pelos complexos peptídicos HLA de classe II e HLA classe I, respetivamente. Esta interação não é suficiente para assegurar a ativação das células T, que exige sinais adicionais através de moléculas co-estimuladoras, moléculas de adesão e citocinas inflamatórias.<sup>22</sup>

A fisiopatologia da DEcH depende dessa apresentação antigénica por parte das APCs do doente, assim como de outros fenómenos complexos desencadeados pela lesão prévia do tecido hospedeiro (devida à quimio e/ou radioterapia administradas ao doente) e consequente libertação de mediadores inflamatórios (entre os quais: TNF $\alpha$  e IL-6).<sup>13,22</sup> A figura 3 pretende ilustrar esses fenómenos.



**Figura 3:** Fisiopatologia da DECh: A - Interação da célula T dadora com uma célula apresentadora de antígenos do hospedeiro (monócito/célula dendrítica); B - Estimulação das células T CD8+ citotóxicas pelas APC ativadas (Adaptado de: Kolb H. “Graft-versus-leukemia of transplantation and donor lymphocytes.” 2008)<sup>22</sup>

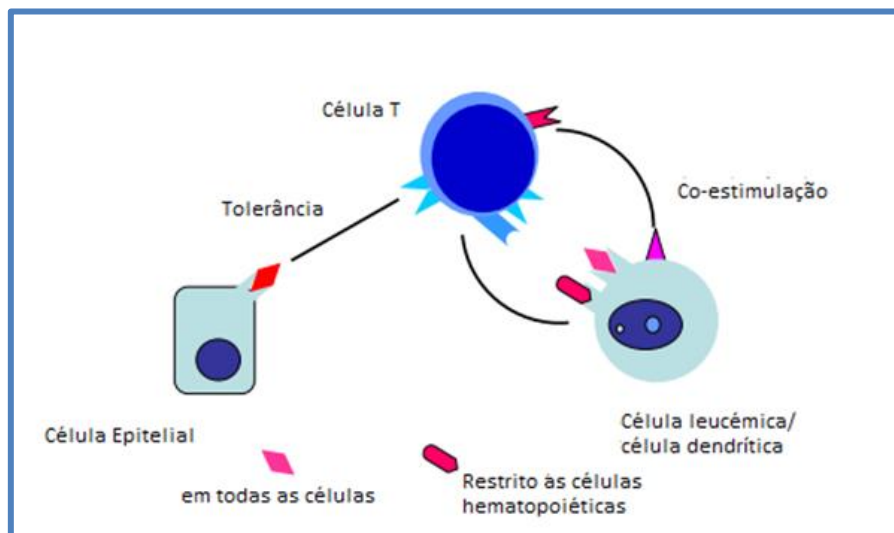
Os AMH também têm um papel importante na ativação dos linfócitos T *helper* do dador (Figura 3B), contribuindo para a ativação e recrutamento de células T CD8+ citotóxicas, entre outros mecanismos efetores.<sup>22</sup>

Após a ativação inicial, a reação aloimune é amplificada por múltiplos componentes dos sistemas adaptativo e inato, dos quais se destacam: células NK, monócitos, macrófagos e citocinas próinflamatórias, que geram uma cascata de citotoxicidade e lesão tecidual, culminando na destruição final do órgão-alvo.<sup>10,22</sup>

## 5. Efeito Enxerto versus Tumor (EvT)

Os princípios imunobiológicos anteriormente descritos estão também presentes na reação enxerto versus tumor (EvT) ou enxerto contra leucemia.

O efeito EvT é mantido pelas células APC hospedeiras de origem leucêmica que estimulam as células T dadoras, através da apresentação de AMH exclusivos do tecido hematopoiético como está representado na Figura 4.<sup>22</sup> Os AMH seletivamente expressos nas células hematopoiéticas causam efeito EvT mas não DEcH, enquanto antígenos expressos em células hematopoiéticas e em células epiteliais podem causar ambas as reações.<sup>9</sup>



**Figura 4:** Reação Enxerto versus Tumor (EvT) (Adaptado de: Kolb H. “Graft-versus-leukemia of transplantation and donor lymphocytes.” 2008)<sup>22</sup>

Desde os primeiros estudos nesta matéria se concluiu que a ocorrência da DEcH reduzia a incidência de recidiva da doença subjacente (habitualmente uma leucemia), o que sugere que os linfócitos do dador possam erradicar as células tumorais que sobrevivem aos regimes de condicionamento.<sup>9</sup>

Barnes et al.<sup>23</sup> estudou ratos com leucemia tratados com altas doses de TBI e comparou os que receberam transplantes de MO singénica e alogénica. Os ratos recetores de MO singénica morreram de leucemia pouco tempo depois, enquanto os recetores de células alogénicas apresentaram maior sobrevivência, mas desenvolveram mais tarde DEcH fatal. De realçar que este último grupo de ratos não evidenciava leucemia na altura da morte.<sup>13</sup>

O efeito EvT assume um papel importante na supressão a longo prazo de células hospedeiras malignas que por vezes resistem aos regimes de condicionamento. É atualmente aceite que as células enxertadas contêm potente atividade antitumoral<sup>13</sup>, o que é confirmado pela maior incidência de recidiva após transplante com depleção de células T e pela reindução de remissão citogenética e molecular da neoplasia após a administração de linfócitos T do dador.<sup>9,13,24</sup>

Relativamente à importância do efeito EvT na erradicação do tumor, destacam-se as seguintes evidências clínicas:

- Menor incidência de recidiva de leucemia em recetores de aloenxertos com DEcH aguda e/ou crónica do que em doentes sem DEcH;<sup>13</sup>
- Maiores taxas de recidiva após transplante entre gémeos idênticos do que em Alo-SCT;<sup>13</sup>
- Altas taxas de recidiva após transplantes com depleção de células T;<sup>13</sup>
- Remissões citogenéticas e moleculares induzidas após recidiva pós-transplante pela administração de leucócitos dadores sem outra terapia anti-leucémica;<sup>13</sup>
- Remissões duradouras conseguidas após doses muito baixas de agentes de condicionamento (ex: TBI 200cGy) e alo-SCT.<sup>13</sup>

## 6. Quimerismo

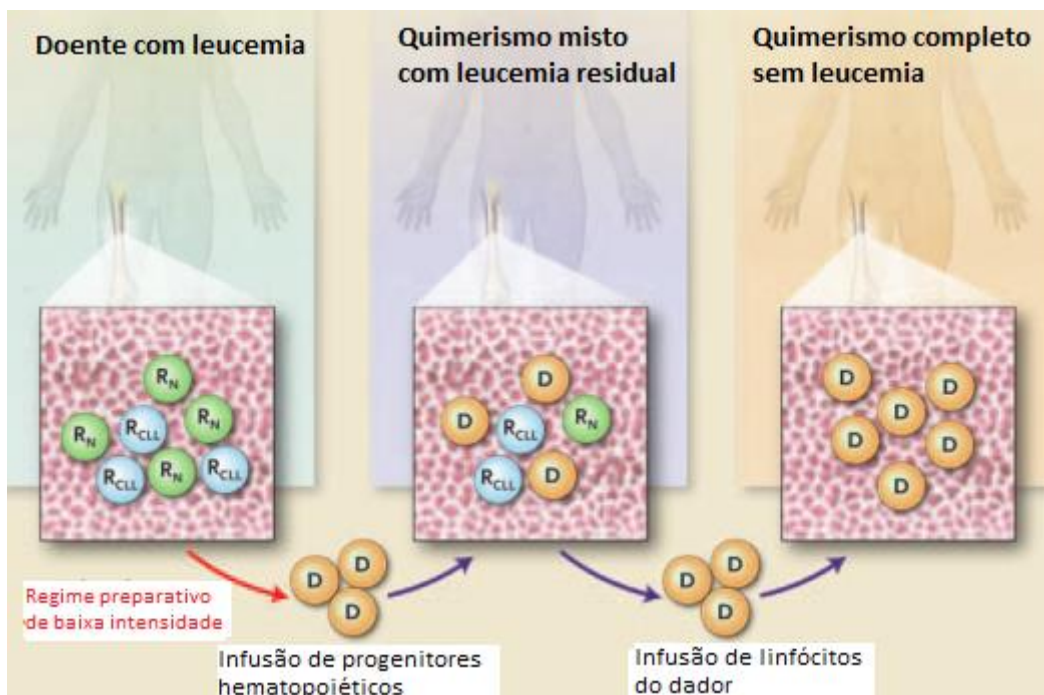
As células do dador são administradas no recetor por via endovenosa, alojam-se num microambiente da MO do hospedeiro e aí se implantam (*engraftment*). Em condições ideais, com correspondência HLA entre dador e recetor, o sistema imunitário do recetor tolera o enxerto sem que ocorra rejeição imediata ou tardia.<sup>7</sup>

Por fim, ocorrerá reconstituição da função de linfócitos B, T e células NK, predominando um estado quimérico e mantendo-se um efeito EvT a longo prazo.<sup>13</sup>

O quimerismo designa um organismo que possui duas ou mais populações genéticas diferentes, provenientes de zigotos diferentes.<sup>25</sup>

No Alo-SCT em que ocorre substituição hematopoiética completa com células do dador, diz-se que o quimerismo é completo ou total.<sup>25</sup>

Por outro lado, um doente portador de leucemia (com células normais e células malignas na sua MO) pode fazer um regime de quimio e/ou radioterapia que lhe cause imunossupressão suficiente para o *engraftment* dos progenitores hematopoiéticos do dador. Daí resultará um estado quimérico misto, o que significa que na medula do recetor coexistirão células do próprio doente (normais e neoplásicas resistentes ao tratamento), assim como as novas células transplantadas (células normais do dador). Posteriormente, podem ainda ser transplantados linfócitos do dador no sentido da erradicação de todas as células do recetor, normais e malignas, dando assim origem a um quimerismo completo, tal como se esquematiza na Figura 6.<sup>9</sup>



**Figura 5:** Transplante com regime de condicionamento de baixa intensidade e subsequente quimerismo.  $R_N$  – célula normal do recetor;  $R_{CLL}$  – célula neoplásica do recetor;  $D$  – célula do dador (Adaptado de E.Copelan, "Hematopoietic Stem Cell Transplantation", 2006)<sup>9</sup>

A determinação da percentagem de quimerismo permite avaliar o sucesso do transplante e a probabilidade de ocorrência de DEcH.<sup>26,27</sup> A existência de quimerismo misto estável tem sido associada a tolerância, importante para o sucesso do transplante.<sup>28</sup>

## 7. Tolerância

Muitos doentes recetores de Alo-SCT desenvolvem tolerância imunológica e pode-lhes vir a ser retirada a terapêutica imunossupressora sem que haja rejeição do enxerto ou DEcH e mantendo-se as suas defesas contra organismos patogénicos.<sup>10</sup>

Estudos prévios identificaram potenciais mecanismos de tolerância periférica que seletivamente eliminam ou inabilitam os clones de linfócitos T dadores que reconhecem aloantígenos do recetor e o mesmo para os clones de linfócitos T recetores que reconhecem aloantígenos do dador.<sup>10</sup> Como base imunológica dos fenómenos de tolerância periférica

sugerem-se: a ação das citocinas IL-10 e TGF- $\beta$  produzidas pelas células apresentadoras de antígenos e da IL-4 produzida pela célula T, assim como a diminuição dos sinais de coestimulação (anergia clonal) e a inibição das APC do hospedeiro pelos linfócitos T reguladores (Treg) do dador.<sup>22</sup>

Considera-se que ocorre tolerância precoce em doentes que não desenvolvem DECh crónica. Estes doentes podem normalmente deixar a imunossupressão 6 a 9 meses após o Alo-SCT.<sup>10</sup>

Já os doentes que desenvolvem DECh crónica requerem terapêuticas mais prolongadas. No entanto, apesar de atrasada pela DECh, a tolerância tardia pode ainda aparecer em muitos doentes (aproximadamente 50%). A duração média do tratamento nesta população de doentes é de 23 meses.<sup>10</sup>

## **8. Indicações clínicas para alotransplante**

Mais de 15.000 Alo-SCTs são realizados anualmente a nível mundial, sendo a grande maioria destes (70%)<sup>1</sup> motivada por neoplasias hematológicas e cerca de metade atribuídos a leucemias agudas.<sup>9</sup>

Na Tabela 1, apresentam-se as principais patologias em que existe indicação clínica para Alo-SCT.

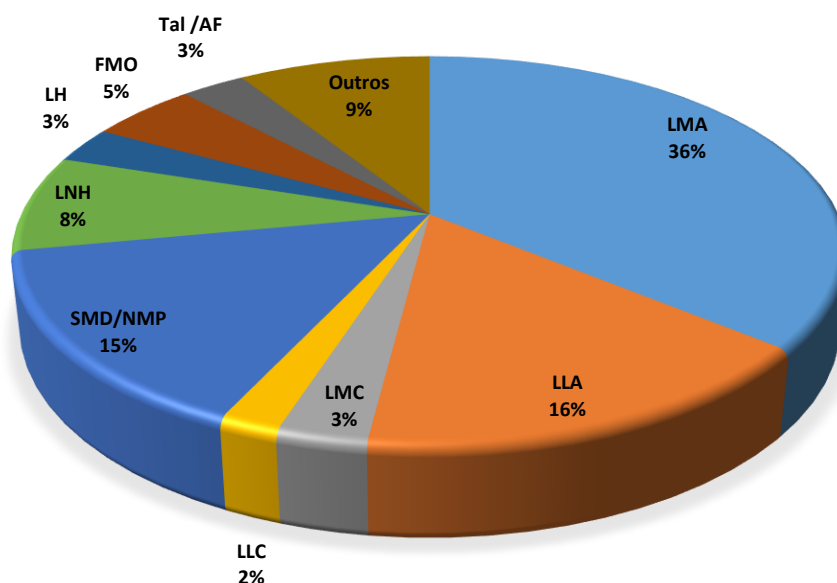
**Tabela 1:** Indicações clínicas para Alo-SCT

Doenças neoplásicas (malignas):	Doenças benignas:
Leucemia Mielóide Aguda ou Crónica	Anemia Aplástica
Leucemia Linfoblástica Aguda	Hemoglobinúria Paroxística Nocturna
Leucemia Linfocítica Crónica	Anemia de Fanconi
Síndromes Mielodisplásicas	Anemia de Blackfan-Diamond
Neoplasias Mieloproliferativas	Talassémia Major
Linfomas Hodgkin e Não Hodgkin	Anemia de células falciformes
Mieloma Múltiplo	Imunodeficiência Severa Combinada
	Síndrome de Wiskott-Aldrich
	Erros congénitos do metabolismo

(Adaptado de Copelan EA, “Hematopoietic Stem Cell Transplantation”, 2006)<sup>9</sup>

Em 2014, 36% dos Alo-SCTs foram motivados por LMA, a LLA foi responsável por 16%, SMD/NMP por 15%, LNH 8% e a LMC por 3%, entre outros. A Figura 6 apresenta as referidas proporções.<sup>2</sup>





**Figura 6:** Proporções relativas de indicações para Alo-SCT na Europa em 2014 (Adaptado de Passweg JR et al, “Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually”, 2016<sup>2</sup>). AF – Anemia Falciforme; FMO – Falência da Medula Óssea; LH – Linfoma de Hodgkin; LLA - Leucemia Linfoblástica Aguda; LLC – Leucemia Linfocítica Crónica; LMA - Leucemia Mieloblástica Aguda; LMC - Leucemia Mielóide Crónica; LNH – Linfoma Não Hodgkin; SMD/NMP – Síndrome Mielodisplásico/ Neoplasia Mieloproliferativa; Tal – Talassémia.

O sucesso do Alo-SCT no tratamento de doenças malignas depende de vários fatores, principalmente do tipo de neoplasia, o estado em que se encontra e a idade do doente.<sup>5</sup> No geral, o Alo-SCT é melhor tolerado quando realizado em estádios precoces das doenças.<sup>1</sup>

A maioria dos doentes com LMA alcançam remissão após QT, contudo 65% recidiva no prazo de 2 anos. Durante a primeira remissão completa, o Alo-SCT é uma alternativa para estes doentes. Em doentes com risco intermédio, projeta-se uma sobrevivência a 5 anos de 52% após um Alo-SCT.<sup>5</sup>

Em doentes com SMD, esperar pela progressão da doença para quando exista excesso de blastos é benéfico quando comparado com a transplantação mais precoce.<sup>1</sup> Já no caso da

LMC, o Alo-SCT é considerado essencialmente na população pediátrica, obtendo-se aqui uma taxa de sucesso superior a 80%, mas também em adultos em estados avançados da doença cujo tratamento médico com inibidores da tirosina cinase (Imatinib) tenha falhado.<sup>5</sup>

Os melhores resultados do Alo-SCT – maiores taxas de sobrevivência e menor probabilidade de recidiva - têm sido obtidos em doentes com idade inferior a vinte anos que tenham tido Leucemia não linfoblástica aguda e que tenham sido submetidos ao transplante na primeira remissão, assim como em doentes com LMC que tenham sido transplantados na fase crónica da doença.<sup>5</sup>

No que diz respeito às doenças não malignas, o Alo-SCT é altamente eficaz no tratamento de  $\beta$ -Talassémia homozigótica, com taxas de sobrevivência entre os 70 e os 80% em transplantes com doadores HLA-idênticos aparentados. O mesmo se verifica para a Anemia de Células Falciformes.<sup>5</sup>

## **9. Regimes de Condicionamento**

O condicionamento diz respeito a um tratamento pré-transplante que pode consistir em quimio e radioterapia ou apenas quimioterapia.<sup>17</sup>

Os dois principais objetivos da administração dos regimes de condicionamento são: por um lado, erradicar as células neoplásicas existentes e, por outro, eliminar as células imunitárias do doente que possam ser capazes de rejeitar as células transplantadas.<sup>9,13</sup>

De uma forma geral, estes tratamentos podem ter vários efeitos secundários a curto prazo, tais como: náuseas, vômitos, alopecia, rash cutâneo, lesões orais, entre outros. Já a longo prazo, poderão associar-se a: infertilidade, endocrinopatias, neoplasias secundárias ou mais raramente, cardiomiopatia e doença hepática.<sup>17</sup>

Tratam-se de terapêuticas imunossupressoras pelo que há um aumento do risco de infeções nestes doentes. Profilaticamente, é habitual utilizarem-se alguns fármacos, tais como: o fator de estimulação de colónias de granulócitos (G-CSF) - para aumentar a produção de leucócitos - antifúngicos, antivíricos e antibióticos (nomeadamente uma Cefalosporina para as infeções estreptocócicas e o Cotrimoxazole para *Pneumocystis*).<sup>17</sup>

No passado, os doentes eram sujeitos a regimes mieloablativos para assegurar o sucesso da implantação das células estaminais do dador. Um regime de alta dose de Ciclofosfamida isolada era usado em doentes com patologias não malignas, enquanto combinações de Ciclofosfamida (60mg/kg/dia durante 2 dias) com TBI (8-15 Gy) ou Ciclofosfamida com Busulfan (4mg/kg/dia durante 4 dias se via oral ou 3.2 mg/kg/dia se via iv) eram usadas para as patologias malignas.<sup>13</sup>

A TBI é uma terapêutica mieloablativa, imunossupressora, não está associada a resistência cruzada à QT e alcança locais onde a QT não chega. Para além disso, os seus efeitos são independentes da irrigação sanguínea.<sup>9</sup>

Desde o século XX que se identificou a TBI como sendo altamente nociva para o organismo, particularmente para os sistemas nervoso central e gastrointestinal. A toxicidade da TBI e a pouca disponibilidade das estruturas necessárias ao procedimento resultaram no desenvolvimento de regimes sem radiação.<sup>9</sup>

No caso dos regimes sem radiação (Ciclofosfamida+Busulfan), os efeitos adversos estão associados a altos níveis plasmáticos de Busulfan e de metabolitos de Ciclofosfamida.<sup>9</sup>

Acrescenta-se ainda o facto de os efeitos tóxicos dos regimes mieloablativos aumentarem com a idade, especialmente a partir dos 50 anos, o que geralmente impede esta abordagem terapêutica em doentes com mais de 65 anos (grupo etário com a maior prevalência de neoplasias hematopoiéticas<sup>1</sup>).<sup>9</sup>

Atualmente, no entanto, com um melhor entendimento do efeito EvT, os regimes de baixa intensidade ganharam popularidade tanto no campo das patologias benignas como das malignas.<sup>9</sup> Estes regimes podem recorrer igualmente à Ciclofosfamida e à TBI, mas em doses consideravelmente menores, imunossupressoras mas submieloablativas.

Além de permitirem o efeito EvT, os regimes de baixa intensidade têm também a vantagem de pouparem o doente aos efeitos secundários tóxicos dos regimes anteriormente utilizados, o que os torna adequados a doentes mais idosos ou com lesão de órgão pré-existente.<sup>5,13</sup>

Os regimes de intensidade reduzida têm menor atividade antitumoral do que os tradicionais regimes mieloablativos. No entanto, aqueles comprometem o sistema imunitário do recetor em menor escala, já que a duração e a gravidade da neutropenia induzida são menores e as células imunocompetentes do doente não são imediatamente eliminadas. Além disso, a recuperação do *pool* de linfócitos T parece ser mais rápida e mais consistente do que a recuperação de linfócitos T permitida pelos condicionamentos mieloablativos.<sup>13</sup>

É importante notar que embora estes regimes sejam menos citotóxicos, eles são também profundamente imunossupressores, pelo que as infeções oportunistas continuam a ser obstáculos clínicos nestes casos.<sup>5</sup>

Aproximadamente 40% dos transplantes realizados em doentes adultos com neoplasias malignas usam atualmente regimes de condicionamento de baixa intensidade.<sup>29</sup> Em doentes com neoplasias malignas avançadas, contudo, a baixa taxa de mortalidade atingida pode ser contraposta por uma alta incidência de recidiva.<sup>9</sup>

## **10. Fontes de células estaminais para alotransplante**

Atualmente considera-se “Transplante de células progenitoras hematopoiéticas” uma denominação mais correta do que “Transplante de Medula Óssea”, uma vez que as células

estaminais e progenitoras utilizadas podem provir não só da medula óssea como também do sangue periférico ou do cordão umbilical.<sup>13</sup>

De um modo geral, as grandes diferenças entre as fontes de células progenitoras existentes prendem-se com: o número total de células obtidas, a quantidade de células estaminais pluripotentes obtidas e as características das células imunitárias reativas. A Tabela 2 enquadra essas diferenças.<sup>13</sup>

**Tabela 2:** Principais diferenças entre fontes de células hematopoiética

FONTES DE CÉLULAS		Colheita	Nº de células estaminais hematopoiéticas	Nº de células nucleadas	Nº de células CD34+	Nº de células T
	<b>MO</b>	Sob anestesia geral	Limitado	$2 \times 10^8/\text{kg}$	$2.8 \times 10^6/\text{kg}$	$2.2 \times 10^7/\text{kg}$
	<b>SP</b>	Fácil, sem anestesia geral	Elevado	$9 \times 10^8/\text{kg}$	$7 \times 10^6/\text{kg}$	$27 \times 10^7/\text{kg}$
	<b>CU</b>	Colheita fácil e indolor; Disponibilidade imediata.	Muito limitado	$3 \times 10^7/\text{kg}$	$2 \times 10^5/\text{kg}$	$0.4 \times 10^7/\text{kg}$

(Adaptada de: Larghero et al “The EBMT handbook: haematopoietic stem cell transplantation. Chapter 5.” 2008)<sup>30</sup> MO – Medula Óssea; SP – Sangue Periférico; CU – Cordão Umbilical.

A medula óssea e o sangue periférico são atualmente as fontes mais comuns para Alo-SCTs.<sup>31</sup> A medula óssea continua a ser a principal fonte em crianças, sendo usada em aproximadamente 55% dos transplantes. Por outro lado, em adultos, o sangue periférico é fonte de células dadoras em cerca de 80% dos transplantes.<sup>13</sup>

### 10.1 Medula Óssea (MO)

A medula óssea obtida por aspiração do segmento posterior das cristas ilíacas do dador, em condições de assepsia, enquanto este se encontra sob anestesia geral ou local é a fonte “clássica” de células para Alo-SCT.<sup>9</sup>

A punção das cristas ilíacas posteriores é feita com agulhas de punção medular descartáveis, realizando-se aspirações de cerca de 5 ml.<sup>32</sup> O desconforto após este procedimento

normalmente desaparece no prazo de duas semanas e os efeitos secundários graves são raros (cerca de duas mortes em oito mil extrações)<sup>33</sup>, apesar de poder ser necessária a realização de uma transfusão de eritrócitos após a doação.

O conteúdo das seringas é imediatamente introduzido no saco de colheita, passando por filtros que permitem a remoção de gordura, coágulos, agregados e fragmentos ósseos. O volume a colher depende do número de células nucleadas que se pretenda. Com cerca de 50 ml obtêm-se  $10^9$  células nucleadas. No final da colheita, a amostra é processada, testada e infundida no doente.<sup>32</sup>

O processamento implica a depleção eritrocitária e a concentração de células nucleadas. Os testes efetuados incluem as contagens globulares, contagem das células CD34+ e análise microbiológica, de forma a garantir a esterilidade da amostra. O número mínimo de células nucleadas recomendadas para transplante é de  $2.0 \times 10^8$  e  $2.8 \times 10^6$  de células CD34+ por quilograma de peso do doente.<sup>32</sup>

Normalmente, as células transplantadas com origem na MO iniciam a sua função no recetor cerca de 30 dias após o transplante.<sup>17</sup>

## 10.2 Sangue Periférico (SP)

A colheita de progenitores hematopoiéticos a partir de sangue periférico teve o seu início no ano de 1981.<sup>13</sup>

Na última década, o uso de células provenientes do sangue periférico aumentou consideravelmente.<sup>29</sup> Segundo dados apresentados pelo EBMT, esta foi a fonte de progenitores hematopoiéticos eleita em 73% dos ALO-SCT no ano de 2011.<sup>34</sup>

Habitualmente, o doente recebe fatores de crescimento hematopoiéticos para permitir a mobilização das células estaminais da MO para o sangue periférico. O mais comumente

utilizado é o fator de estimulação de colónias de granulócitos (G-CSF), administrado por via subcutânea na dose de 5-10 µg/kg/dia durante 5 dias.<sup>5</sup>

O G-CSF promove a libertação de células estaminais hematopoiéticas da MO através de vários mecanismos, entre os quais a inibição do gene SDF1 (*stromal derived factor 1*) e a degradação da proteína com o mesmo nome, responsável pela ancoragem das células estaminais ao estroma medular.<sup>35</sup>

A interação entre o SDF-1 e o seu receptor, o CXCR4 (*CXC chemokine receptor 4*), está também envolvida no tráfego de células progenitoras da MO.<sup>35</sup> O uso combinado de um inibidor reversível do CXCR4, o Plerixafor (AMD3100), com G-CSF revelou-se superior ao uso isolado do G-CSF na mobilização de células CD34+.<sup>9</sup> No entanto, em Portugal, este fármaco encontra-se aprovado apenas no contexto de transplantes autólogos.

Depois de mobilizadas para o sangue periférico, estas células são colhidas por leucoferese e os progenitores hematopoiéticos são selecionados positivamente usando colunas de afinidade que contêm anticorpos para os marcadores de superfície CD34 e CD 133, os quais parecem ter alta especificidade para a hematopoiese pluripotencial.<sup>5</sup> A leucoferese num adulto é um procedimento executado pelas veias antecubitais ou por cateter venoso central (CVC), através do qual se pode processar até 25 litros de sangue em quatro horas.<sup>9</sup>

Este processo de colheita permite a obtenção de um maior número de células estaminais, sendo recomendado o transplante de  $9.0 \times 10^8$  células nucleadas e  $7.0 \times 10^6$  de células CD34+ por quilograma de peso do doente.<sup>32</sup>

Ensaio clínicos aleatorizados<sup>9,29,36</sup> demonstraram melhor *engraftment* e mais rápida recuperação hematopoiética em transplantes com células de sangue periférico de dadores familiares HLA-idênticos, mas também um maior risco de DECh aguda<sup>29</sup> e crónica<sup>13,29,36</sup> quando comparados com transplantes de MO, em casos de neoplasias malignas.

Não parece haver diferença significativa na sobrevivência global aos dois anos entre doentes transplantados com progenitores hematopoiéticos mobilizados para o sangue periférico (SP) e transplantados com MO, apesar do maior risco de DEcH crónica.<sup>29,37</sup>

Os enxertos de sangue periférico contêm maior quantidade de células nucleadas, assim como mais células T e NK do que os enxertos de MO.<sup>36</sup> Quanto aos linfócitos T em particular, estima-se que os enxertos de sangue periférico contenham um número dez a cem vezes superior ao dos enxertos de MO, o que explica a maior incidência de DEcH.<sup>1</sup>

A depleção de células T daqueles enxertos é uma estratégia que, apesar de útil na diminuição do risco de DEcH, aumenta a probabilidade de rejeição do enxerto e recidiva da doença.<sup>36</sup>

O maior número de recidivas no contexto de enxertos sujeitos a depleção de células T deve-se ao facto de as células T retiradas para prevenir DEcH também serem as responsáveis pelo efeito EvT. Embora estes dois fenómenos sejam teoricamente inseparáveis, é possível que ocorra efeito EvT sem DEcH manifesta. A dose de linfócitos T que induz EvT sem provocar DEcH está bem estabelecida para modelos animais, mas infelizmente é mais difícil determiná-la em humanos. Até à data, aceita-se  $10^5$  células T/kg como sendo o valor crítico, mas esta é ainda uma proposta pouco consistente.<sup>36</sup>

O anticorpo monoclonal CD52 Campath (Alemtuzumab) tem sido muito usado para a depleção de células T.<sup>36</sup>

Cabe sempre aos dadores a escolha do processo de doação e cerca de 70% mostram-se disponíveis para doar tanto SP como MO. Conforme já foi mencionado, a doação de MO associa-se a um maior desconforto logo após o procedimento, mas a prevalência de sintomas dois meses após a doação é equivalente.<sup>29</sup>



### 10.3 Cordão Umbilical (CU)

A utilização de células estaminais com origem no cordão umbilical começou em 1988,<sup>13</sup> com a transplantação de células criopreservadas numa criança com Anemia de Fanconi pela hematologista Eliane Gluckman.<sup>38,39</sup> As células transplantadas foram colhidas do cordão umbilical de uma irmã HLA idêntica do doente no momento do seu nascimento.<sup>38</sup>

Atualmente realiza-se a colheita imediatamente após o nascimento e criopreservam-se as células nas 48 a 72 horas seguintes para seu posterior uso.<sup>9</sup> Antes da criopreservação, a unidade de sangue de cordão umbilical é submetida a um processo de concentração celular e redução de volume.<sup>40</sup> De seguida, é adicionado o criopreservante, dimetilsulfóxido (DMSO), e é efetuada a criopreservação em azoto líquido.<sup>32</sup>

O sangue de cordão umbilical tem sido cada vez mais utilizado como fonte de progenitores hematopoiéticos, tanto para recetores familiares como para não aparentados.<sup>39</sup> Cerca de 900 transplantes com células de cordão umbilical são realizados anualmente na Europa.<sup>1</sup> Em transplantes com dador não aparentado, o sangue do cordão umbilical é usado em 40% dos casos em crianças e apenas 5% em adultos.<sup>9,13</sup>

Esta fonte de células dadoras destaca-se pelas vantagens que oferece principalmente em transplantes com dador não aparentado, entre as quais a sua disponibilidade imediata<sup>13,39,41</sup> e o facto de ter um risco praticamente nulo para o dador.<sup>13</sup>

Dados mais recentes<sup>31,39</sup> indicam que os critérios de compatibilidade HLA poderão ser menos rígidos para a transplantação com sangue de cordão umbilical, aumentando assim a probabilidade de encontrar um enxerto adequado para a maioria dos doentes.<sup>13</sup> A imaturidade imunológica dos linfócitos T provenientes do cordão umbilical permite o uso de enxertos HLA *mismatched* em 1 ou 2 *loci* sem que se verifique um risco aumentado de DECh severa, em comparação com o risco existente num transplante de MO de um dador HLA-idêntico não

aparentado.<sup>42</sup> Além disso, Arora et al.<sup>43</sup> sugere ainda que a DEcH crônica após um transplante de cordão umbilical possa ser mais responsiva à terapêutica.

Atualmente, a seleção das unidades de cordão umbilical inclui a definição dos antígenos HLA-A, HLA-B e HLA-DRB1 (seis determinantes no total) e o nível de disparidade HLA considerado aceitável nestes transplantes é no máximo de 2/6.<sup>39,44</sup>

Os transplantes com células de cordão umbilical têm sido consistentemente associados a um *engraftment* tardio, mas sem diferenças significativas nos parâmetros da sobrevivência.<sup>41,45</sup> Na verdade, transplantes com doadores não aparentados (com ou sem *mismatch*) e transplantes com células de cordão umbilical têm apresentado sobrevivências globais semelhantes em vários estudos.<sup>41</sup>

Ainda assim, o *engraftment* tardio e a recuperação mais lenta do sistema hematológico e imunitário do paciente neste tipo de Alo-SCTs pode condicionar um maior risco de infecção pós-transplante<sup>9,41</sup>, estando a menor taxa de recuperação hematopoiética após transplante de células de sangue de cordão umbilical associada à menor quantidade de células CD34+ e células nucleadas presentes, assim como ao maior grau de disparidade HLA entre dador e recetor.<sup>39</sup>

A dose de células transplantadas é o fator que mais consistentemente se relaciona com o sucesso de um Alo-SCT com células de cordão umbilical.<sup>44,18</sup> O número mínimo de células nucleadas e de células CD34+ recomendadas para o transplante deve ser de  $3.0 \times 10^7$  e de  $2.0 \times 10^5$  por quilograma de peso do doente, respetivamente, quantidade inferior relativamente às outras fontes de células estaminais.<sup>32</sup>

Dado o baixo volume de sangue recolhido, o número de células disponível no cordão umbilical de um recém-nascido é um fator limitante principalmente nos transplantes em doentes adultos, o qual é atualmente contornado pela utilização de células provenientes de mais do que

um dador.<sup>5,18,31,44,46</sup> A expansão das unidades para facilitar o *engraftment* é outra possível estratégia.<sup>18,44</sup>

O alotransplante duplo de células do cordão umbilical tem sido uma opção viável para adultos sem dador disponível, nos últimos anos. Os resultados deste método têm sido relativamente satisfatórios, com uma sobrevivência livre de doença entre 30 e 50%.<sup>46</sup>

Por outro lado, o número de *mismatches* HLA é também um fator importante para o *engraftment* de neutrófilos e plaquetas. Quanto mais disparidades antigénicas estiverem presentes, maior o risco de falência do enxerto.<sup>39</sup>

Propõe-se atualmente que os efeitos negativos associados ao HLA *mismatching* possam ser parcialmente compensados por uma maior quantidade de células transplantadas.<sup>44,18</sup> Embora a dose ótima para cada HLA *mismatch* adicional não esteja ainda definida, doses aumentadas de células no contexto de uma disparidade HLA única leva a taxas de *engraftment* comparáveis com transplantes de dadores HLA-idênticos.<sup>18</sup>

Quanto à DEcH, à NRM e à recidiva, pensa-se atualmente que os transplantes com recurso a cordão umbilical se associem a uma NRM mais elevada, mas menor DEcH<sup>41,45</sup> e menor recidiva.<sup>45</sup>

## **11. Correspondência HLA entre dador e recetor**

A correspondência HLA entre dador e recetor é de suma importância no Alo-SCT dado que a reação de células imunocompetentes a aloantígenos codificados no MHC pode levar à falência do enxerto e a DEcH<sup>7,13</sup>, bem como a uma reconstituição imunitária pós-transplante mais demorada e até mesmo a maior mortalidade<sup>7</sup>.

No que respeita à alotransplantação, os antígenos mais importantes são: HLA-A, HLA-B e HLA-DR.<sup>7,17</sup> No entanto, obtêm-se resultados ótimos quando dador e recetor são

completamente compatíveis tanto para a classe I como para a classe II <sup>13</sup>, estando inclusive demonstrado que quanto maior o número de disparidades HLA classe I e classe II entre dador e recetor, maior o risco de falência do enxerto, DEcH e mortalidade associada ao transplante.<sup>7,47,48-50</sup>

A importância clínica dos antígenos HLA-DP e -DQ ainda não se encontra totalmente esclarecida. No entanto, o *mismatch* HLA-DP demonstrou ser um fator de risco independente para a DEcH <sup>7,44</sup> e para uma maior taxa de mortalidade.<sup>7</sup> No que diz respeito ao HLA-DQ, não se considera significativo o seu *mismatch* de forma isolada, mas pensa-se que tenha um efeito aditivo no caso de haver *mismatch* noutra *locus*.<sup>7, 44, 18,51</sup>

Cada indivíduo é portador de dez a doze genes que codificam HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ e -DP. A maioria destes genes é altamente polimórfica, desde 13 (HLA-DRB4) a 699 (HLA-B) alelos por *locus*.<sup>7</sup>

Os antígenos HLA têm transmissão mendeliana. Devido à proximidade entre os diferentes *loci* do MHC e conseqüente limitação de *crossing over*, os genes HLA são quase sempre herdados em conjunto. Cada indivíduo tem dois haplótipos HLA (um em cada cromossoma 6), herdados de cada um dos progenitores. Como tal, entre os descendentes do mesmo casal há apenas 4 possíveis combinações de haplótipos HLA, logo, se um doente tiver apenas um irmão, a probabilidade de serem HLA idênticos é de 25%.<sup>5,9</sup>

Para o emparelhamento HLA de dadores e recetores, recorre-se geralmente à determinação dos antígenos HLA nos leucócitos de ambos, o que pode ser feito tanto por métodos serológicos como por genotipagem de DNA.

### 11.1 Testes serológicos

Até meados dos anos oitenta, as técnicas serológicas constituíam a única forma de caraterizar a diversidade alélica do sistema HLA.<sup>52</sup>

Os testes serológicos foram entretanto abandonados por muitos laboratórios em detrimento de técnicas de genética molecular para a caracterização do sistema HLA, devido a questões de reação cruzada e indisponibilidade de certos anticorpos. Contudo, a serologia continua a ser utilizada no sentido da validação potenciais dadores selecionados para transplantes de órgãos e tecidos. Tenta-se, assim, salvaguardar a ocorrência de rejeição aguda após o transplante, já que alguns doentes poderão ter sido previamente sensibilizados contra determinados antígenos HLA. Ou seja, mesmo que os alelos do dador e do recetor sejam compatíveis, pode haver anticorpos no organismo do recetor contra alguns dos antígenos do dador, na sequência de transfusões de sangue, outros transplantes ou até de uma gravidez.<sup>52</sup>

### 11.2 Testes moleculares

A disponibilidade de métodos moleculares para tipagem HLA no fim da década de 80 abriu uma nova era na seleção de dadores para Alo-SCTs.<sup>44</sup>

A associação entre a *Polymerase Chain Reaction* (PCR) e a restrição enzimática (RFLP-*Restriction Fragment Length Polymorphism*) permitiu a adoção de uma técnica de caracterização alélica do sistema HLA mais eficiente e de alta resolução. Após a amplificação dos exões polimórficos do locus HLA em estudo, o DNA obtido por PCR é digerido com enzimas de restrição específicas e o perfil dos fragmentos produzidos é analisado após separação por electroforese.<sup>52</sup>

Vários métodos foram desenvolvidos com base na PCR: SSOP (*Sequence Specific Oligonucleotide Probes*); SSP (*Sequence Specific Priming*) e SBT (*Sequence Based Typing*). Este último é o método molecular atualmente mais fiável, permitindo inclusive a identificação direta de novos alelos.<sup>52</sup>

Cada método tem naturalmente as suas vantagens e as suas limitações. A escolha do método a utilizar na caracterização alélica do sistema HLA depende das especificidades de cada

laboratório e dos objetivos do trabalho. Desde a rapidez necessária até ao número de amostras, passando pelo equipamento existente, orçamento disponível e experiência dos recursos humanos, inúmeras são as variáveis que influenciam a escolha do método.<sup>7</sup>

A determinação da compatibilidade por tipagem de DNA de alta resolução é mais recente e sofisticada, reduzindo o risco de complicações pós-transplante<sup>7,47,53</sup>, nomeadamente a rejeição do enxerto e a DEcH, e aumentando por outro lado as hipóteses de encontrar um possível dador.<sup>7</sup>

Presentemente, já se consegue contornar a falta de total compatibilidade HLA entre dador e recetor, permitindo algum *mismatch*.<sup>7, 13</sup> No entanto, existem estudos que comprovam que um único *mismatch* pode ser suficiente para condicionar aumento do risco de DEcH, aumento da mortalidade associada ao transplante e/ou aumento da mortalidade global.<sup>7,47,54</sup> A Tabela 3 traduz quais os efeitos decorrentes de uma disparidade isolada em cada um dos principais locus HLA.

**Tabela 3:** Efeitos clínicos de *mismatches* únicos

Efeitos de <i>mismatches</i> únicos	Maior risco de DEcH aguda	Maior mortalidade associada ao transplante	Maior mortalidade global
<b>HLA-A</b>	✓	✓	✓
<b>HLA-B</b>	✓		
<b>HLA-C</b>	✓	✓	✓
<b>HLA-DRB1</b>		✓	✓

(Adaptada de Petersdorf EW, “Optimal HLA matching in hematopoietic cell transplantation”, 2008)<sup>44</sup>

Recentemente, obteve-se um melhor conhecimento de cada locus HLA e das consequências clínicas da disparidade dador-recetor de cada um deles, facilitando assim a procura e seleção de um dador HLA não idêntico.<sup>7</sup>

Entre os genes HLA clássicos, o *mismatch* no HLA-DQB1 parece ser o mais permissivo, o que significa que quando um dador HLA-idêntico não está disponível deve ser dada prioridade a dadores com uma única disparidade HLA no referido gene.<sup>44</sup>

Em 2004, o *US National Marrow Donor Program* (NMDP) demonstrou que os *mismatches* HLA-A, HLA-B ou HLA-DRB1 são fatores de risco significativos para DEcH aguda severa e que a existência de disparidade na classe I do sistema HLA e/ou no HLA-DRB1 aumenta a taxa de mortalidade dos doentes submetidos a alo-SCT. Já em 2007, o NMDP publicou um estudo que afirma que o impacto do mismatching HLA-A ou –DRB1 na sobrevivência global é maior do que o mismatch HLA-B ou –C.<sup>7,55</sup>

Numa análise do *Center for International Blood and Marrow Transplant Research* (CIBMTR), confirma-se que as disparidades a nível do HLA-B ou –C são menos arriscadas do que a nível do HLA-A ou –DRB1.<sup>18,54</sup>

Por disparidade ou *mismatch* antigénico entende-se uma não correspondência entre dois determinantes HLA diferentes, enquanto que disparidade ou *mismatch* alélico diz respeito à discordância entre duas sequências únicas dentro do mesmo antígeno HLA.<sup>44</sup>

O nível da disparidade HLA – antigénico ou alélico – afeta de forma distinta o sucesso de um Alo-SCT.<sup>7</sup> A disparidade antigénica associa-se habitualmente a mais de dez substituições de aminoácidos nas moléculas HLA, as quais podem ser reconhecidas por células imunocompetentes e consequentemente desencadear uma resposta imune.<sup>7,56</sup> A nível alélico, as disparidades implicam normalmente apenas uma ou duas substituições de aminoácidos, daí que devam promover uma menor resposta imunológica.<sup>7</sup>

O maior número de substituições de aminoácidos na molécula HLA díspar pode causar efeitos deletérios significativos ou ser irrelevante para o resultado do Alo-SCT. Não está estabelecido de forma consensual o valor da preferência de *mismatches* alélicos em detrimento dos antigénicos<sup>7,55</sup>, apesar de tal ser sugerido, particularmente no que diz respeito ao HLA-C.<sup>44</sup>

Num estudo mais recente do CIBMTR, as disparidades antigénicas e alélicas resultaram em riscos semelhantes, com exceção do HLA-C. Quando comparados com dadores HLA 8/8 idênticos (HLA-A, -B, -C, -DRB1), transplantes com *mismatch* alélico no HLA-C não se associaram a maior mortalidade global, mortalidade associada a transplante ou DEcH aguda. No entanto, estes parâmetros demonstraram piores resultados quando a disparidade HLA-C era antigénica. A partir destes dados, permite-se concluir que um dador com *mismatch* HLA-C alélico deve ser preferido a um dador com *mismatch* HLA-C antigénico, nos casos em que dadores HLA-idênticos ou dadores com *mismatch* único no HLA-DQB1 não estão disponíveis.<sup>44</sup>

A barreira da compatibilidade HLA absoluta tem sido ultimamente ultrapassada também através do uso de megadoses de células CD34+ associado à depleção de células T no enxerto ou, por outro lado, recorrendo ao cordão umbilical como fonte das células transplantadas.<sup>38</sup>

Num estudo em que se compararam os resultados de Alo-SCT com compatibilidade HLA total e Alo-SCT com um único *mismatch* antigénico, com depleção de células T e regimes de condicionamento de baixa intensidade em ambos os grupos, não se verificou diferença significativa na sobrevivência global dos doentes.<sup>7,57</sup>

É importante, no entanto, notar que as consequências de um *mismatch* único podem variar consoante a doença em causa. Alguns estudos<sup>51,58</sup> constataam que uma única disparidade HLA (9/10 pares emparelhados) implica uma maior taxa de mortalidade pós transplante, mas apenas para os doentes de baixo risco (doentes com LMC há dois ou menos anos). A mesma



disparidade demonstrou não ter qualquer efeito na sobrevivência para pacientes de alto risco, tais como: LMC mais avançada, leucemias agudas ou SMD.

O efeito da disparidade HLA na sobrevivência dos doentes é mais pronunciado em casos de doenças em estádios precoces.<sup>44</sup>

Em suma, há três conclusões essenciais a ter em conta no contexto clínico:

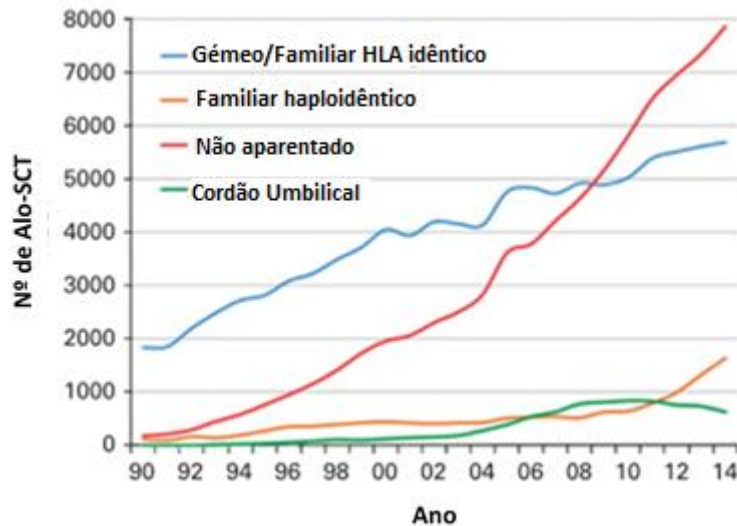
- 1- Os efeitos negativos do HLA *mismatching* são aditivos;<sup>18</sup>
- 2- Os *mismatches* no locus HLA-DQB1 são os menos prejudiciais, excepto quando presentes em simultâneo com outros;<sup>18</sup>
- 3- Os *mismatches* antigénicos HLA-C são altamente deletérios.<sup>18</sup>

## 12. Tipos de dadores

Um familiar HLA-idêntico é, de longe, o melhor dador para um Alo-SCT. No entanto, cerca de 70% dos doentes não têm nenhum indivíduo HLA-idêntico na família.<sup>13,44,45,59,47</sup>

Assim, por “dadores alternativos” entende-se o conjunto formado por: dadores HLA *mismatch* não aparentados, unidades de células obtidas do cordão umbilical e dadores familiares HLA haploidênticos.<sup>41,60,61</sup>

Na figura 7, representa-se o número absoluto de alo-SCT com diferentes tipos de dadores entre 1990 e 2014 no continente europeu.



**Figura 7:** Números Absolutos de Transplantes Alogênicos de Progenitores Hematopoiéticos na Europa entre 1990 e 2014 com diferentes tipos de doadores (Adaptado de Passweg JR et al, “Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually”, 2016)<sup>2</sup>

Os contínuos avanços no campo da imunogenética, bem com o crescimento dos registos de doadores e de bancos de células de cordão umbilical a nível mundial permitem que atualmente grande parte dos doentes sem dador familiar HLA idêntico possa ser proposta para Alo-SCT, obtendo-se assim, em muitos deles, uma oportunidade curativa que antes não existia.

O estado da doença pré-transplante é uniformemente apontado como o mais importante fator preditivo de sobrevivência a longo prazo, independentemente do tipo de dador utilizado.<sup>60,61</sup> Deste modo, em qualquer centro, em primeiro lugar deve ser assegurado que o doente recebe o transplante atempadamente, no melhor momento da sua doença.<sup>60</sup>

Não existem ainda dados de ensaios clínicos aleatorizados que permitam extrapolar benefícios comparativos entre os diferentes tipos de doadores alternativos e concluir pela preferência absoluta de um deles.<sup>11</sup>

Todas as opções alternativas de dadores podem resultar na reconstituição linfohematopoiética eficaz, mas o tempo de *engraftment*, a taxa de falência dos enxertos, a mortalidade associada ao transplante e o risco de recidiva são fatores que variam consoante o dador escolhido. Estes fatores são importantes para a sobrevivência pós-transplante e um conhecimento mais aprofundado de cada um deles deverá contribuir para a escolha do melhor dador alternativo quando um dador HLA-idêntico (familiar ou não) não se encontra disponível.<sup>11</sup>

### 12.1 Dador não aparentado

Atualmente, na Europa, os Alo-SCT com dador não aparentado são mais frequentes do que os Alo-SCT com dador familiar.<sup>62</sup> Os registos internacionais de dadores contam atualmente com mais de 20 milhões de potenciais dadores<sup>1</sup>. Contudo, a identificação destes dadores não aparentados e a colheita subsequente de células estaminais dos mesmos é um processo que demora habitualmente mais de três meses. Em parte devido a este atraso, menos de metade dos dadores encontrados por esta via chegam a ser efetivamente usados.<sup>9</sup>

Estima-se que cerca de 30 a 40% dos doentes tenham um dador não aparentado HLA-idêntico disponível.<sup>63</sup> Contudo, a probabilidade de encontrar um dador não aparentado compatível varia consoante a raça/etnia do doente: 75% para caucasianos<sup>13,64,63</sup>, 30-40% para mexicanos/ americanos da América Central ou do Sul<sup>63</sup> e 15-20% para afro-americanos.<sup>63</sup>

A comparação de resultados entre a utilização de dadores HLA idênticos aparentados e não aparentados tem sido alvo de vários estudos.<sup>45,60,61</sup>

Como é evidente, existe maior diversidade genética entre dadores não aparentados e os respetivos recetores (a nível dos AMH, por exemplo), o que se pode traduzir num maior risco de DEcH ainda que dador e recetor sejam HLA-idênticos (compatíveis em 10/10 alelos).<sup>29</sup>

No entanto, um estudo prospetivo que comparou os resultados de Alo-SCTs com dadores HLA-idênticos não aparentados e familiares em doentes com neoplasias hematológicas malignas<sup>65</sup> afirma não haver diferença significativa entre os dois grupos relativamente aos seguintes parâmetros: sobrevivência global, sobrevivência livre de doença, mortalidade associada ao transplante, recidiva e DEcH aguda.

Para doentes sem dador familiar HLA-idêntico, a melhor hipótese será então um dador não aparentado com os alelos HLA-A, -B, -C e -DRB1 idênticos.<sup>66,64</sup> Se, ao selecionar um dador não aparentado, o *mismatch* for inevitável, é preferível que ele se encontre nos alelos HLA-B ou -C do que no -A ou -DRB1<sup>55</sup>, de acordo com o referido no capítulo anterior.

São necessários mais estudos relativos à permissão de *mismatches*<sup>47</sup>, para que dadores não aparentados com *mismatch* possam ser recrutados com segurança quando dadores HLA-idênticos não estejam disponíveis. Este é um aspeto particularmente importante em populações étnicas e raciais não caucasianas.<sup>13</sup>

O uso de ATG (*anti-thymocyte globulin*) como parte do regime de condicionamento para Alo-SCTs com dadores não aparentados demonstrou permitir tolerância a um máximo de quatro *mismatches* sem um risco claramente aumentado de DEcH ou mortalidade associada ao transplante, resultando possivelmente numa sobrevivência equivalente à dos Alo-SCTs com dadores HLA-idênticos.<sup>55</sup>

Entre utilizar um dador não aparentado com *mismatch* ou recolher células dadoras de cordão umbilical, a opção nem sempre é linear. Em casos de dúvida, os principais critérios utilizados são: a disponibilidade de um dador, a urgência do transplante e a experiência do centro de transplante em causa.<sup>41</sup>

Para Alo-SCTs com dadores não aparentados, estão descritos três importantes fatores de prognóstico independentes: a idade do doente, a idade do dador e o estado da doença. Se por

um lado a idade do doente e o estado da doença já eram conhecidos indicadores de prognóstico em Alo-SCT com dadores familiares<sup>44</sup>, a influência da idade do dador na DEcH aguda, crónica e na sobrevivência global é uma descoberta mais recente.<sup>62</sup> Quanto a este último aspeto, a taxa de sobrevivência global é de 33% em transplantes com dadores com idades entre os 18 e os 30 anos e 25% em transplantes com dadores mais de 45 anos.<sup>62</sup> Conclui-se, portanto, que dadores mais jovens deverão ser preferidos na transplantação com dadores não aparentados.

A seropositividade para Citomegalovírus (CMV) e a igualdade de género dador/recetor são outros dois fatores que, em contexto de transplantes com dadores não aparentados, parecem ter importância. Um recetor CMV positivo transplantado com células de um dador CMV negativo tem uma maior mortalidade não associada a recidiva (NRM - *non relapse mortality*) do que se o transplante fosse com células de um dador CMV positivo, sendo que o mesmo acontece para um recetor CMV negativo/dador CMV positivo. No que diz respeito à igualdade de género, foi também associada a maior incidência de DEcH, NRM e sobrevivência inferior.<sup>41</sup>

Já quanto ao *mismatch* do tipo sanguíneo entre dador e recetor, em tempos apontado como fator prejudicial ao Alo-SCT, sabe-se atualmente que este não significa necessariamente um mau resultado do transplante. Comparando transplantes com compatibilidade ABO e transplantes com *mismatch* ABO, verifica-se uma sobrevivência semelhante, assim como idênticas taxas de DEcH.<sup>67</sup>

## 12.2 Dador Haploidêntico

A transplantação de células estaminais de um pai, um irmão ou um filho, com apenas um haplótipo HLA em comum (ou seja, meio *mismatch*: 3/6 ou 4/8), associou-se inicialmente a elevadas taxas de falência do enxerto e DEcH – complicações que frequentemente causavam morte pouco tempo após o transplante.<sup>9</sup> No entanto, o número de Alo-SCT realizados com dadores haploidênticos tem vindo a aumentar nos últimos anos, devido a novas estratégias de controlo da DEcH e de estimulação do *engraftment*.<sup>60</sup>

As vantagens do uso de dadores haploidênticos comparativamente a dadores não aparentados HLA-idênticos incluem uma maior disponibilidade de dadores, particularmente em populações não caucasianas e um mais rápido acesso aos dadores, o que diminui o tempo de espera pelo transplante, bem como os custos associados.<sup>44,63</sup>

No entanto, os Alo-SCTs com dadores haploidênticos associam-se a um maior risco de recidiva e a uma recuperação imunitária mais demorada.<sup>41</sup>

Atualmente, os principais pontos de discussão no campo da alotransplantação com dador haploidêntico são:

- 1- Critérios de elegibilidade;<sup>60</sup>
- 2- Escolha do dador mais adequado;<sup>60</sup>
- 3- Escolha da melhor plataforma de transplante.<sup>60</sup>

Relativamente ao primeiro ponto, os especialistas concordam que um doente indicado para Alo-SCT sem dador HLA idêntico deve ser sempre considerado para transplante com dador alternativo.<sup>60</sup> Vários estudos retrospectivos<sup>64,68,69</sup> sugerem que a utilização de dadores haploidênticos obtém resultados comparáveis aos de dadores HLA idênticos (familiares ou não aparentados); todavia faltam estudos prospetivos que o comprovem.

Convencionalmente, preconizava-se que o dador fosse do mesmo género que o recetor, já que a aloreatividade contra os antígenos minor de histocompatibilidade codificados pelo cromossoma Y favorecia a ocorrência de DEcH em transplantes com dador feminino e recetor masculino.<sup>60</sup> No entanto, se o dador for um familiar haploidêntico, novos dados sugerem que a incidência de recidiva<sup>60</sup>, DEcH<sup>18</sup> e a NRM<sup>60</sup> diminuem se o haplótipo *mismatched* for de origem materna.

Tal ocorre porque o haplótipo MHC materno não herdado contribui com antígenos HLA a que o cordão umbilical está exposto durante a gravidez, o que pode promover tolerância do sistema imunitário fetal aos antígenos maternos não herdados (NIMA - *Non-Inherited Maternal Antigens*). Por este motivo considera-se a mãe do doente uma das melhores opções para dador nestas situações.<sup>60</sup>

No futuro, perspectiva-se que a tipagem da mãe do dador de progenitores hematopoiéticos num dado transplante possa auxiliar a identificação dos dadores NIMA compatíveis, numa tentativa de diminuir a morbimortalidade pós-transplante.<sup>18</sup>

Por último, a presença de anticorpos anti-HLA dador específico (DSAs - *donor specific antibodies*) no recetor relaciona-se, de um modo geral, com a falência do enxerto, mas esta associação parece ser ainda mais expressiva em transplantes com dador haploidêntico. Os títulos destes anticorpos merecem destaque na previsão da falência do enxerto, sugerindo-se a avaliação e titulação destes anticorpos previamente ao transplante através de *solid phase immunoassay*, o teste mais sensível para o efeito.<sup>60</sup>

Quanto ao terceiro ponto, referente à escolha da “plataforma de transplantação”, conclui-se que a aplicação de transplantes com depleção de células T reduz com sucesso as taxas de falência do enxerto e de DEcH. Contudo, associa-se a maior NRM secundária, a reconstituição imunitária mais lenta e a complicações infecciosas.<sup>60,61</sup>

Ao escolher uma plataforma com depleção de células T, assume-se que o centro de transplantação tem as condições necessárias para a manipulação das células estaminais do enxerto e uma estratégia de imunoterapia pós-transplante que promova a celeridade da reconstituição do sistema imunitário do doente.

Por outro lado, as plataformas sem necessidade de manipulação são bastante atrativas, na medida em que obtêm resultados encorajadores<sup>61</sup>, são menos dispendiosas e não requerem

condições para a manipulação do enxerto. As que estão melhor estabelecidas até à data são as que usam condicionamentos não mieloablativos seguidos de Ciclofosfamida pós-transplante ou regimes mieloablativos seguidos de administração de medula óssea tratada com G-CSF e ainda uma intensa profilaxia da DEcH *in vivo*.<sup>60</sup>

De facto, a transplantação com dadores haploidênticos utilizando regimes de baixa intensidade com administração de Ciclofosfamida pós-tranplante demonstrou menos incidência de DEcH crónica e sobrevivência precoce comparável com a dos Alo-SCTs em que se utilizam dadores não aparentados HLA-idênticos.<sup>64</sup>

Consistentemente com o conhecimento prévio, sabe-se hoje que também os resultados de transplantes com dador haploidêntico em doentes em fase de recidiva são piores do que em doentes em remissão.<sup>60</sup>

### **13. Complicações pós-transplante alogénico**

#### 13.1 Complicações precoces

As altas doses de radio e/ou quimioterapia incluídas nos regimes de condicionamento podem afetar todos os órgãos e tecidos do recetor, provocando efeitos secundários de intensidade variável.<sup>70</sup>

As complicações imediatas mais comuns após um Alo-SCT são:

- Náuseas e vómitos;<sup>70</sup>
- Mucosite oral e gastrointestinal;<sup>70</sup>
- Infeções;<sup>13</sup>
- Doença Hepática Venó-Oclusiva;<sup>13,70</sup>
- Cistite Hemorrágica;<sup>70</sup>



- Pneumonite intersticial.<sup>13</sup>

A mucosite é, a curto prazo, a complicação mais comum dos regimes de condicionamento mieloablativos e do metotrexato usado na prevenção da DEcH. A mucosite orofaríngea é dolorosa, pode envolver a área supraglótica e requerer entubação, enquanto, por sua vez, a mucosite intestinal causa náuseas e diarreia e pode requerer nutrição parentérica.<sup>9</sup>

Outro efeito secundário agudo comum é a doença hepática veno-oclusiva, um síndrome potencialmente fatal caracterizado por hepatomegália, icterícia e retenção de fluídos. A sua fisiopatologia envolve um descolamento do endotélio sinusoidal danificado com consequente obstrução da circulação hepática, afetando os hepatócitos centrolobulares. A doença hepática veno-oclusiva pode ser causada pela TBI, pelo Busulfan, pela Ciclofosfamida ou outros fármacos usados em regimes de condicionamento. A profilaxia desta complicação, através da limitação das doses máximas permitidas dos referidos fármacos, é decisiva, já que não existe tratamento eficaz.<sup>9</sup>

A lesão pulmonar associada ao Alo-SCT ocorre dentro dos primeiros quatro meses após o procedimento e a mortalidade excede os 60%. Os fatores de risco incluem TBI e DEcH aguda, o que sugere que os linfócitos dadores tenham os pulmões como alvo. Em conjunto com neutrófilos e linfócitos, o fator de necrose tumoral (TNF – *Tumor Necrosis Factor*) contribui para a afeção pulmonar, daí que o tratamento com Etanercept (agente inibidor do TNF), combinado com corticoterapia, possa diminuir esta complicação se usado atempadamente.<sup>9</sup>

### 13.2. Complicações infecciosas

As infeções representam uma importante causa de morbidade e mortalidade dos doentes submetidos a Alo-SCT, sendo causa primária de morte em 17-20% dos casos.<sup>71</sup>

Os principais fatores de risco para complicações infecciosas são: o estado da doença prévia; as comorbilidades do paciente; o grau de neutropenia; a lesão/disrupção das barreiras

anatómicas (mucosite e introdução de cateteres); depressão da função dos linfócitos T e B e terapêutica imunossupressora administrada.<sup>70</sup>

As complicações infecciosas estão empiricamente relacionadas com a recuperação imunitária do doente após o transplante.

Sabe-se que esta recuperação ocorre de forma sequencial, isto é, a recuperação de neutrófilos, monócitos e células NK ocorre em primeiro lugar e é seguida pela recuperação de plaquetas e eritrócitos. Só depois se verifica a recuperação do *pool* de linfócitos, primeiro os T CD8+, depois os linfócitos B e, por último, os linfócitos T CD4+.<sup>71</sup>

Os regimes de condicionamento mieloablativos lesam a superfície mucosa, portas de entrada aos agentes patogénicos comensais que habitam o trato gastrointestinal<sup>71</sup>, além das lesões cutâneas causadas por cateteres que podem facilitar a entrada de comensais da pele. Consequentemente, as infeções no período pós-transplante imediato apresentam-se, por norma, como uma neutropenia febril, cuja gravidade depende do grau e duração da neutropenia, bem como do grau de lesão mucosa.<sup>71</sup>

Compreende-se assim que, utilizando regimes com mínima supressão medular e mínima toxicidade mucosa, o risco de infeção no período pós-transplante imediato seja reduzido.<sup>13,70,71</sup>

Tanto os recetores de regimes de alta como os de baixa intensidade sofrem depleção linfocítica praticamente total, daí que a reconstituição da população de linfócitos tenha que ser feita através dos linfócitos maduros e das células progenitoras contidos no enxerto. Ao contrário da recuperação das outras linhagens hematopoiéticas, que dura apenas algumas semanas, a recuperação linfocítica é um processo mais prolongado.<sup>71</sup>

A reconstituição da imunocompetência do doente requer no mínimo alguns meses. Por vezes, a imunodeficiência persiste anos após o transplante.<sup>71</sup>

É possível dividir a suscetibilidade dos pacientes às infecções em três fases: fase I, fase II e fase III.

Na fase I (pre-*engraftment*, até 15-45 dias após transplante), com neutropenia e lesão da mucosa, os riscos mais significativos associam-se ao desenvolvimento de bacteriemia, infecções fúngicas com *Candida* e *Aspergillus* e à reativação do herpesvírus (HSV). Estas complicações podem ser previstas com base em achados clínicos de mucosite e/ou através da contagem absoluta de neutrófilos.<sup>71</sup>

Na fase II (30-100 dias após o transplante), destaca-se a deficiente imunidade celular, maioritariamente associada a riscos aumentados de infecção por CMV, *Pneumocystis jirovecii* e *Aspergillus*.<sup>71</sup>

Os regimes de baixa intensidade associam-se a menor incidência de infecções a curto prazo (fase I) comparativamente aos regimes mieloablativos. Contudo, o risco de infecções mais tardias (fase II) parece ser equivalente.<sup>9,71</sup>

Existe ainda uma terceira fase, fase III (mais de 100 dias após ALo-SCT), em que os doentes com DEcH crónica e os recetores de transplante de dadores alternativos permanecem sob risco de infecção. Os agentes patogénicos mais comuns nesta fase são CMV, VZV (*Varicella Zoster Virus*) e bactérias encapsuladas, como o *Streptococcus pneumoniae*.<sup>71</sup>

Não existem ainda marcadores laboratoriais fiáveis da reconstituição imunitária que sejam preditores do risco infeccioso de um paciente. A Tabela 4 apresenta um resumo das complicações infecciosas após alotransplante.

**Tabela 4:** Complicações infecciosas após alotransplante

Fase	I: Pré-engraftment (dias 0 a +30)	II: Pós-engraftment (dias 30 a +100)	III: Fase tardia (dias 100 a >365)
Fatores de risco	Neutropenia Perda da função de barreira Depleção de células T e B	Depleção de células T e B DEcH aguda e seu tratamento	Depleção de células T e B DEcH aguda e seu tratamento
Bactérias	Bacilos Gram negativos Organismos Gram positivos		Bactérias encapsuladas
Fungos	<i>Aspergillus</i> spp <i>Candida</i> spp	<i>Aspergillus</i> spp	<i>Aspergillus</i> spp <i>Pneumocystis jiroveci</i>
Vírus	<i>Herpes simplex vírus</i>	Citomegalovírus <i>Vírus Epstein Barr</i>	<i>Varicella zoster vírus</i> Outros vírus: HHV-6, respiratórios e entéricos

(Adaptada de: Apperley et al “The EBMT handbook: haematopoietic stem cell transplantation. Chapter 11.” 2012)<sup>70</sup>

São necessários estudos para determinar que testes de monitorização da reconstituição do sistema imunitário poderão ser realizados com valor prognóstico e ainda se o sucesso do Alo-SCT poderia alterar-se com terapêuticas profiláticas administradas na dependência dos resultados desses testes.<sup>71</sup>

### 13.3. Doença Enxerto contra Hospedeiro (DEcH)

A DEcH é a causa mais importante de morbidade, mortalidade e diminuição da qualidade de vida após um alo-SCT.<sup>8,13</sup>

A incidência, gravidade e duração da DEcH varia substancialmente de doente para doente. As diferenças no fenótipo desta doença podem ter origem tanto em fatores hereditários como em fatores ambientais, incluindo: tipo de doença, estado de doença, história de tratamento, compatibilidade HLA, idade, género do dador e paciente (e igualdade de género entre ambos) e tipo de condicionamento pré-transplante aplicado.<sup>10</sup>

É amplamente aceite que a DEcH é mais frequente e mais grave em transplantes HLA-*mismatched*, no entanto esta complicação também ocorre com uma frequência até 60% em doentes que receberam transplante de um dador HLA-idêntico.<sup>1</sup>

A DEcH é uma resposta imune acentuada e possivelmente estimulada pela lesão resultante do condicionamento usado antes do Alo-SCT<sup>72</sup>, cujas bases fisiopatológicas já foram anteriormente referidas. Esta lesão ocorre primariamente a nível do trato gastrointestinal, onde as placas de Peyer têm um papel central na atração de células T dadoras após a lesão, estando inclusive provado que a inativação das quimiocinas ou moléculas de adesão que atraem as células T dadoras para as placas de Peyer eliminam, em modelos animais, a maior parte das mortes causadas por DEcH.<sup>9</sup>

A DEcH pode ser hiperaguda, aguda ou crónica, caracterizadas por três síndromes clínicos distintos.

### 13.3.1 DEcH hiperaguda

A DEcH hiperaguda é definida por alguns autores<sup>42,73</sup> como o diagnóstico de DEcH aguda nos primeiros catorze dias após transplante. A sua incidência global varia entre 14 e 38% dos Alo-SCTs realizados.<sup>42</sup>

As suas principais manifestações clínicas são: febre, rash cutâneo, disfunção hepática e diarreia.<sup>42</sup>

Entre os fatores de risco para DEcH hiperaguda encontram-se: dador *mismatched*; regime de condicionamento mieloablativo; mais do que cinco ciclos de QT prévios; discrepância de género dador-recetor e descontinuação brusca da imunossupressão pós-transplante. Por outro lado, o tratamento prévio do dador com G-CSF parece ser um fator preventivo desta complicação imediata da alotransplantação.<sup>42</sup>

Os critérios de diagnóstico da DEcH hiperaguda são:

- 1- Febre inexplicada antes do *engraftment*, com temperaturas superiores a 38.3°C em duas ocasiões (cada uma com duração superior a três dias), não resolvida com um mínimo de três dias de terapêutica com antibióticos e antifúngicos, incluindo anfotericina B;<sup>42</sup>
- 2- Desenvolvimento rápido de rash cutâneo, antes do *engraftment*, tendo excluído outras causas (por exemplo: toxidermia);<sup>42</sup>
- 3- Disfunção hepática antes do *engraftment*, evidente sobretudo por um aumento dos valores da fosfatase alcalina e da bilirrubina, após exclusão de outras causas (doença veno-oclusiva, toxicidade hepática, insuficiência cardíaca direita, etc);<sup>42</sup>
- 4- Desenvolvimento de diarreia mucóide esverdeada com mais do que 5 dejeções por dia e excluindo a hipótese de mucosite.<sup>42</sup>

O diagnóstico estabelece-se com a presença do primeiro critério referido e um dos outros três, com ou sem confirmação histológica, e é reforçado pela resolução do quadro com a administração de corticoterapia.<sup>42</sup>

O uso de corticosteroides em alta dose (3-5mg/kg/dia) durante cinco dias é comprovadamente eficaz no tratamento da DEcH hiperaguda.<sup>42</sup>

Está demonstrado que a DEcH hiperaguda se associa mais tarde ao desenvolvimento de DEcH aguda e crónica, assim como a uma menor taxa de resposta à terapêutica de primeira linha e a um aumento na NRM em doentes transplantados com um enxerto de dador familiar HLA *mismatched* ou dador não aparentado HLA idêntico.<sup>42</sup>

### 13.3.2 DEcH aguda

A DEcH aguda tem início até cem dias após a transplantação.<sup>1</sup>

Mesmo com a tipagem HLA de alta resolução e com a compatibilidade HLA classes I e II entre dador e recetor, a incidência de DEcH aguda grau III-IV pode chegar aos 30%.<sup>21</sup>

Clinicamente, a DEcH apresenta um rash morbiliforme (exemplificado na Figura 8), exfoliativo, pruriginoso e doloroso, que conflui progressivamente podendo atingir toda a superfície corporal.<sup>5</sup> Febre<sup>5</sup>, náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia<sup>9</sup> são outros sintomas que podem estar presentes. O doente habitualmente desenvolve também eosinofilia e linfocitose, podendo seguir-se a curto prazo o aparecimento de hepatoesplenomegália, dermatite exfoliativa, enteropatia perdedora de proteínas, aplasia medular, edema generalizado, suscetibilidade aumentada a infeção e morte.<sup>5</sup>



**Figura 8:** Exantema morbiliforme da DEcH aguda (Retirada de: JR Passweg et al “Hematopoietic Stem Cell Transplantation: a review and recommendations for follow up care for the general practitioner” 2012) <sup>1</sup>

A DEcH está dividida em graus, de acordo com um sistema de estratificação dependente dos seguintes fatores: envolvimento cutâneo, gravidade da diarreia, nível de bilirrubina e, em formas severas, o decréscimo no *performance status* do doente.<sup>1</sup>

O tratamento de primeira linha para a DEcH estabelecida são os corticosteroides, com os quais se obtém uma taxa de resposta de 30 a 50%. No entanto, os resultados em doentes com DEcH aguda, severa, resistente à corticoterapia são fracos e a sobrevivência global a dois anos é baixa (10%). Neste grupo particular de doentes, recorrer à terapêutica com células estaminais

mesenquimatosas (MSCs) poderá ser uma opção segura e eficaz, tendo-se obtido uma sobrevivência de 52% num estudo recentemente realizado. O tipo de dador (HLA *matched* ou *mismatched*) não pareceu ter influência no sucesso do tratamento.<sup>74</sup>

### 13.3.3. DEcH crónica

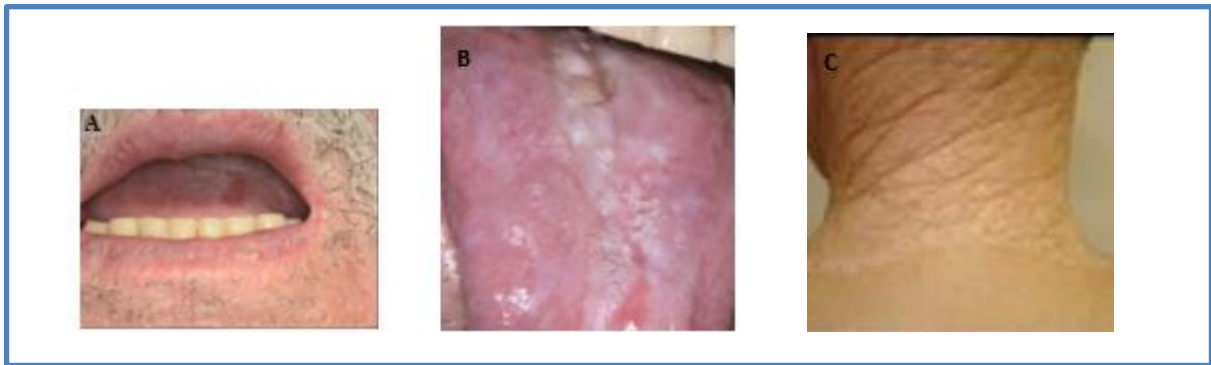
A DEcH crónica define-se normalmente como ocorrendo mais de cem dias após transplante. Embora a DEcH crónica seja mais provável em doentes que tenham tido previamente DEcH aguda, nem todos os casos de DEcH aguda evoluem para uma fase crónica, e a DEcH crónica pode desenvolver-se na ausência de DEcH aguda prévia.<sup>13</sup>

A DEcH crónica afeta aproximadamente 30 a 70% dos sobreviventes a longo prazo, dependendo do grau de *mismatch* HLA entre dador e recetor e da fonte de progenitores hematopoiéticos escolhida.<sup>8</sup>

A DEcH crónica está associada à perda de auto-tolerância<sup>75</sup> e frequentemente assemelha-se a doenças autoimunes, como a Esclerodermia ou o Síndrome de Sjögren.<sup>9</sup>

Os principais efeitos da doença incluem destruição de glândulas tubulo-alveolares e ductos na pele, glândulas salivares e lacrimais e epitélio respiratório, assim como a destruição dos ductos biliares intrahepáticos.<sup>10</sup> Deste modo, apesar de a pele e as membranas mucosas serem os órgãos mais comumente afetados na DEcH crónica (Figura 9)<sup>76</sup>, o seu quadro clínico pode incluir: bronquiolite *obliterans* (doença pulmonar obstrutiva), queratoconjuntivite *sicca*, estenose esofágica, mal-absorção, hepatite colestática, pancitopenia e imunossupressão generalizada.<sup>9</sup>

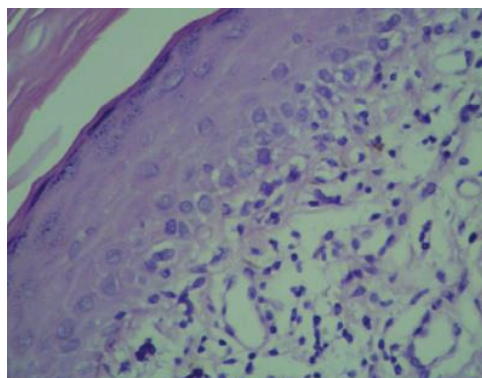




**Figura 9:** Manifestações clínicas cutâneo-mucosas de DEcH crônica: A – Limitação da abertura bucal devida a esclerose; B- Lesões liquenóides na língua; C- Líquen escleroso e atrófico não genital (A e B retiradas de: Margaix-Muñoz et al. “Graft-versus-host disease affecting oral cavity . A review” 2015 <sup>77</sup>; C retirada de: Ballester-Sánchez et al. “Review of Cutaneous Graft-vs-Host Disease” 2016 <sup>76</sup>)

Tal como a DEcH aguda, a DEcH crônica está estratificada num sistema clínico que considera o envolvimento de cada órgão.

Histologicamente, uma biópsia de pele revelará numa fase inicial de DEcH crônica um intenso infiltrado inflamatório mononuclear com alterações destrutivas na junção dermo-epidérmica, acompanhada por acantose irregular, hiperqueratose ou atrofia, conforme o exemplo da Figura 10. A evolução da doença manifesta-se por crescente fibrose e esclerose dérmica.<sup>10</sup>



**Figura 10:** DEcH crônica com acantose e infiltrado em banda na derme papilar (100x) (Retirado de: Matos Silva et al. “Manifestações tegumentares da doença enxerto contra hospedeiro em pacientes transplantados de medula óssea” 2005)<sup>78</sup>

Os doentes com DEcH crónica têm um *performance status* e uma qualidade de vida inferiores a outros doentes, assim como um risco aumentado de mortalidade<sup>8</sup>, tendo em conta o possível aparecimento de: stress respiratório, contraturas articulares, perda de visão e infertilidade.<sup>37</sup>

São vários os fatores de risco descritos para DEcH, entre os quais:

- A utilização de dadores não aparentados ou com *mismatch*;<sup>8,13</sup>
- O aumento da idade do recetor;<sup>8,13</sup>
- O uso de progenitores hematopoiéticos com origem em sangue periférico;<sup>13</sup>
- Doentes com LMC <sup>8,13</sup> ou síndrome mielodisplásico;<sup>13</sup>
- Dador feminino para recetor masculino;<sup>2</sup>
- Infeção;<sup>13</sup>
- Lesão do tecido hospedeiro *a priori* devida à doença subjacente;<sup>13</sup>
- Terapêutica prévia do recetor;<sup>13</sup>
- Lesão tecidual associada ao regime de condicionamento (TBI<sup>8</sup>);<sup>13</sup>
- A idade do dador (mais de 30 anos);<sup>8</sup>
- DEcH aguda prévia;<sup>8</sup>
- Contagem de plaquetas inferior a  $50 \times 10^9/L$  ao 100º dia pós transplante.<sup>8</sup>

A profilaxia e o tratamento da DEcH baseiam-se na administração de Ciclosporina, Tacrolimus ou outros Inibidores da Calcineurina. Estes fármacos podem ser usados em monoterapia ou em combinação com outros agentes, tais como: Sirolimus, Metotrexato ou Rituximab.<sup>79</sup>

Desde o final dos anos oitenta que a Ciclosporina e o Metotrexato constituem o regime imunossupressor mais comum para a prevenção da DEcH.<sup>80</sup> Contudo, a dose administrada, a concentração alvo no sangue do doente e a frequência de administração variam consoante os protocolos e não foram ainda otimizados.

No início, as doses de Ciclosporina rondavam os 10-20 mg/kg/dia, mas foram reduzidas para 3-5 mg/kg/dia devido à alta toxicidade verificada. Além disso, demonstrou-se que altas doses de Ciclosporina reduzem a incidência de DEcH severa, mas também diminuem o efeito EvT, o que por sua vez aumenta a probabilidade de recidiva.<sup>80</sup>

Quanto à duração ótima da administração destes fármacos, alguns estudos remetem para a descontinuação segura da terapêutica entre o 60º e o 90º dia pós-transplante<sup>81,82</sup>, enquanto outros autores<sup>80,83</sup> sugerem melhores resultados (menores frequências de DEcH aguda e crónica) quando se mantém a imunossupressão durante todo o primeiro ano pós-transplante.

Olsson et al.<sup>80</sup> concluiu que a profilaxia da DEcH com Ciclosporina em baixa dose (1 mg/kg/dia) e em curta duração (seis meses) resulta em taxas aumentadas de DEcH aguda e crónica, menor recidiva, NRM semelhante e melhor sobrevivência global e livre de doença em comparação com regimes de Ciclosporina a 5-7.5 mg/kg/dia durante doze meses.

De facto, o esquema profilático mais utilizado é a associação de um Inibidor da Calcineurina (Ciclosporina A) diariamente durante seis meses<sup>5</sup> e um esquema curto de Metotrexato (15mg/m<sup>2</sup> iv no dia 1, seguido de 10 mg/m<sup>2</sup> nos dias 3,6 e 11). No entanto, o Metotrexato associa-se a alguns efeitos secundários, incluindo mucosite severa, *engraftment* tardio, toxicidade hepática e renal, pelo que recentemente se propôs a sua substituição por Micofenolato Mofetil, no contexto de transplantes em que se utilizam regimes de condicionamento de baixa intensidade.<sup>84-87</sup>

Apesar das estratégias profiláticas atuais, a mortalidade permanece alta e o tratamento para a DEcH estabelecida difícil, com apenas 40% dos doentes a obter uma resposta duradoura à corticoterapia. Assim, o desenvolvimento de uma melhor prevenção farmacológica da DEcH é de máxima importância nos dias de hoje. Atualmente, o melhor método profilático conhecido é a remoção de todas as células T pós-tímicas das células dadoras, sejam elas provenientes da MO ou do SP.<sup>5</sup>

Recentemente, demonstrou-se também que a adição de uma globulina anti-timócito (anti-linfócitos T) Fresenius (ATG-F) ao protocolo convencional de Ciclosporina A e Metotrexato resulta numa menor incidência de DEcH aguda e crónica <sup>41, 59, 64, 62</sup>. Se, por um lado, alguns autores <sup>59</sup> sugerem uma melhor sobrevivência global em doentes a fazer profilaxia combinada com ATG-F, outros propõem que o seu efeito positivo seja contrabalançado pelo aumento da recidiva, o que possivelmente resultará em taxas de sobrevivência global semelhantes.<sup>41,62</sup>

A maior parte dos doentes que desenvolvem DEcH crónica leve ou moderada pós-transplante acaba por conseguir ultrapassar esta complicação e recupera. Infelizmente tal só acontece em cerca de um terço dos doentes com DEcH crónica grave.<sup>37</sup>

A DEcH crónica continua a ser a complicação major do Alo-SCT e é a principal causa de NRM em doentes que sobrevivem mais do que dois anos.<sup>79</sup> O maior risco de NRM entre doentes com DEcH crónica persiste no mínimo durante os primeiros 15 anos pós-transplante.<sup>37</sup>

Vários fatores contribuem para o risco aumentado de NRM em doentes com DEcH crónica, entre os quais: *performance status* comprometido, trombocitopenia, bilirrubina elevada, envolvimento extenso da pele e escassa resposta ao tratamento de primeira linha.<sup>37</sup>

A NRM no primeiro e terceiro ano pós-transplante melhorou significativamente tanto em doente com como sem DEcH crónica. Esta tendência é possivelmente justificada pelas

recentes melhorias no sistema de cuidados pós-transplante. A diminuição da gravidade da DEcH aguda e do número de mortes por infeções pós-transplante podem também ter contribuído para a diminuição da NRM.<sup>79</sup>

O aumento do uso de enxertos provenientes de sangue periférico pode ter afetado a NRM por permitir multiplicação neutrofílica mais rápida e recuperação mais precoce da imunidade contra fungos e bacterianas. A sobrevivência global a longo prazo não tem registado, no entanto, aumentos significativos. Tal deve-se ao facto de a recidiva continuar a ser a principal causa de morte destes doentes ao longo do tempo.<sup>79</sup>

A mortalidade relacionada com o transplante é outro fator determinante para os resultados do Alo-SCT, com uma incidência que varia entre 10 e 50%, dependendo da doença, da idade do doente e do tipo de tratamento. O tipo de tratamento pode ser modificado adaptando o regime de condicionamento, a profilaxia DEcH e a terapêutica de suporte às características biológicas do doente e às condições da doença subjacente.<sup>36</sup>

#### 13.4. Complicações tardias

Com o aumento da sobrevivência global dos doentes pós-transplante, verificou-se também um maior desenvolvimento de complicações a longo prazo. Estas complicações podem causar significativa morbilidade, prejudicar a qualidade de vida e contribuir para a mortalidade dos doentes recetores de Alo-SCT. A esperança média de vida destes doentes é comprovadamente inferior à esperada na população em geral, sendo as neoplasias secundárias, as infeções e as disfunções orgânicas causas tardias comuns de mortalidade.<sup>33</sup>

As infeções bacterianas, víricas ou fúngicas podem ocorrer meses ou anos após o transplante em doentes com reconstituição imunitária tardia. As bactérias encapsuladas em particular (tais como: *N. meningitidis*, *H.influenzae* e *S.pneumoniae*) podem causar infeções de evolução rápida e potencialmente fatal, de tal modo que doentes com DEcH crónica devem

receber antibioterapia profilática para estes microorganismos pelo menos enquanto estiver também a ser administrada terapia imunossupressora. Por sua vez, a infecção pulmonar ou sinusal por *Aspergillus* é a complicação infecciosa de origem fúngica mais comumente descrita. No campo dos vírus, a reativação tardia do CMV tem sido reportada mais frequentemente nos últimos anos devido ao crescente uso de fármacos antivíricos profiláticos imediatamente após o transplante.<sup>33</sup>

Relativamente às disfunções orgânicas, a doença renal crónica (definida como TFG inferior a 60ml/min/1.73m<sup>2</sup>) é um exemplo particularmente significativo com uma incidência que pode atingir os 65%. A doença renal crónica manifesta-se habitualmente entre os seis e os doze meses pós-transplante, sendo as suas apresentações clínicas mais típicas: microangiopatia trombótica, glomerulonefrite ou síndrome nefrótica. A função renal deve por isso ser avaliada clínica e laboratorialmente seis meses e um ano após o transplante e, no mínimo, anualmente daí em diante.<sup>33</sup>

As complicações respeitantes ao sistema endócrino são também de suma importância. O hipotireoidismo pode ocorrer em 7-15% dos doentes no primeiro ano pós-transplante, mas é a disfunção gonadal que mais se destaca nestes doentes com uma prevalência de 92% em homens e 99% em mulheres recetoras de transplantação. O grau da disfunção gonadal depende da idade, do género, da terapêutica prévia e dos regimes de condicionamento aplicados. A infertilidade é consequentemente um problema frequente para estes doentes.<sup>33</sup>

As neoplasias secundárias são uma complicação tardia e devastadora do Alo-SCT.<sup>33</sup> Podem ocorrer tanto neoplasias sólidas (nomeadamente: pele, mucosa oral, cérebro, tiróide e osso) como hematopoiéticas, como por exemplo: doenças linfoproliferativas (leucemia) ou SMD.<sup>9</sup>

Os doentes recetores de um Alo-SCT têm um risco aumentado de desenvolver tumores sólidos duas ou três vezes superior ao risco de uma população com indivíduos da mesma idade, género e região.<sup>33</sup>

Os fatores de risco para neoplasias secundárias incluem: radioterapia, duração e intensidade da imunossupressão, assim como a DEcH crónica.<sup>33</sup>

Os sobreviventes de Alo-SCTs devem evitar a exposição a carcinogéneos, principalmente tabaco. O seguimento destes doentes deve ser feito indefinidamente no sentido da deteção precoce de lesões pré-malignas e malignas.<sup>9</sup>

Por último mas não menos importante, a depressão, a ansiedade e outras síndromes psiquiátricas são frequentemente observados em doentes recetores de Alo-SCTs. A vigilância a nível psicossocial deve ser igualmente assegurada, pelo menos seis e doze meses após o transplante e, no mínimo, anualmente daí em diante.<sup>33</sup>

#### **14. Aplicação de células mesenquimatosas no Transplante Alogénico de Progenitores Hematopoiéticos**

As células mesenquimatosas estromais, também chamadas células estaminais mesenquimatosas (MSCs) são progenitores pluripotentes, descritos primeiramente por Caplan em 1991.<sup>88</sup>

Estas células foram inicialmente isoladas da medula óssea e caracterizadas pela sua capacidade de se diferenciarem em linhagens adipogénicas, condrogénicas e osteogénicas. Hoje sabe-se que as MSCs são células pluripotentes, capazes de se diferenciarem *in vivo* e *ex vivo* em células das três camadas germinativas: ecto, meso e endoderme.<sup>74,88</sup>

As MSCs têm também a particularidade de migrarem para os locais de inflamação. No contexto específico da DEcH verificou-se que as MSCs se direcionam rapidamente e em primeiro lugar para os pulmões e logo depois migram para outros órgãos afetados pela doença,

incluindo fígado, esôfago, estômago, intestino delgado e cólon.<sup>89</sup> Mais tarde, utilizando um modelo animal de DEcH aguda, demonstrou-se que as MSCs podem também migrar para o timo.<sup>90</sup>

O grau de inflamação e os diferentes estados de doença parecem afetar a distribuição de MSCs.<sup>88</sup>

Para além disso, em alguns microambientes específicos, as MSCs podem ter capacidades reparativas; a título de exemplo: podem diferenciar-se em células epiteliais pulmonares no contexto de uma lesão pulmonar ou em cardiomiócitos após um enfarte agudo do miocárdio.<sup>88</sup>

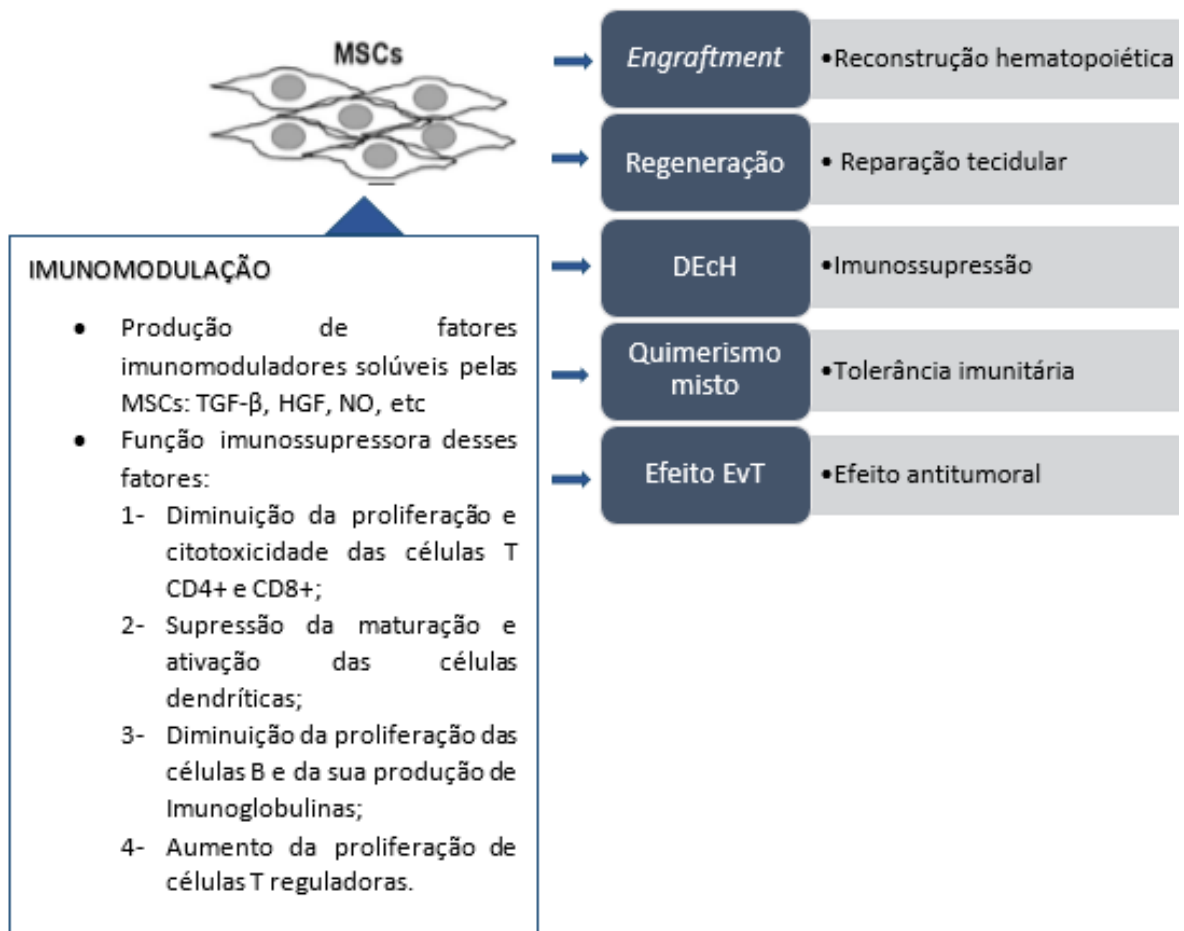
Por último, as MSCs partilham a localização na MO com as células progenitoras hematopoiéticas e produzem fatores que recrutam as mesmas, contribuindo para a promoção do processo hematopoiético.<sup>88</sup>

As propriedades únicas de imunomodulação e de regeneração de tecidos das células mesenquimatosas, cuja compreensão evidencia o seu potencial como ferramenta terapêutica, encontram-se representadas na Figura 11.<sup>91</sup>

Interagindo com várias células imunitárias e secretando mediadores solúveis em diferentes microambientes, as MSCs suprimem a proliferação e ativação dos linfócitos T e B. Por outro lado, as células T reguladoras (Treg), cruciais na indução de tolerância imunitária, são estimuladas pelas MSCs.<sup>88</sup>

Estudos mais recentes acrescentam que as MSCs são sensores de inflamação podem agir como pró e como anti-inflamatórias, como estimuladoras do sistema imunitário ou como imunossupressoras, dependendo do contexto.<sup>88</sup>





**Figura 11:** Aplicações terapêuticas possível das MSCs na alotransplantação, baseadas nas suas propriedades imunomoduladoras e de regeneração de tecidos. MSCs - *mesenchymal stem cells*; TGF- $\beta$  - *transforming growth factor- $\beta$* ; HGF – *hepatocyte growth factor*; NO – *nitric oxide*; DEcH – Doença enxerto contra Hospedeiro; EvT – Enxerto versus Tumor (Adaptada de Kim et al. “The potencial use mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation.” 2013)<sup>91</sup>

A *International Society for Cellular Therapy* (ISCT) listou os marcadores conhecidos para a identificação das MSCs. Os critérios mínimos utilizados hoje em dia para definir uma MSC são:

- 1- Aderência ao plástico em culturas *in vitro*;<sup>88</sup>
- 2- Antígenos de superfície positivos: CD105, CD73, CD90 e negativos: CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79alfa, CD19 e HLA-DR;<sup>88</sup>

### 3- Diferenciação em osteoblastos, adipócitos e condrócitos *in vitro*.<sup>88</sup>

Atualmente, devido à capacidade de modular as respostas imunológicas, promover a hematopoiese e reparar tecidos, as MSCs têm sido altamente usadas para tratar doenças com influência imunitária como: Doença de Crohn, Artrite Reumatóide, Diabetes e Esclerose Múltipla. A aplicação clínica mais bem sucedida das MSCs foi verificada nas doenças hematológicas, onde se usam principalmente para: promover o *engraftment* das células estaminais hematopoiéticas, tratar a falência ou má função do enxerto e ainda na prevenção e tratamento da DEcH.<sup>88</sup>

Quanto a este último ponto, a eficácia das MSCs na profilaxia da DEcH varia consoante os estudos.<sup>92-94</sup> Além da ação profilática, recentemente verificou-se uma boa ação terapêutica das MSCs na DEcH aguda. Supõe-se que, por exemplo, as MSCs diminuam a incidência e gravidade de DEcH crônica em doentes com DEcH aguda pela melhoria da função tímica.<sup>88</sup>

No campo da doença hematológica, MSCs têm principalmente origem na medula óssea e no cordão umbilical. No entanto, as MSCs constituem menos de 0.01% da população celular total residente na MO, sendo esta a maior limitação ao uso clínico destas células.<sup>88</sup>

O número de dias de transplante necessário, a dose de células a administrar em cada dia de transplante e as possíveis interações destas células com outros fármacos são tópicos que requerem futuramente investigação mais detalhada.<sup>74</sup>

## Conclusão

A recente investigação científica na área do Alo-SCT tem levado a significativas melhorias nos resultados deste procedimento e levado, por consequência, a que este seja mais frequentemente equacionado na prática clínica.

O grande objetivo consiste na gestão clínica dos fatores que influenciam o sucesso de um Alo-SCT, no sentido da otimização de cada um deles e do resultado do transplante no geral.

Quanto à escolha da fonte de células progenitoras, entre MO ou SP, essa decisão depende sempre do dador e esse não parece ser um fator com impacto na sobrevivência do doente. Alternativamente, pode recorrer-se a células de cordão umbilical, principalmente em casos de necessidade urgente de transplante, por ser uma fonte de células com disponibilidade imediata.

O dador ideal é um gêmeo ou familiar HLA-idêntico, que a grande maioria dos doentes não tem. O aparecimento de hipóteses alternativas de dador estendeu a possibilidade de transplante a quase todos os doentes, sendo os mais recentes avanços relativos ao uso de dadores HLA *mismatched* (familiares haploidênticos ou células de cordão umbilical). A escolha do tipo de dador HLA não-idêntico deverá ser sempre pensada individualmente para cada doente.

Para além disso, os regimes de condicionamento ultimamente desenvolvidos (baixa intensidade) permitem um *engraftment* adequado e potenciam o efeito EvT, associando-se a um menor risco de mortalidade e a menos efeitos secundários, o que foi fundamental na abertura da possibilidade de transplante a inúmeros doentes, de idade mais avançada e com maior número de outras patologias associadas.

Por último, o controlo das complicações pós-transplante, através da sua profilaxia e tratamento adequados é também uma área em desenvolvimento e cujos progressos têm tido impacto significativo na morbimortalidade destes pacientes. Sendo a DEcH a principal

complicação destes transplantes, destaca-se, por exemplo, que a adição de uma globulina anti-timócito ao protocolo profilático clássico de DEcH (Ciclosporina e Metotrexato) demonstrou diminuir a incidência de DEcH aguda e crónica, o que poderá traduzir-se numa melhor sobrevivência global.

Apesar das várias publicações existentes no domínio do transplante alogénico de progenitores hematopoiéticos, este tema continua a suscitar interesse da comunidade científica, pelo seu potencial de evolução e desenvolvimento, mas principalmente pelo benefício prático que cada nova melhoria pode trazer ao prognóstico (à partida, mau) dos doentes indicados para Alo-SCT. Como tal, reuni a informação mais atual de modo a permitir prestar o melhor aconselhamento e os melhores cuidados a estes doentes.

## **Agradecimentos**

Um especial agradecimento à Professora Doutora Ana Bela Sarmiento, minha orientadora, e à Professora Doutora Catarina Geraldês, co-orientadora, por todo o apoio, disponibilidade, conhecimento científico, opiniões, críticas e sugestões sem os quais não teria sido possível a realização deste trabalho.

## Referências

1. Passweg JR, Halter J, Bucher C, et al. Hematopoietic stem cell transplantation: A review and recommendations for follow-up care for the general practitioner. *Swiss Med Wkly.* 2012;142(October):1-15. doi:10.4414/smw.2012.13696.
2. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant.* 2016;(January):1-7. doi:10.1038/bmt.2016.20.
3. Thomas ED, Lochte HL, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous Infusion of Bone Marrow in Patients Receiving Radiation and Chemotherapy. *N Engl J Med.* 1957;(257):491-496.
4. Thomas ED, Lochte HL, Cannon JOEH, Sahler OD, Ferrebee JW. Supralethal Whole Body Irradiation And Isologous Marrow Transplantation In Man. *J Clin Invest.* 1959.
5. Chinen J, Buckley RH. NIH Public Access Transplantation immunology: Solid Organ and bone marrow. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;125:1-26. doi:10.1016/j.jaci.2009.11.014. Transplantation.
6. Gratwohl A, Baldomero H, Aljurf M, et al. Hematopoietic stem cell transplantation: A global perspective. *JAMA.* 2011;303(16):1617-1624. doi:10.1001/jama.2010.491. Hematopoietic.
7. Park M, Seo JJ. Role of HLA in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Bone Marrow Res.* 2012;2012:1-7. doi:10.1155/2012/680841.
8. Ozawa S, Nakaseko C, Nishimura M, 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. 2007;142-151. doi:10.1111/j.1365-2141.2007.06543.x.

9. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2006;354(17):1813-1826. doi:10.1056/NEJMra052638.
10. Hansen JA, Petersdorf EW, Lin MT, et al. Genetics of allogeneic hematopoietic cell transplantation. Role of HLA matching, functional variation in immune response genes. *Immunol Res.* 2008;41(1):56-78. doi:10.1007/s12026-007-0043-x.
11. Kekre N, Antin JH. Hematopoietic stem cell transplantation donor sources in the 21st century : choosing the ideal donor when a perfect match does not exist Hematopoietic stem cell transplantation donor sources in the 21st century : choosing the ideal donor when a perfect ma. *Hematology.* 2014;124(3):334-343. doi:10.1182/blood-2014-02-514760.
12. MacLean AL, Lo Celso C, Stumpf MP. Stem Cell Population Biology: Insights from Haematopoiesis. *Stem Cells.* 2016. doi:10.1002/stem.2508.
13. Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE, Heslop H, Weitz J, Anastasi J. *Hematology: Basic Principles and Practice.* 6th ed. (Elsevier, ed.); 2013.
14. Broeren MAC, Bahc S, Vader HL, Arents NLA. Screening for Urinary Tract Infection with the Sysmex UF-1000i Urine Flow Cytometer □. 2011;49(3):1025-1029. doi:10.1128/JCM.01669-10.
15. Wang J, Zhang Y, Xu D, Shao W, Lu Y. Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the Diagnosis of Urinary Tract Infection. 2010:577-582. doi:10.1309/AJCP1GT2JXOCQBCZ.
16. Murphy K, Travers P, Walport M. *Janeway's Immunobiology.* 8th Editio. Garland Science; 2012.
17. American Cancer Society. Stem Cell Transplant for Cancer Why Are Stem Cell

- Transplants Used as Cancer Treatment? [documento online] 2016 [consultado a 30/07/2016]. Disponível em: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/stem-cell-transplant.html>
18. Petersdorf EW. Genetics of graft-versus-host disease: The major histocompatibility complex. *Blood Rev.* 2013;27(1):1-12. doi:10.1016/j.blre.2012.10.001.
  19. Turpeinen H, Ojala PJ, Ojala K, Miettinen M, Volin L, Partanen J. Minor histocompatibility antigens as determinants for graft-versus-host disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Int J Immunogenet.* 2013;40(6):495-501. doi:10.1111/iji.12051.
  20. Spierings E. Minor histocompatibility antigens: Past, present, and future. *Tissue Antigens.* 2014;84(4):374-360. doi:10.1111/tan.12445.
  21. Parmar S, De Lima M, Zou Y, et al. Donor-recipient mismatches in MHC class I chain-related gene a in unrelated donor transplantation lead to increased incidence of acute graft-versus-host disease. *Blood.* 2009;114(14):2884-2887. doi:10.1182/blood-2009-05-223172.
  22. Kolb H. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood.* 2008;112(12):4371-4383. doi:10.1182/blood-2008-03-077974.
  23. Barnes WH, Corp MT, Loutti JF, Neal FE. Treatment of Murine Leukaemia with X rays and homologous bone marrow. *Br Med J.* 1956.
  24. Peggs KS, Thomson K, Hart DP, et al. Dose-escalated donor lymphocyte infusions following reduced intensity transplantation: Toxicity, chimerism, and disease responses. *Blood.* 2004;103(4):1548-1556. doi:10.1182/blood-2003-05-1513.
  25. Antin JH, Childs R, Filipovich a H, et al. Establishment of complete and mixed donor

- chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: recommendations from a workshop at the 2001 Tandem Meetings of the International Bone Marrow Transplant Registry and the American Society of Blood an. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2001;7(9):473-485. doi:10.1053/bbmt.2001.v7.pm11669214.
26. Talwar S, Khan F, Nityanand S, Agrawal S. Chimerism monitoring following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2007;39(9):529-535. doi:10.1038/sj.bmt.1705626.
  27. Moscardó F, Sanz J, Senent L, et al. Impact of hematopoietic chimerism at day +14 on engraftment after unrelated donor umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancies. *Haematologica*. 2009;94(6):827-832. doi:10.3324/haematol.2008.000935.
  28. Sachs DH. Mixed chimerism as an approach to transplantation tolerance. *Clin Immunol*. 2000;95(1 Pt 2):S63-S68. doi:10.1006/clim.1999.4814.
  29. Eapen M. Unrelated donor transplantation: peripheral blood or bone marrow--does it matter? *Best Pract Res Clin Haematol*. 2014;27(3-4):278-282. doi:10.1016/j.beha.2014.10.010.
  30. Larghero J, Garcia J, Gluckman E. *The EBMT Handbook: Haematopoietic Stem Cell Transplantation. Chapter 5*. (European Sch of Haematology., ed.); 2008.
  31. Walasek MA, van Os R, de Haan G. Hematopoietic stem cell expansion: Challenges and opportunities. *Ann N Y Acad Sci*. 2012;1266(1):138-150. doi:10.1111/j.1749-6632.2012.06549.x.
  32. Tafulo SCR. Transplantação de progenitores hematopoiéticos. 2012.
  33. Majhail NS, Rizzo J, Lee SJ, et al. Recommended Screening and Preventive Practices



- for Long term Survivors after Hematopoietic Cell Transplantation. 2012;26(1):31-38. doi:10.1002/gps.2474.ANXIETY.
34. Passweg J, Baldomero H, Bregni M, et al. Hematopoietic SCT in Europe: data and trends in 2011. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48(10):1161-1167. doi:10.1038/bmt.2013.51.
  35. Bonig H, Papayannopoulou T. Mobilization of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells: General Principles and Molecular Mechanisms. *Methods Mol Biol.* 2012;904:1-14. doi:10.1007/978-1-61779-943-3.
  36. Chalandon Y, Roosnek E, Mermillod B, Waelchli L, Helg C, Chapuis B. Can only partial T-cell depletion of the graft before hematopoietic stem cell transplantation mitigate graft-versus-host disease while preserving a graft-versus-leukemia reaction? A prospective phase II study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006;12(1):102-110. doi:10.1016/j.bbmt.2005.09.010.
  37. Inagaki J, Moritake H, Nishikawa T, et al. Long-Term Morbidity and Mortality in Children with Chronic Graft-versus-Host Disease Classified by National Institutes of Health Consensus Criteria after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21(11):1973-1980. doi:10.1016/j.bbmt.2015.07.025.
  38. Porta F, Locatelli F, Burgio GR. Hematopoietic stem cell transplantation: 40 Years of continuous progress and evolution. *Haematologica.* 2008;93(11):1607-1610. doi:10.3324/haematol.13706.
  39. Shi-xia X, Xian-hua T, Hai-qin X, Bo F, Hai-qing C, Xiang-Feng T. Meta-analysis of HLA matching and the outcome of unrelated umbilical cord blood transplantation (CBT). *Transpl Immunol.* 2009;21(4):234-239. doi:10.1016/j.trim.2009.05.004.

40. M-Reboredo N, Díaz A, Castro A, Villaescusa RG. Collection, processing and cryopreservation of umbilical cord blood for unrelated transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26(12):1263-1270. doi:10.1038/sj.bmt.1702728.
41. Granier C, Biard L, Masson E, et al. Impact of the source of hematopoietic stem cell in unrelated transplants: Comparison between 10/10, 9/10-HLA matched donors and cord blood. *Am J Hematol.* 2015;90(10):897-903. doi:10.1002/ajh.24112.
42. Kuskonmaz B, Gocer S, Cetin M. Hyperacute graft-vs . -host disease after related HLA-identical umbilical cord blood transplantation. 2007;6:818-820. doi:10.1111/j.1399-3046.2007.00786.x.
43. Arora M, Nagaraj S, Wagner JE, et al. Chronic Graft-Versus-Host Disease (cGVHD) following Unrelated Donor Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT): Higher Response Rate In Recipients of Unrelated Donor (URD) Umbilical Cord Blood (UCB). *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007;13(10):1145-1152. doi:10.1016/j.bbmt.2007.06.004.
44. Petersdorf EW. Optimal HLA matching in hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Immunol.* 2008;20(5):588-593. doi:10.1016/j.coi.2008.06.014.
45. Kanakry CG, Luznik L. Are Alternative Donors Really Still “Alternative?” *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(10):1461-1464. doi:10.1016/j.bbmt.2014.07.029.
46. Le Bourgeois A, Labopin M, Guillaume T, et al. Human herpesvirus 6 reactivation before engraftment is strongly predictive of graft failure after double umbilical cord blood allogeneic stem cell transplantation in adults. *Exp Hematol.* 2014;42(11):945-954. doi:10.1016/j.exphem.2014.07.264.
47. Loiseau P, Busson M, Balere ML, et al. HLA Association with Hematopoietic Stem Cell

- Transplantation Outcome: The Number of Mismatches at HLA-A, -B, -C, -DRB1, or -DQB1 Is Strongly Associated with Overall Survival. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007;13(8):965-974. doi:10.1016/j.bbmt.2007.04.010.
48. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, et al. The clinical significance of human leukocyte antigen ( HLA ) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically The clinical significance of human leukocyte antigen ( HLA ) allele compatibility in patients receiving a marrow. *Blood.* 2002;99(11):4200-4206. doi:10.1182/blood.V99.11.4200.
  49. Petersdorf EW, Hansen J a, Martin PJ, et al. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2001;345(25):1794-1800. doi:10.1056/NEJMoa011826.
  50. Park M, Koh KN, Kim BE, et al. The impact of HLA matching on unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation in Korean children. *Korean J Hematol.* 2011;46(1):11-17. doi:10.5045/kjh.2011.46.1.11.
  51. Petersdorf EW, Anasetti C, Martin PJ, et al. Limits of HLA mismatching in unrelated hematopoietic cell transplantation Limits of HLA mismatching in unrelated hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2004;104(9):2976-2980. doi:10.1182/blood-2004-04-1674.
  52. Spínola de Freitas H. Diversidade Genética do Sistema HLA em Portugal , Cabo Verde e Guiné-Bissau. 2005.
  53. Flomenberg N, Baxter-Lowe L a, Confer D, et al. Impact of HLA class I and class II high resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplant outcome. *Blood.* 2004;104(0006-4971 LA-ENG PT-JOURNAL ARTICLE):1923-1931.

doi:10.1182/blood-2004-03-0803.Supported.

54. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood*. 2007;110(13):4576-4583. doi:10.1182/blood-2007-06-097386.
55. Kröger N, Zabelina T, Binder T, et al. HLA-Mismatched Unrelated Donors as an Alternative Graft Source for Allogeneic Stem Cell Transplantation after Antithymocyte Globulin-Containing Conditioning Regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(4):454-462. doi:10.1016/j.bbmt.2009.01.002.
56. Greinix HT, Faé I, Schneider B, et al. Impact of HLA class I high-resolution mismatches on chronic graft-versus-host disease and survival of patients given hematopoietic stem cell grafts from unrelated donors. *Bone Marrow Transplant*. 2005;35(1):57-62. doi:10.1038/sj.bmt.1704741.
57. Shaw BE, Russell NH, Das-Gupta E, Pagliuca A, Byrne JL. The impact of donor factors on primary non-engraftment in recipients of reduced intensity conditioned transplants from unrelated donors. *Haematologica*. 2005.
58. Crocchiolo R, Ciceri F, Fleischhauer K, et al. HLA matching affects clinical outcome of adult patients undergoing haematopoietic SCT from unrelated donors: a study from the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo and Italian Bone Marrow Donor Registry. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44(9):571-577. doi:10.1038/bmt.2009.67.
59. Ayuk F, Diyachenko G, Zabelina T, et al. Anti-thymocyte globulin overcomes the negative impact of HLA mismatching in transplantation from unrelated donors. *Exp Hematol*. 2008;36(8):1047-1054. doi:10.1016/j.exphem.2008.03.011.
60. Patriarca F, Luznik L, Medeot M, et al. Experts' considerations on HLA-haploidentical

- stem cell transplantation. *Eur J Haematol*. 2014;93(3):187-197. doi:10.1111/ejh.12322.
61. Raiola AM, Dominietto A, di Grazia C, et al. Unmanipulated haploidentical transplants compared with other alternative donors and matched sibling grafts. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(10):1573-1579. doi:10.1016/j.bbmt.2014.05.029.
  62. Finke J, Schmoor C, Bethge WA, et al. Prognostic Factors Affecting Outcome after Allogeneic Transplantation for Hematological Malignancies from Unrelated Donors: Results from a Randomized Trial. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18(11):1716-1726. doi:10.1016/j.bbmt.2012.06.001.
  63. Solomon SR, Sizemore CA, Sanacore M, et al. Total Body Irradiation-Based Myeloablative Haploidentical Stem Cell Transplantation Is a Safe and Effective Alternative to Unrelated Donor Transplantation in Patients Without Matched Sibling Donors. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(7):1299-1307. doi:10.1016/j.bbmt.2015.03.003.
  64. Kanate AS, Mussetti A, Kharfan-Dabaja MA, et al. Reduced-intensity transplantation for lymphomas using haploidentical related donors vs HLA-matched unrelated donors. *Blood*. 2016;127(7):938-947. doi:10.1182/blood-2015-09-671834.
  65. Yakoub-gha I, Mesnil F, Kuentz M, et al. Allogeneic Marrow Stem-Cell Transplantation From Human Leukocyte Antigen – Identical Siblings Versus Human Leukocyte Antigen – Allelic – Matched Unrelated Donors ( 10 / 10 ) in Patients With Standard-Risk Hematologic Malign. *J Clin Oncol*. 2006;24(36):5695-5702. doi:10.1200/JCO.2006.08.0952.
  66. Kanda J, Ichinohe T, Fuji S, et al. Impact of HLA Mismatch Direction on the Outcome of Unrelated Bone Marrow Transplantation: A Retrospective Analysis from the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*.

- 2015;21(2):305-311. doi:10.1016/j.bbmt.2014.10.015.
67. Xiao Y, Song J, Jiang Z, et al. Risk-Factor Analysis of Poor Graft Function after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Int J Med Sci.* 2014;11(6):652-657. doi:10.7150/ijms.6337.
  68. Lu DP, Dong L, Wu T, et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation. *Blood.* 2006;107(8):3065-3073. doi:10.1182/blood-2005-05-2146.
  69. Huang XJ, Xu LP, Liu KY, et al. Partially matched related donor transplantation can achieve outcomes comparable with unrelated donor transplantation for patients with hematologic malignancies. *Clin Cancer Res.* 2009;15(14):4777-4783. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0691.
  70. Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T. *The EBMT Handbook: Haematopoietic Stem Cell Transplantation. Chapter 11.*; 2012.
  71. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for Preventing Infectious Complications among Hematopoietic Cell Transplantation Recipients: A Global Perspective. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15(10):1143-1238. doi:10.1016/j.bbmt.2009.06.019.
  72. Kekik C, Besisik SK, Seyhun Y, Oguz FS, Sargin D, Carin MN. Relationship Between HLA Tissue Type, CMV Infection, and Acute Graft-vs-Host Disease After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Single-Center Experience. *Transplant Proc.* 2009;41(9):3859-3862. doi:10.1016/j.transproceed.2009.04.017.
  73. Saliba RM, Lima M De, Giralt S, et al. Hyperacute GVHD : risk factors , outcomes , and

- clinical implications. 2007;109(7):2751-2758. doi:10.1182/blood-2006-07-034348.Presented.
74. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet*. 2015;371(9624):1579-1586. doi:10.1016/S0140-6736(08)60690-X.
  75. Tivol E, Komorowski R, Drobyski WR. Emergent autoimmunity in graft-versus-host disease. *Blood*. 2005;105(12):4885-4891. doi:10.1182/blood-2004-12-4980.
  76. Ballester-Sánchez R, Navarro-Mira M, Sanz-Caballer J, Botella-Estrada R. Review of Cutaneous Graft-vs-Host Disease. *Actas Dermosifiliogr*. 2016;107(3):183-193.
  77. Margaix-Muñoz M, Bagán J V, Jiménez Y, Sarrión M, Poveda-Roda R. Graft-versus-host disease affecting oral cavity . A review. *J Clin Exp Dent*. 2015;7(1). doi:10.4317/jced.51975.
  78. De Matos Silva M, Bouzas LFS, Filgueira AL. Manifestações tegumentares da doença enxerto contra hospedeiro em pacientes transplantados de medula óssea. *An Bras Dermatol*. 2005;80(1):69-80. doi:10.1590/S0365-05962005000100010.
  79. Arai S, Arora M, Wang T, et al. Increasing incidence of chronic graft-versus-host disease in allogeneic transplantation: a report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(2):266-274. doi:10.1016/j.bbmt.2014.10.021.
  80. Olsson R, Remberger M, Hassan Z, Omazic B, Mattsson J, Ringdén O. GVHD prophylaxis using low-dose cyclosporine improves survival in leukaemic recipients of HLA-identical sibling transplants. *Eur J Haematol*. 2010;84(4):323-331. doi:10.1111/j.1600-0609.2009.01390.x.

81. Beelen D, Quabeck K, Kaiser B, et al. Six weeks of continuous intravenous cyclosporine and short-course methotrexate as prophylaxis for acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation*. 1990;50(3):421-427.
82. Storb R, Leisenring W, Anasetti C, et al. Methotrexate and cyclosporine for graft-vs.-host disease prevention: what length of therapy with cyclosporine? *Biol Blood Marrow Transplant*. 1997.
83. Aschan J, Ringdén O, Andström E, Ljungman P, Lönnqvist B, Remberger M. Individualized prophylaxis against graft-versus-host disease in leukemic marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*. 1994;14(1):79-87.
84. Hamilton BK, Rybicki L, Dean R, et al. Cyclosporine in combination with mycophenolate mofetil versus methotrexate for graft versus host disease prevention in myeloablative HLA-identical sibling donor allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Am J Hematol*. 2015;90(2):144-148. doi:10.1002/ajh.23882.
85. McSweeney P a, Niederwieser D, Shizuru J a, et al. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus- tumor effects. *Blood*. 2001;97(0006-4971 SB-AIM SB-IM):3390-3400. doi:10.1182/blood.V97.11.3390.
86. Maris MB, Niederwieser D, Sandmaier BM, et al. HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning for patients with hematologic malignancies. *Blood*. 2003;102(6):2021-2030. doi:10.1182/blood-2003-02-0482.Supported.
87. Sabry W, Le Blanc R, Labbé AC, et al. Graft-versus-Host Disease Prophylaxis with Tacrolimus and Mycophenolate Mofetil in HLA-Matched Nonmyeloablative Transplant Recipients Is Associated with Very Low Incidence of GVHD and Nonrelapse Mortality.



- Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15(8):919-929. doi:10.1016/j.bbmt.2009.04.004.
88. Zhao K, Liu Q, Caplan A, et al. The clinical application of mesenchymal stromal cells in hematopoietic stem cell transplantation. *J Hematol Oncol.* 2016;9(1):46. doi:10.1186/s13045-016-0276-z.
89. Joo S, Cho K, Jung Y, et al. Bioimaging for the monitoring of the in vivo distribution of infused mesenchymal stem cells in a mouse model of the graft-versus-host reaction. *Cell Biol Int.* 2011;35:417-421. doi:10.1042/CBI20100563.
90. Hu K, Wang M, Fan C, Wang L, Guo M, Ai H. International Immunopharmacology CM-DiI Labeled Mesenchymal stem cells homed to thymus inducing immune recovery of mice after haploidentical bone marrow transplantation. *Int Immunopharmacol.* 2011;11(9):1265-1270. doi:10.1016/j.intimp.2011.04.006.
91. Kim E, Kim N, Cho S. The potential use of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation. *Exp & Mol Med.* 2013;45(1):e2-10. doi:10.1038/emm.2013.2.
92. Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, et al. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005;11(5):389-398. doi:10.1016/j.bbmt.2005.02.001.
93. Baron F, Lechanteur C, Willems E, et al. Cotransplantation of Mesenchymal Stem Cells Might Prevent Death from Graft-versus-Host Disease (GVHD) without Abrogating Graft-versus-Tumor Effects after HLA-Mismatched Allogeneic Transplantation following Nonmyeloablative Conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16(6):838-847. doi:10.1016/j.bbmt.2010.01.011.

94. Lee SH, Lee MW, Yoo KH, et al. Co-transplantation of third-party umbilical cord blood-derived MSCs promotes engraftment in children undergoing unrelated umbilical cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48(8):1040-1045. doi:10.1038/bmt.2013.7.