



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

***“Análise de fatores prognósticos para eventos adversos em pacientes com leucemia linfoblástica aguda tratados com transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas no Rio de Janeiro entre 2008 e 2014 - Um estudo de coorte retrospectivo”***

*por*

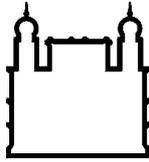
***Leonardo Javier Arcuri***

*Dissertação apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em Ciências, na área de Epidemiologia em Saúde Pública.*

*Orientador: Prof. Dr. Antonio Guilherme Fonseca Pacheco*

*Rio de Janeiro, junho de 2015.*





Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

*Esta dissertação, intitulada*

***“Análise de fatores prognósticos para eventos adversos em pacientes com leucemia linfoblástica aguda tratados com transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas no Rio de Janeiro entre 2008 e 2014 - Um estudo de coorte retrospectivo”***

*apresentada por*

***Leonardo Javier Arcuri***

*foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Claudia Rodrigues Moreira

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira

Prof. Dr. Antonio Guilherme Fonseca Pacheco – Orientador

Catálogo na fonte  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica  
Biblioteca de Saúde Pública

A675a Arcuri, Leonardo Javier  
Análise de fatores prognósticos para eventos adversos em pacientes com leucemia linfoblástica aguda tratados com transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas no Rio de Janeiro entre 2008 e 2014 - um estudo de coorte retrospectivo. / Leonardo Javier Arcuri. -- 2015.  
x,113 f. : tab. ; graf.

Orientador: Antonio Guilherme Fonseca Pacheco  
Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2015.

1. Leucemia-Linfoma Linfoblástico de Células Precursoras.  
2. Prognóstico. 3. Transplante Homólogo. 4. Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas - mortalidade. 5. Transplante de Medula Óssea.  
6. Análise de Sobrevida. 7. Fatores de Risco. 8. Estudos de Coortes.  
I. Título.

CDD – 22.ed. – 616.99419098153

## Agradecimentos

A meus pais, minha irmã Mariana, minha esposa e minhas filhas

A meu orientador, Antonio

Aos professores da ENSP Leo Bastos e Geraldo Marcelo

A meus chefes e colegas do CEMO/INCA e HFB

A Marcia Garcia, da Primax

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma das principais indicações de transplante alogênico de medula óssea. Há poucos dados nacionais descrevendo resultados na população brasileira.

**OBJETIVO:** Os objetivos foram analisar fatores de risco para óbito, recaída de LLA, doença do enxerto contra hospedeiro pós-transplante e reativação de citomegalovirus (CMV) pós-transplante.

**METODOLOGIA:** É um estudo retrospectivo, unicêntrico, que analisou pacientes com LLA tratados com transplante de medula óssea entre 2008 e 2014. As análises para sobrevida global foram feitas por modelo de Cox, e as análises de DECH e recaída, considerando os riscos competitivos. A análise de fatores de risco para reativação de CMV foi feita por modelo de Cox considerando riscos competitivos e dados correlacionados (eventos múltiplos). **RESULTADOS:** Foram incluídos 82 pacientes. A idade mediana foi de 13 anos (71% eram menores de 18 anos), e 76% dos pacientes eram do sexo masculino. Com tempo mediano de acompanhamento de 3 anos, houve 40 (49%) óbitos (sendo 19 em remissão), 24 (29%) recaídas, 42 (51%) DECHa graus II-IV e 32 (39%) DECHc. Os fatores de risco para óbito identificados pelo modelo múltiplo foram: status de doença pré-transplante intermediário (HR=4,9; IC95 1,7-13,9,  $p<0,01$ ) e avançado (HR=5,0; IC95 1,5-16,0,  $p<0,01$ ), fonte de células-tronco de sangue periférico mobilizado (HR=2,8; IC95 1,1-6,7,  $p=0,03$ ) e, nos primeiros 180 dias, cor não-branca (HR=5,7; IC95 1,2-14,1,  $p<0,001$ ). Em transplantes aparentados, a dose de TBI>10Gy, a despeito de uma mortalidade inicial maior (HR=4,1; IC95 1,0-12,  $p=0,06$ ), teve um resultado melhor após 6 meses (HR=0,2; IC95 0,01-2,1, interação positiva,  $p=0,01$ ), levando a uma maior sobrevida global em 3 anos (66% contra 43%). Os fatores de risco identificados para DECHa graus II-IV foram todos associados à doença de base: status avançado (HR=3,4; IC95 1,1-10,8,  $p=0,04$ ) e Ph+ (HR=2,4; IC95 1,0-5,7,  $p=0,04$ ). Para DECHc, DECH aguda prévia (HR=9,0; IC95 2,4-33,5,  $p=0,001$ ) e doadora do sexo feminino (HR=2,9; IC95 1,3-6,6,  $p<0,01$ ). Houve ainda 77 reativações de CMV em 42 (51%) pacientes. Não houve aumento de risco para nova reativação após a primeira. Os seguintes fatores de risco se associaram a qualquer episódio de reativação de CMV: uso de sangue de cordão umbilical e placentário (HR=2,47, IC95 1,10 – 5,56,  $p=0,03$ ), Doença do enxerto contra hospedeiro graus II-IV (HR=1,76, IC95 1,02 – 3,04,  $p=0,04$ ), transplante não aparentado (HR=2,86, IC95 1,33 – 6,15,  $p=0,007$ ) e idade > 35 anos (HR=2,61, IC95 1,08 – 6,28,  $p=0,03$ ). O modelo até o primeiro evento não identificou os seguintes fatores de risco: fonte sangue de cordão (HR=1,42; IC95 0,57 – 3,53,  $p=0,45$ ) e DECHa (HR=1,89; IC95 0,95 – 3,75,  $p=0,07$ ). **CONCLUSÃO:** Em transplantes aparentados, doses de TBI  $\leq$  10Gy devem ser evitadas pois os resultados a longo prazo são piores. A fonte de células-tronco preferencial deve ser medula óssea. O perfil de fatores de risco para DECHa levanta a possibilidade de um efeito iatrogênico, relacionado ao manejo da imunossupressão no pós-transplante. Na nossa população, a cor não-branca se relacionou com a mortalidade precoce, mostrando que a avaliação da rede de suporte extrahospitalar deve fazer parte da avaliação pré-transplante. A reativação de CMV se correlacionou com variáveis que, na literatura, estão associadas a maior imunossupressão ou a recuperação imunológica deficiente. O modelo de Cox considerando riscos competitivos e eventos múltiplos se ajustou bem aos dados e se mostrou adequado para este tipo de análise.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is a leading allogeneic bone marrow transplantation indication. There are few national data describing results in Brazilian population.

**OBJECTIVE:** To analyze risk factors for death, relapse of ALL, graft versus host and post-transplant

cytomegalovirus reactivation (CMV) post-transplant. **METHODS:** This is a retrospective single-center study

which included patients with ALL treated with bone marrow transplantation between 2008 and 2014. Overall survival was analyzed by Cox proportional hazards model. For GVHD and relapse, competing risks were

considered. The analysis of risk factors for reactivation of CMV was made by Cox model considering

competitive risks and correlated data (multiple events). **RESULTS:** We included 82 patients. The median age

was 13 years (71% were under 18 years), and 76% of patients were male. With median follow-up time of 3

years, there were 40 (49%) deaths (including 19 in remission), 24 (29%) relapses, 42 (51%) GVHD grades

II-IV and 32 (39%) chronic GVHD. Risk factors for death identified by the multivariate model were: pre-

transplant CIBMTR disease status intermediate (HR = 4.9, 95 1.7 to 13.9,  $p < 0.01$ ) and advanced (HR = 5.0;

IC95 from 1.5 to 16.0,  $p < 0.01$ ), mobilized peripheral blood stem cells source (HR = 2.8, 95 from 1.1 to 6.7,

$p = 0.03$ ) and, in the first 180 days, non-white color (HR = 5.7, 95 1.2 to 14.1,  $p < 0.001$ ). In sibling

transplants, TBI dose higher than 10 Gy, despite an initial higher mortality (HR = 4.1, 95 1.0 to 12,  $p = 0.06$ ),

had a better outcome after 6 months (HR = 0.2, 95 0.01 to 2.1, positive interaction,  $p = 0.01$ ), leading to

greater overall survival at 3 years (66% vs. 43%). Risk factors identified for GVHD grades II-IV were all

associated to underlying disease factors: advanced status (HR = 3.4, 95 1.1 to 10.8,  $p = 0.04$ ) and Ph + (HR =

2, 4; IC95 1.0-5.7,  $p = 0.04$ ). For chronic GVHD, prior acute GVHD (HR = 9.0, 95 2.4 to 33.5,  $p = 0.001$ )

and female donor (HR = 2.9, 95 1.3 to 6.6,  $p < 0.01$ ). There were also 77 CMV reactivation in 42 (51%)

patients. Prior reactivation conferred no increased risk for subsequent reactivations. The following risk

factors were associated with any episode of reactivation of CMV: use of umbilical cord blood (HR = 2.47, 95

1.10 to 5.56,  $p = 0.03$ ), graft versus host disease grades III-IV (HR = 1.76, 95 1.02 - 3.04,  $p = 0.04$ ), unrelated

donor (HR = 2.86, 95 1.33 - 6.15,  $p = 0.007$ ), and age  $> 35$  years (HR = 2.61, 95 1.08 - 6.28,  $p = 0.03$ ). The

model until the first event have not identified the following risk factors: cord blood (HR = 1.42, 95 0.57 to

3.53,  $p = 0.45$ ) and GVHD (HR = 1.89; 95 0.95 - 3.75,  $p = 0.07$ ). **CONCLUSION:** In sibling transplants,

doses of 10 Gy TBI  $\leq$  should be avoided because long term results are worse. The preferred source of stem

cells should be bone marrow. The profile of risk factors for GVHD raises the possibility of an iatrogenic

effect, related post transplant immunosuppression handling. In our population, early mortality was higher in

non-white, showing that assessment of extrahospitalar support network should be a part of pre transplant

evaluation. Reactivation of CMV was correlated with variables classically associated to increased

immunosuppression or impaired immune recovery. Cox model considering competing risks and multiple

events adjusted well to the data and proved suitable for this type of analysis.

## Sumário

Agradecimentos.....	1
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
Siglas e abreviaturas.....	x
1. Introdução.....	1
Classificação de risco da LLA em crianças.....	2
Tabela 1. Classificação de risco para recaída em LLA infantil, segundo BFM.....	3
Classificação de risco em LLA em adultos.....	4
Transplante de medula óssea.....	4
Tabela 2. Fatores de risco para mortalidade relacionada ao transplante (TRM)*.....	6
Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH).....	6
Tabela 3. Fatores de risco para DECH.....	7
Reativação de Citomegalovírus (CMV).....	8
Fatores étnicos e sociais impactando nos resultados do transplante.....	9
Leucemia linfoblástica aguda no Brasil.....	10
Transplante de medula óssea no Brasil e resultados nacionais.....	10
Transplante de medula óssea no Rio de Janeiro.....	11
2. Justificativa.....	13
3. Objetivos.....	15
4. Metodologia e Análise de Sobrevida.....	16
Coleta dos Dados.....	16
Análise de Sobrevida.....	16
Funções de Sobrevida.....	16
Método do estimador produto de Kaplan-Meier.....	17
Modelo semiparamétrico de riscos proporcionais de Cox.....	17
Pressupostos de do modelo de Cox.....	18

Modelo de Cox para eventos competitivos.....	19
Modelo de risco competitivo para dados correlacionados.....	19
5. Artigo I.....	21
Avaliação de fatores de risco para óbito, recaída e doença do enxerto contra hospedeiro para pacientes com leucemia linfoblástica aguda tratados com transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas no Rio de Janeiro entre 2008 e 2014 – um estudo de coorte retrospectivo.....	21
Resumo.....	21
Introdução.....	22
Material e Método.....	22
Resultados.....	24
Sobrevida global e livre de doença.....	25
Doença do enxerto contra o hospedeiro.....	26
Discussão.....	27
Conclusão.....	31
Tabelas.....	32
Tabela 1. Características dos pacientes, estratificada pelo desfecho óbito.....	32
Tabela 2. Fatores de risco para óbito, por modelo de Cox.....	34
Tabela 3. Fatores de risco para recaída, por modelo para risco competitivo.....	36
Tabela 4. Fatores de risco para DECHc, por modelo para risco competitivo.....	37
Tabela 5. Fatores de risco para DECHc moderada/grave, por modelo para risco competitivo.....	38
Figuras.....	39
Figura 1. Sobrevida global (A) e livre de doença (B), toda a população.....	39
Figura 2. Curvas de sobrevida global ajustadas para transplante aparentado, de acordo com dose de TBI.....	40
Figura 3. Incidências cumulativas de DECH aguda e crônica.....	41
Material suplementar.....	42
Tabela S1. Compatibilidade HLA e ABO.....	42
Tabela S2. Características dos pacientes, de acordo com a cor.....	43
Tabela S3. Características dos pacientes, de acordo com a fonte.....	44

Tabela S4. Características dos pacientes, de acordo com parentesco.....	45
Tabela S5. Características da DECH aguda.....	46
Tabela S6. Características da DECH crônica.....	46
Tabela S7. Distribuição dos estágios de doença, por cor.....	47
Figura S1. Histograma da distribuição da idade.....	48
Figura S2. Boxplot da distância entre moradia e centro de transplante.....	48
Figura S3. Sobrevida global de acordo com (A) fonte de células-tronco, (B) status pré-transplante, (C) parentesco e (D) Filadélfia.....	49
Figura S4. Curvas de sobrevida global preditas para transplante aparentado para diferentes situações .....	51
Figura S5. Risco acumulado basal $\Lambda_0(t)$ para transplante aparentado.....	53
Figura S6. Incidência cumulativa de mortalidade relacionada ao procedimento (óbito em remissão), de acordo com cor.....	54
Figura S7. Resíduos de Schoenfeld das variáveis tempo-dependentes, sem a inclusão de termo de interação com o tempo.....	55
6. Artigo II.....	57
Análise de fatores preditivos para reativação de citomegalovírus em pacientes com leucemia linfoblástica aguda tratados com transplante de medula óssea no Rio de Janeiro entre 2008 e 2014.....	57
Resumo.....	57
Introdução.....	57
Material e Método.....	58
Resultados.....	60
Discussão.....	60
Tabelas.....	64
Tabela 1. Características dos Pacientes.....	64
Tabela 2. Status CMV do doador.....	65
Tabela 3. Tempo para reativação de CMV.....	66
Tabela 4. Fatores de risco para reativação de CMV.....	67
Figuras.....	69

Figura 1. Histograma do número de reativações de CMV.....	69
Figura 2. Risco acumulado de reativação de CMV.....	69
7. Conclusão.....	70
8. Bibliografia.....	72

## Lista de figuras e gráficos

5. Artigo I.....	21
Figura 1. Sobrevida global (A) e livre de doença (B), toda a população.....	39
Figura 2. Curvas de sobrevida global ajustadas para transplante aparentado, de acordo com dose de TBI .....	40
Figura 3. Incidências cumulativas de DECH aguda e crônica.....	41
Figura S1. Histograma da distribuição da idade.....	48
Figura S2. Boxplot da distância entre moradia e centro de transplante.....	48
Figura S3. Sobrevida global de acordo com (A) fonte de células-tronco, (B) status pré-transplante, (C) parentesco e (D) Filadélfia.....	49
Figura S4. Curvas de sobrevida global preditas para transplante aparentado para diferentes situações....	51
Figura S5. Risco acumulado basal $\Lambda_0(t)$ para transplante aparentado.....	53
Figura S6. Incidência cumulativa de mortalidade relacionada ao procedimento (óbito em remissão), de acordo com cor.....	54
Figura S7. Resíduos de Schoenfeld das variáveis tempo-dependentes, sem a inclusão de termo de interação com o tempo.....	55
6. Artigo II.....	57
Figura 1. Histograma do número de reativações de CMV.....	68
Figura 2. Risco acumulado de reativação de CMV.....	68

## Lista de tabelas

1. Introdução.....	1
Tabela 1. Classificação de risco para recaída em LLA infantil, segundo BFM.....	3
Tabela 2. Fatores de risco para mortalidade relacionada ao transplante (TRM)*.....	6
Tabela 3. Fatores de risco para DECH.....	7
5. Artigo I.....	21
Tabela 1. Características dos pacientes, estratificada pelo desfecho óbito.....	32
Tabela 2. Fatores de risco para óbito, por modelo de Cox.....	34
Tabela 3. Fatores de risco para recaída, por modelo para risco competitivo.....	36
Tabela 4. Fatores de risco para DECHc, por modelo para risco competitivo.....	37
Tabela 5. Fatores de risco para DECHc moderada/grave, por modelo para risco competitivo.....	38
Tabela S1. Compatibilidade HLA e ABO.....	42
Tabela S2. Características dos pacientes, de acordo com a cor.....	43
Tabela S3. Características dos pacientes, de acordo com a fonte.....	44
Tabela S4. Características dos pacientes, de acordo com parentesco.....	45
Tabela S5. Características da DECH aguda.....	46
Tabela S6. Características da DECH crônica.....	46
Tabela S7. Distribuição dos estágios de doença, por cor.....	47
6. Artigo II.....	57
Tabela 1. Características dos Pacientes.....	64
Tabela 2. Status CMV do doador.....	65
Tabela 3. Tempo para reativação de CMV.....	66
Tabela 4. Fatores de risco para reativação de CMV.....	67

## Siglas e abreviaturas

ABL	Gene presente no cromossomo 9 (ABL)
ABO	Sistema ABO, grupo sanguíneo
ATG	Imunoglobulina antitimócito
BCR	Gene presente no cromossomo 22 ( <i>breakpoint cluster region</i> )
BCR-ABL	Gene de fusão criado a partir da translocação (9;22)
BFM	Grupo alemão Berlim-Frankfurt-Munchen
CEMO	Centro de Transplante de Medula Óssea do INCA
CIBMTR	Center for International Blood and Marrow Transplant Research
CMV	Citomegalovirus
CR1	Primeira remissão
CR2	Segunda remissão
CR2+	Segunda ou posterior remissão
CR3	Terceira remissão
CR3+	Terceira remissão ou posterior
Cy	Ciclofosfamida
CyTBI	Ciclofosfamida associada a irradiação corpórea total
DECH	Doença do enxerto contra o hospedeiro
DECHa	Doença do enxerto contra o hospedeiro aguda
DECHc	Doença do enxerto contra o hospedeiro crônica
EBV	Epstein-Barr vírus
GBTLI	Grupo Brasileiro para Tratamento de Leucemia da Infância
HCT-CI	Índice de comorbidade para transplante
HLA	Complexo de histocompatibilidade maior
HR	Razão de taxa de incidência
INCA	Instituto Nacional de Câncer
Linfócito NK	Linfócito natural killer
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LMC	Leucemia mieloide crônica
MO	Medula óssea
NIH	National Institute of Health

OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Polymerase chain reaction
Ph	Cromossomo Filadélfia, representando cromossomo 22 truncado por translocação envolvendo o cromossomo 9
Ph-	Filadélfia/BCR-ABL negativo
Ph+	Filadélfia/BCR-ABL positivo
rATG	Imunoglobulina antitimócito de coelho
RR	Risco relativo
SBTMO	Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea
SCUP	Sangue de cordão umbilical e placentário
SNC	Sistema nervoso central
SP	Sangue periférico mobilizado (fonte de células-tronco periférica)
t(4;11)	Translocação (4;11), que gera o gene MLL-AF4
t(9;22)	Translocação (9;22), que gera cromossomo Filadélfia (Ph) e o gene de fusão BCR-ABL
TBI	Irradiação corpórea total
TMO	Transplante de células-tronco hematopoiéticas
TRM	Mortalidade relacionada ao transplante

# 1. Introdução

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é o câncer mais comum da infância em todo o mundo exceto na África, onde leucemia ocupa a segunda colocação <sup>1</sup>. De acordo com o Instituto Nacional de Câncer, a taxa de incidência no Brasil varia entre 9,5 e 44,6 por milhão por ano <sup>2</sup>, de acordo com a faixa etária. Isso corresponde a cerca de um quarto de todas as neoplasias pediátricas <sup>3</sup>, e as leucemias, como um todo, representam cerca de 2% de todos os cânceres (excluindo-se pele não-melanoma) diagnosticados no Brasil <sup>2</sup>. Mesmo não figurando entre os cânceres mais frequentes do adulto, 4 em cada 10 leucemias linfoblásticas agudas são diagnosticadas nesta faixa etária segundo a American Cancer Society <sup>4</sup>.

É uma neoplasia hematológica maligna segundo a classificação de tumores hematológicos da OMS 2008 <sup>5</sup>. É caracterizada por proliferação anômala de linfoblastos, levando a uma síndrome de falência medular (anemia, plaquetopenia e neutropenia). Comumente o sistema nervoso central está acometido por células leucêmicas, e em raros casos o número de linfoblastos circulando é tão alto que causa síndrome de hiperviscosidade.

O diagnóstico é feito por análise da citologia de sangue periférico e/ou medula óssea associado a imunofenotipagem. A análise citogenética e molecular permite identificar um importante subtipo desta leucemia, LLA Filadélfia (também chamada de LLA BCR-ABL+, LLA Ph+ ou LLA t(9;22)), que possui a translocação (9;22) – t(9;22) – que justapõe os genes BCR e ABL, gerando uma proteína tirosina quinase constitutivamente ativada (BCR-ABL). O tratamento inclui um inibidor de tirosino-quinase. A LLA que não tem essa alteração é chamada de LLA Ph- (Filadélfia negativa).

O tratamento da LLA baseia-se em quimioterapia, com rodízio de agentes antineoplásicos, que dura cerca de dois anos <sup>6</sup>. A chance de cura depende de fatores prognósticos presentes no diagnóstico e da resposta à quimioterapia, sendo que em crianças (até 18 anos) varia de 30 a 90% <sup>7-11</sup> e, em adultos (a partir de 15 anos), de 20 a 60% <sup>12-15</sup>.

O transplante alogênico de medula óssea (TMO) é uma opção de tratamento da LLA, sendo, inclusive, uma das principais indicações de TMO <sup>16</sup>. Por um lado, o TMO é tratamento mais eficaz para LLA com as menores taxas de recaída. Por outro, a mortalidade relacionada ao procedimento ainda é alta, podendo chegar a 30% <sup>7,12</sup>.

Crianças de muito alto risco para recaída têm a sobrevida aumentada quando o transplante é feito assim que é atingida a resposta completa (primeira remissão)<sup>17,18</sup>, e vários grupos internacionais oferecem este tratamento a esses pacientes<sup>9,10</sup>. Deve-se ressaltar, no entanto, que o desenvolvimento de protocolos quimioterápicos mais intensos<sup>19</sup> e a adoção de novas drogas<sup>11,20,21</sup> podem levar ao questionamento, no futuro, de algumas indicações clássicas de transplante em primeira remissão na infância, como resposta ruim a quimioterapia, fenótipo T associado a resposta ruim a corticoide e cromossomo Filadélfia.

Tampouco existe consenso em relação a adultos: há dados contraditórios sobre quais pacientes se beneficiariam de transplante como parte do tratamento de primeira linha<sup>22,23</sup>. Duas meta-análises recentes apresentam resultados parcialmente conflitantes: enquanto uma demonstra melhor sobrevida com transplante independentemente da classificação de risco<sup>24</sup>, outra demonstra essa melhora apenas para indivíduos menores de 35 anos<sup>25</sup>.

Recentemente, o uso de métodos muito sensíveis para detecção de doença residual durante a quimioterapia vem ganhando espaço na identificação de pacientes que se beneficiam de transplante de medula óssea tanto em crianças quanto em adultos<sup>26-30</sup>.

Salvo poucas exceções, na eventualidade de recaída da doença (isto é, o retorno da doença após um período de remissão), o transplante é a única chance real de cura. A LLA é um dos poucos cânceres que, mesmo recaído, é curável. Nesse caso, o transplante deve ser realizado assim que for atingida nova remissão<sup>22,31</sup>.

## Classificação de risco da LLA em crianças

Pacientes pediátricos com LLA tratados com quimioterapia são classicamente divididos em 4 grupos de risco para recaída. O grupo alemão Berlim-Frankfurt-Münster (BFM) faz a seguinte divisão (tabela 1<sup>7</sup>):

- baixo risco, com idade entre 1 e 5 anos, leucócitos < 20.000/mm<sup>3</sup> e boa resposta a prednisona;
- risco intermediário, com resposta boa a prednisona, porém com idade ou contagem de leucócitos diferentes da anterior;
- alto risco, com resposta ruim a prednisona ou presença da alteração citogenética de translocação (4;11) nas células leucêmicas – t(4;11) – que justapõe o gene MLL ao gene AF4;
- muito alto risco, com presença de cromossomo Filadélfia, resposta ruim a quimioterapia (ausência de resposta completa avaliada 33 dias após o início da quimioterapia), resposta ruim a prednisona associado

a: fenótipo T ou pro-B, leucocitose > 100.000/mm<sup>3</sup> ou t(4;11).

Os pacientes de muito alto risco são encaminhados para transplante de medula óssea em primeira remissão, e têm 60% de chance de cura com este procedimento <sup>32</sup>.

Tabela 1. Classificação de risco para recaída em LLA infantil, segundo BFM.

Classificação	Critérios
Baixo	<ul style="list-style-type: none"><li>– Idade entre 1 e 5 anos</li><li>– Leucócitos &lt; 20.000/mm<sup>3</sup></li><li>– Boa resposta a prednisona</li></ul>
Intermediário	<ul style="list-style-type: none"><li>– Idade &lt; 1 ano ou &gt; 5 anos</li><li>– Boa resposta a prednisona</li></ul>
Alto	<ul style="list-style-type: none"><li>– Resposta ruim a prednisona</li><li>– Presença da alteração citogenética t(4,11)</li></ul>
Muito Alto	<ul style="list-style-type: none"><li>– Presença da alteração citogenética t(9,22) (cromossomo Filadélfia)</li><li>– Resposta ruim a quimioterapia</li><li>– Resposta ruim a prednisona associado: fenótipo T ou pro-B ou leucocitose &gt; 100.000/mm<sup>3</sup> ou a presença da alteração citogenética t(4,11)</li></ul>

Adaptado de <sup>7</sup>. LLA, leucemia linfoblástica aguda. BFM, Grupo Alemão Berlim-Frankfurt-Munich.

Define-se resposta boa a prednisona como contagem de blastos em sangue periférico inferior a 1.000/mm<sup>3</sup> após 7 dias de prednisona (avalia-se no oitavo dia após início de prednisona). Define-se resposta ruim a quimioterapia como ausência de resposta completa (blastos em medula óssea >5%), avaliada 33 dias após o início da quimioterapia. Cabe ressaltar que o critério de resposta ruim a quimioterapia baseia-se em avaliação de medula óssea, considerando-se resposta ruim quando há mais de 5% de blastos <sup>7</sup>. Atualmente, há métodos mais sensíveis para avaliar a resposta a quimioterapia, capazes de detectar pelo menos uma célula neoplásica em cada mil células. Esta abordagem é conhecida como pesquisa de doença residual mínima, e a tendência é que esses métodos mais sensíveis sejam incorporados na avaliação de resposta para reclassificação de risco <sup>26,28,33–36</sup>.

Uma vez atingida a primeira remissão (definido como resposta completa após tratamento quimioterápico de primeira linha), a probabilidade de recaída (definido como reaparecimento da doença após a remissão) decresce progressivamente ao longo do tempo. Isso leva a uma situação paradoxal em pacientes com indicação de transplante em primeira linha: quanto maior o tempo em fila de transplante, maior a sobrevida, já que os que recaem ou morrem antes do procedimento não chegam a ser analisados <sup>37</sup>.

## Classificação de risco em LLA em adultos

Em adultos, a classificação de risco é mais simples: indivíduos de alto risco têm contagem de leucócitos maior que 30.000/mm<sup>3</sup> ou 100.000/mm<sup>3</sup>, para leucemia B e T, respectivamente, alterações citogenéticas, como hipodiploidia, t(4;11), t(9;22)/Ph+, ou fenótipo pró-B. Todos os outros são classificados como risco padrão <sup>38</sup>. Assim como na LLA da criança, a tendência é que a pesquisa de doença residual mínima seja utilizada na reclassificação de risco das LLA Ph- <sup>13,30</sup>.

Salvo poucas exceções, pacientes adultos cuja doença recai têm prognóstico muito ruim e devem ser transplantados assim que atingida nova remissão <sup>39-41</sup>.

## Transplante de medula óssea

O transplante alogênico de medula óssea foi originalmente concebido há mais de 50 anos, no auge da guerra fria e diante do temor de um holocausto nuclear, como tratamento de anemia aplásica por radiação. Posteriormente, o procedimento foi adaptado para tratamento de câncer, imunodeficiência congênita, doença autoimune e outras síndromes de falência medular <sup>42,43</sup>.

O procedimento inicia-se com a aplicação de quimio e/ou radioterapia em doses altas, que é chamado de "condicionamento" e tem dois objetivos principais <sup>42</sup>:

- erradicar as células neoplásicas (no caso, as células da leucemia);
- imunossuprimir o paciente de forma a evitar a rejeição da medula óssea do doador.

Para leucemia linfoblástica aguda, o condicionamento com irradiação corpórea total (TBI), associada ao quimioterápico ciclofosfamida, se tornou padrão. Os resultados com Bussulfan oral são inferiores, possivelmente por não atingir santuários (sítios protegidos, com pouca penetração de agentes quimioterápicos como, por exemplo, o sistema nervoso central) e ter maior toxicidade <sup>44,45</sup>. TBI, por definição, é independente de absorção, metabolismo ou transporte através da barreira hematoencefálica.

Poucos avanços foram feitos nos últimos anos, porém há dados que sugerem que o uso de dose maior de radioterapia ou a associação com o quimioterápico etoposide reduzem a incidência de recaída da doença <sup>46</sup>.

Logo após o condicionamento, são injetadas células-tronco da medula óssea de um doador compatível ou de sangue de cordão umbilical e placentário. Segue-se um período de aplasia medular, secundária ao condicionamento, que dura cerca de três a quatro semanas, até a recuperação hematológica do

paciente. O paciente permanece funcionalmente imunossuprimido por um período mínimo de um ano, podendo se estender em caso de complicações relacionadas ao tratamento <sup>47</sup>.

As principais complicações do transplante alogênico são decorrentes da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH), isto é, a rejeição de diversos órgãos pelas células do doador, e da imunossupressão resultante do período de aplasia medular pós-quimioterapia e, conseqüentemente, maior risco de infecção. A profilaxia da DECH é feita com agentes imunossupressores pós-transplante (por exemplo, metotrexate e ciclosporina) ou com depleção de células T *in vitro* ou *in vivo* <sup>42</sup>.

As estratégias de profilaxia infecciosa (por exemplo, aciclovir e fluconazol para herpes vírus e *Candida sp.*, respectivamente) e as estratégias preemptivas de tratamento (por exemplo, monitorização de reativação de citomegalovírus e Epstein-Barr vírus, dosagem seriada de galactomanana para aspergilose invasiva) melhoraram consideravelmente os resultados do transplante. No entanto, a mortalidade relacionada ao procedimento permanece alta, como será ilustrado adiante <sup>42,48-50</sup>.

Apesar do crescente uso de doadores não aparentados e de receptores de idade maior, ambos fatores de risco conhecidos para mortalidade pós-transplante, dados de registro do Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR) <sup>51</sup> mostram que a sobrevida nos primeiros 100 dias passou de 60% para 78% em pacientes com doenças malignas transplantados em 1994 e 2004, respectivamente. Da mesma forma, a sobrevida em um ano aumentou significativamente de 49% a 54%. O CIBMTR analisou, ainda, o subgrupo de pacientes com LLA com idade até 40 anos (crianças, adolescentes e adultos jovens) tratados com transplante medula óssea. Nesse grupo, houve queda da mortalidade relacionada ao transplante entre o início da década de 1990 e de 2000 (HR=0,42, p<0,001), sem redução da incidência de recaída <sup>52</sup>. De fato, houve poucos avanços na redução de recaídas de doenças hematológicas pós-transplante <sup>53</sup>. Um outro estudo unicêntrico mostrou também redução no risco de DECH grave, infecção e toxicidade hepática, renal e pulmonar ao longo do tempo <sup>54</sup>.

A mortalidade relacionada ao procedimento (tabela 2) depende de fatores relacionados ao paciente (como idade, presença de comorbidades, infecções prévias ou ativas e estado funcional, sendo o *performance status* do Eastern Cooperative Oncology Group a classificação de estado funcional mais utilizada), à doença (principalmente grau de remissão e fatores biológicos intrínsecos à neoplasia) e ao doador (aparentado ou não aparentado, grau de compatibilidade, sexo e idade do doador) <sup>55-61</sup>.

Importantes avanços foram feitos no campo da imunologia. A identificação e tipagem ao nível

alélico do complexo de histocompatibilidade maior (HLA) e o conhecimento da dinâmica da reconstituição imune permitem, hoje, selecionar melhor os doadores e prever a ocorrência de infecções oportunistas <sup>47,62</sup>. Uma única incompatibilidade HLA, identificado por teste de DNA em alta resolução, leva a um risco de óbito 26% maior <sup>62</sup>. Dados mais recentes demonstram, inclusive, que o transplante com doador não aparentado compatível em alta resolução tem atingido resultados similares aos com doador aparentado <sup>63</sup>. A manipulação *in vitro* de linfócitos surge ainda como terapia promissora para infecções e recaídas pós-transplante.

Tabela 2. Fatores de risco para mortalidade relacionada ao transplante (TRM)\*

Fator de Risco	HR (IC <sub>95</sub> )	Referência
Doador Não aparentado		
Aparentado	1,00	
Geral	1,76 (1,52 – 2,03)	Gratwohl <sup>55</sup>
Compatível 10/10	1,22 (0,65 – 2,29)	Yakoub-Agha <sup>63</sup>
Receptor > 40 anos	1,43 (1,19 – 1,71)	Armand <sup>60</sup>
Doador feminino para receptor masculino	1,23 (1,07 – 1,41)	Gratwohl <sup>55</sup>
Índice de Comorbidade		
HCT-CI = 0	1,00	
HCT-CI = 1 ou 2	1,42 (0,80 – 2,70)	Sorror <sup>56</sup>
HCT-CT > 2	3,54 (2,00 – 6,30)	Sorror <sup>56</sup>
Status de Doença		
Em remissão	1,00	
Doença em Atividade	1,90 (1,38 – 2,63)	Armand <sup>60</sup>
Fonte de Células		
Doador irmão ou voluntário	1,00	
Cordão Umbilical	1,40 (0,75 – 4,75)	Armand <sup>60</sup>
Compatibilidade HLA		
HLA compatível	1,00	
Cada incompatibilidade HLA	1,26 (1,12 – 1,39)	Lee <sup>62</sup>

TRM, mortalidade relacionada ao transplante. HR, razão de taxa de incidência. HLA, antígeno de histocompatibilidade humano maior. HCT-CT, score de comorbidade para transplante de medula óssea. Doador não aparentado compatível 10/10, doador não aparentado HLA compatível em alta resolução nos *locus* HLA A, B, C, DR e DQ. \*De análises multivariadas, por modelo de Cox.

## Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH)

A doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) é a complicação mais frequente após o transplante alogênico de medula óssea. Foi descrito inicialmente como uma doença secundária causada por linfócitos do

doador <sup>64</sup>.

A fisiopatogenia é descrita classicamente como um processo de três estágios. Inicialmente, a radio e/ou quimioterapia utilizadas no condicionamento levam a lesão tecidual e liberação de citocinas pró-inflamatórias na circulação, causando superexpressão de moléculas HLA em células apresentadoras de antígeno. Os linfócitos do doador são então ativados e reconhecem antígenos do receptor como *non-self*, levando a lesão tecidual imuno-mediada <sup>64</sup>.

Apesar de o principal fator de risco ser a incompatibilidade HLA, essa complicação ocorre também em receptores totalmente compatíveis com seus doadores, demonstrando a importância dos antígenos de histocompatibilidade menor <sup>42,64</sup>.

Fatores de risco reconhecidos para doença do enxerto contra o hospedeiro (tabela 3) são: idade do paciente e do doador, condicionamento, uso de sangue periférico mobilizado como fonte de células-tronco, grau de parentesco entre doador e receptor e doadora do sexo feminino para receptor do sexo masculino (especialmente se a doadora for múltípara) <sup>65,66</sup>.

Tabela 3. Fatores de risco para DECH

	HR (IC <sub>95</sub> )	Referência
DECH Aguda		
Compatibilidade HLA		
HLA compatível	1,00	
Incompatibilidade HLA	1,34 (1,12 – 1,61)	Lee <sup>62</sup>
Condicionamento com TBI	1,49 (1,27 – 1,54)	Flowers <sup>67</sup>
Idade do doador > 40 anos	2,57 (1,27 – 5,21)	Finke <sup>68</sup>
DECH Crônica		
Fonte		
Medula Óssea	1,00	
Sangue Periférico	2,63 (1,31 – 5,27)	Shinzato <sup>69</sup>
Cordão Umbilical	0,63 (0,44 – 0,90)	Eapen <sup>70</sup>
Doador não-aparentado compatível	1,30 (1,10 – 1,54)	Flowers <sup>67</sup>
DECH aguda grave previa	3,57 (1,78 – 7,19)	Sohn <sup>71</sup>
Idade do doador > 40 anos	2,06 (1,12 – 3,79)	Finke <sup>68</sup>
Doadora feminina	1,37 (1,19 – 1,57)	Flowers <sup>67</sup>
Condicionamento com TBI	0,39 (0,23 – 0,68)	Finke <sup>68</sup>
Status de Doença		
Em remissão	1,00	
Doença em atividade	2,08 (1,19 – 3,65)	Sohn <sup>71</sup>

DECH, doença do enxerto contra o hospedeiro. TBI, irradiação corpórea total. HR, razão de taxas de

A profilaxia dessa complicação é feita com inibidores de calcineurina (Ciclosporina, Tacrolimus), antimetabólitos (metotrexate, Micofenolato Mofetil) e depleção de células-T (in vitro, ou in vivo com anticorpos mono ou policlonais)<sup>72</sup>. A imunoglobulina antitimócito é a forma mais comum de depleção de células T in vivo feita no Brasil.

Didaticamente, a DECH é classicamente subdivida em duas formas<sup>65,66,73</sup>:

– aguda, que ocorre antes dos 100 primeiros dias pós-transplante e acomete pele (*rash* cutâneo), fígado (colestase) e trato gastrointestinal (náuseas, vômitos e/ou diarreia), e

– crônica, caracterizada por fibrose, que ocorre após os primeiros 100 dias e pode acometer quase todos os órgãos.

Recentemente, se reconheceu a importância da forma aguda de início tardio – manifestações clínicas de DECH aguda após os 100 primeiros dias, que podem ocorrer após condicionamento de intensidade reduzida – e da forma de sobreposição – quando as duas formas coexistem, sendo esta última considerada a de pior prognóstico. Reconheceu-se, ainda, que não há tempo mínimo para a ocorrência da DECH crônica<sup>74</sup>.

A doença do enxerto contra o hospedeiro crônica ocorre em 30-70% dos pacientes. É, atualmente, a principal complicação tardia do transplante, podendo levar a incapacidade (como, por exemplo, disfunção pulmonar, limitação de movimentos articulares e diminuição da acuidade visual) e até a óbito. A presença de DECH crônica acarreta em um risco relativo (RR) de mortalidade relacionada ao procedimento de 1,8 a 2,8, dependendo da população analisada<sup>75</sup>. O tratamento é à base de agentes imunossupressores e imunomoduladores, associados a terapia de suporte<sup>76-78</sup>.

Por outro lado, pacientes que desenvolvem DECH crônica têm risco menor de recaída de doença (RR=0,5), mostrando que também existe um efeito do enxerto contra a leucemia<sup>75</sup>.

## Reativação de Citomegalovírus (CMV)

O CMV é um vírus da família dos herpes vírus e, portanto, tem a capacidade de se manter em estado latente após a primoinfecção<sup>50</sup>.

Doença por citomegalovírus é uma das complicações mais importantes do transplante de medula óssea alogênico. Pode acometer múltiplos órgãos: pulmão (causando pneumonite), fígado (hepatite aguda), trato gastrointestinal (levando a diarreia e/ou náuseas e vômitos), medula óssea (disfunção do enxerto) e

sistema nervoso central (encefalite) <sup>50</sup>.

Apesar de ser um indicador de imunossupressão, o CMV tem uma interação complexa com o sistema imune. O vírus altera a expressão de moléculas de HLA, a produção de citocinas e a expressão de moléculas de adesão. Isso pode explicar o fato de os pacientes que reativam CMV estarem sob maior risco de infecções bacterianas e fúngicas <sup>50</sup>.

Os principais fatores de risco para doença por CMV são: receptor com sorologia positiva para CMV cujo doador tenha sorologia negativa, uso de sangue de cordão como fonte de células-tronco, depleção de células-T e doença do enxerto contra o hospedeiro aguda <sup>50,79,80</sup>.

Grandes avanços foram feitos no manejo desta complicação. A estratégia preemptiva consiste em monitoração da reativação do CMV por PCR ou por antigenemia sérica e tratamento precoce com ganciclovir antes que ocorra doença pelo vírus. Isso levou a uma queda da incidência de doença por CMV de 24-30% <sup>80,81</sup> para 5-6% em receptores ou doadores com sorologia positiva pré-transplante, reduzindo a mortalidade por CMV para 0-2% <sup>79,81</sup>.

## **Fatores étnicos e sociais impactando nos resultados do transplante**

No início da década passada, um estudo pequeno sugeriu que, nos Estados Unidos, pacientes sem cobertura de plano de saúde submetidos a transplante alogênico de medula óssea teriam mortalidade tardia pior (50% contra 15%) do que os que a têm <sup>82</sup>.

Desde então, demonstrou-se, em países desenvolvidos, que indivíduos de renda mais baixa e negros têm menor probabilidade de receber transplante de medula <sup>83-85</sup>, têm menos acesso a participação de estudos clínicos <sup>83</sup>, e que não-brancos submetidos a transplante de medula têm sobrevida pior <sup>85-88</sup>. Demonstrou-se, ainda, que pacientes de países com Índices de Desenvolvimento Humano (IDH) mais elevados têm melhor sobrevida pós-transplante <sup>89</sup>.

Dados nacionais apontam para pior sobrevida entre pacientes de classes sociais D e E <sup>90</sup>. Mostram, ainda, que há regiões em que menos da metade dos pacientes com doadores disponíveis são de fato submetidos ao procedimento e que nessa situação os pacientes de maior renda podem, paradoxalmente, ter sobrevida pior <sup>91</sup>, sugerindo que há uma barreira que limita o acesso ao transplante nos pacientes de renda menor, i.e., pacientes de pior prognóstico nesse grupo não chegam a realizar o transplante e não são analisados.

## Leucemia linfoblástica aguda no Brasil

Recentemente, foram publicados os resultados do CONCORD Working Group <sup>92</sup>, projeto internacional de monitoramento de sobrevida de câncer, que reuniu dados de mais de 25 milhões de pacientes pelo mundo. No Brasil, a sobrevida em 5 anos de leucemia linfoblástica aguda em crianças diagnosticadas entre 2005 e 2009 foi de cerca de 66%. Para leucemia em adultos, foi de cerca de 20%. Como comparação, Portugal foi 87% e 44% de sobrevida; Estados Unidos, 85% e 47%; China, 61% e 21%; e Argélia, 54% e 14% (todas as proporções ajustadas para a estrutura da população).

O Grupo Brasileiro para Tratamento de Leucemia da Infância (GBTLI) organiza estudos nacionais multicêntricos em LLA da infância, com algumas publicações de resultados clínicos <sup>93-97</sup>.

## Transplante de medula óssea no Brasil e resultados nacionais

O primeiro transplante de medula óssea realizado no Brasil foi em 1979, na Universidade Federal do Paraná. Atualmente, o Brasil ocupa uma posição de destaque na América Latina em transplante de medula óssea <sup>98</sup>, sendo que, no momento, existem 49 centros credenciados para transplante alogênico aparentado, sendo 29 desses também credenciados para transplante não aparentado.

As indicações de transplante de medula óssea no Brasil, do Consenso Brasileiro de Transplante de Medula Óssea, baseiam-se largamente em dados internacionais, incluindo a LLA <sup>31,99,100</sup>.

Em relação à produção científica na área, o Brasil conta com a Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, que está indexada nos sistemas LILACS, Scopus e Pubmed e é publicada, em inglês, a cada 2 meses. Os anais do Congresso Brasileiro de Hematologia e do Congresso Brasileiro de Transplante de Medula Óssea, que ocorrem anualmente, são publicados nessa revista. O acesso é livre ([www.scielo.br/rbhh](http://www.scielo.br/rbhh)). O GEDECO é um grupo multicêntrico brasileiro para estudo de doença do enxerto contra o hospedeiro no Brasil tendo, recentemente, publicado os resultados de um levantamento retrospectivo com 334 pacientes do período de 2008 a 2009, que reportou mortalidade relacionada ao procedimento de 21,9% para fonte medula óssea e 26,6% para fonte sangue periférico mobilizado, com sobrevida global em torno de 40% para doenças de alto risco e entre 60-70% para doenças de risco padrão, comparável a relatada em estudos internacionais <sup>101</sup>.

Apesar do grande destaque em termos do número de transplantes e da existência de revistas nacionais da área, o número de publicações nacionais é relativamente pequeno. Uma busca no sistema

Pubmed por “acute lymphoblastic leukemia OR acute lymphocytic leukemia OR acute lymphoid leukemia” e “bone marrow transplant(ation) OR hematopoietic stem cell transplant(ation) OR HSCT” retorna 5724 resultados. Caso se acrescente o termo “Brazil OR Brazilian”), retorna 20 resultados. A título de comparação, acrescentando-se os países/regiões “United States”, “Europe”, “Germany”, “Spain”, “Australia”, “China” ou “Argentina” de forma similar, retorna-se, respectivamente, 936, 269, 408, 169, 95, 267 e 9 resultados. Dividindo-se estes números pela população em 100 milhões de cada país/região, os números são: 294 (Estados Unidos), 362 (Europa), 506 (Alemanha), 569 (Espanha), 411 (Austrália), 20 (China) e 22 (Argentina). Para o Brasil, este resultado é 10 (o menor resultado).

## **Transplante de medula óssea no Rio de Janeiro**

No Estado do Rio de Janeiro, há dois centros públicos credenciados para a realização de transplante alogênico de medula óssea. Desses, apenas o Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO) do Instituto Nacional de Câncer (INCA), inaugurado em 1984, está atualmente realizando o procedimento, e atende pacientes de todo o Estado e de outros estados que não têm centro credenciado. Como até há pouco tempo não havia centro privado credenciado, há pacientes de todas as classes sociais transplantados na rede pública.

Na primeira avaliação pelo Serviço Social do CEMO/INCA, os pacientes são orientados sobre como conseguir benefícios oficiais como, por exemplo, auxílio-doença e saque de Fundo de Garantia. Segundo dados do Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento de 2010 (PNUD), o Estado do Rio de Janeiro tem quase 30% da população pobre ou vulnerável a pobreza. Cerca de 11% dos adultos empregados recebem até 1 salário-mínimo, e a desigualdade é alta. Isso faz com que grande parte da população viva em periferia, com acesso precário às regiões centrais. Devido à necessidade de reavaliações e consultas frequentes no período pós-transplante, o INCA tem convênio e oferece quartos de hotel para os pacientes que necessitam, de acordo com a disponibilidade no momento. Há, ainda, organizações não governamentais, como a Fundação Provita e a Fundação Ronald McDonald, que oferecem suporte e estadia para pacientes oncológicos. Essa mesma estrutura pode ser utilizada por pacientes no período pré-transplante, cuja avaliação requer a realização de uma bateria de exames, a fim de minimizar atrasos.

O INCA está localizado no centro da cidade do Rio de Janeiro, e a complexidade do transplante de medula óssea implica em consultas frequentes, e na eventualidade de complicações agudas, na necessidade de atendimento de urgência. Neste caso, o atraso do atendimento por equipe especializada pode levar a óbito.

Este trabalho tem como objetivo avaliar a associação de fatores relativos a doença, ao transplante e ao indivíduo na ocorrência de desfechos desfavoráveis dos pacientes com LLA submetidos a transplante alogênico de medula óssea no Rio de Janeiro.

## 2. Justificativa

A leucemia linfoblástica aguda, apesar de ser uma doença rara, conforme mencionado anteriormente, é o câncer mais comum na infância <sup>1</sup>. O transplante de medula óssea, que é classificado pelo Ministério da Saúde como um procedimento de alto custo e de alta complexidade, é uma das principais formas de terapia para pacientes de muito alto risco, com objetivo curativo. É classificado pelo Ministério da Saúde como um procedimento de alto custo e alta complexidade, e o SUS paga, em 2015, entre R\$ 54.000 e R\$ 71.000, sendo esse valor aumentado em até 60% em instituições classificadas como Nível A <sup>102-105</sup>. Estima-se que cerca de 8% dos pacientes pediátricos e pelo menos 45% dos pacientes adultos com LLA preenchem critério para transplante alogênico de medula óssea como tratamento de primeira linha <sup>7,9,19,106</sup>.

Frequentemente a decisão de realizar o transplante ou não é baseada na expectativa de ganho de sobrevida que o TMO oferece, segundo estudos internacionais, sendo que as características da população brasileira não são representadas em tais estudos, e não há dados que mostrem, consistentemente, a reprodutibilidade desses resultados no Brasil. Por exemplo, o grupo BFM <sup>18</sup> mostrou aumento de sobrevida em 5 anos (67% contra 47%,  $p=0,01$ ) em pacientes de muito alto risco que receberam transplante de medula óssea como tratamento de primeira linha. Nesse estudo, foram incluídos pacientes da Alemanha, Áustria e Suíça. No entanto, quando são incluídos pacientes de muito alto risco de outros países, tratados com protocolos baseados no BFM <sup>17</sup>, a diferença entre os pacientes que realizaram transplante e os que não realizaram diluiu-se muito: 57% de sobrevida em 5 anos contra 50% ( $p=0,12$ ). Já o grupo holandês HOVON <sup>23</sup> estima que o transplante em primeira remissão em pacientes de baixo risco só é benéfico quando a mortalidade relacionada ao procedimento é menor que 20-25%. Não temos, no Brasil, dados consistentes sobre a mortalidade relacionada ao procedimento em indivíduos com doença de baixo risco ou sobre a reprodutibilidade dos resultados alcançados pelo BFM em indivíduos com doença de alto risco. As recomendações do II Consenso Brasileiro de Transplante de Medula Óssea para LLA <sup>99,100</sup> não citam nenhum estudo nacional.

As particularidades da população brasileira incluem aspectos étnicos do Brasil, composto por uma sociedade altamente miscigenada; aspectos sociais, como por exemplo, grau de escolaridade e poder aquisitivo da família; geográficos, como a distância onde o paciente vive e onde é realizado o transplante; e

da rede de saúde sobrecarregada, com fila e tempo de espera para a realização do procedimento. Levando-se em consideração a alta mortalidade relacionada ao transplante, não se deve negligenciar essas peculiaridades da nossa população.

Apesar de o Brasil ocupar uma posição de destaque na América Latina em transplante de medula, como já citado anteriormente, há poucas publicações nacionais descrevendo o estado da arte no país. Então, há necessidade de estudos para avaliar a aplicabilidade, em centros brasileiros, de fatores prognósticos já reconhecidos, assim como a caracterização de outros. É importante, também, que se verifique se há barreiras dificultando a realização do TMO em algum grupo de pacientes e se o suporte dado pela instituição é adequado. Desta forma, se espera que os resultados deste estudo auxiliem nas decisões terapêuticas dos pacientes com leucemia linfoblástica aguda, tenham impacto no manejo desses e, em se tratando do câncer mais comum da infância, desdobramento relevante em saúde pública.

### 3. Objetivos

O objetivo geral deste trabalho é avaliar a associação de fatores relativos à doença, ao transplante e ao indivíduo, incluindo fatores sociais, na ocorrência de desfechos desfavoráveis dos pacientes com LLA tratados com transplante alogênico de medula óssea.

Os objetivos específicos são:

- Caracterizar o perfil sociodemográfico e clínico de pacientes com LLA submetidos a transplante alogênico de medula óssea no Instituto Nacional de Câncer
- Avaliar fatores relacionados a mortalidade geral pós-transplante
- Avaliar fatores relacionados à mortalidade específica relacionada ao transplante
- Avaliar fatores relacionados à ocorrência de complicações pós-transplante: DECH e reativação de CMV;
- Avaliar fatores relacionados à recaída da doença de base (leucemia linfoblástica aguda).

## 4. Metodologia e Análise de Sobrevida

### Coleta dos Dados

Este é um estudo retrospectivo de Coorte. A seleção dos casos foi feita por registro eletrônico de transplantes realizados no Instituto Nacional de Câncer entre 2008 e 2014, e a coleta dos dados foi feita por revisão de prontuários. Os dados foram coletados em ficha própria, e transcritas para formato CSV no programa aberto LibreOffice. Todas as análises foram feitas no programa aberto R ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)).

### Análise de Sobrevida

Apesar dos modelos utilizados neste estudo estarem brevemente descritos nos artigos, alguns desses não são utilizados com frequência em análise de sobrevida. Achamos necessário, portanto, explicitá-los de forma mais detalhada nesta seção, assim como os caminhos que levaram a formulação desses modelos.

Os modelos aqui descritos correspondem a problemas que acreditamos que encontraríamos na análise dos dados por modelo de Cox, como ausência de independência de eventos, presença de risco competitivo e de risco não-proporcional, e como esses problemas foram abordados.

### Funções de Sobrevida

Em análise de sobrevida, o desfecho é o tempo até a ocorrência de um determinado evento <sup>107</sup>.

Define-se a função de sobrevida  $S(t)$  como a probabilidade de um indivíduo sobreviver (i.e., não desenvolver o evento de interesse) até o tempo  $t$ :

$$S(t) = Pr(T > t)$$

A função acumulada de eventos,  $F(t)$ , é portanto o complemento da função acima e a integral da função de densidade de probabilidade  $f(t)$ :

$$F(t) = 1 - S(t) = Pr(T \leq t) \quad ,$$

sendo a função de densidade de probabilidade  $f(t)$  definida por:

$$f(t) = \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{Pr(t \leq T < t + \delta)}{\delta}$$

em que  $\delta$  é um incremento de tempo infinitamente pequeno

Muitas vezes, no entanto, interessa saber o risco instantâneo de um indivíduo desenvolver o evento em um determinado tempo, dado que ele sobreviveu até esse tempo. Tem-se, então, a função de risco, que é matematicamente definida por:

$$\lambda(t) = \lim_{\delta \rightarrow 0} \frac{Pr[(t \leq T < t + \delta) | T \geq t]}{\delta},$$

sendo  $Pr[(t \leq T < t + \delta)]$  a probabilidade do tempo até o evento ser entre o tempo  $t$  e o tempo  $t + \delta$ , sendo  $\delta$  um valor infinitamente pequeno.

ou através da relação entre as funções:

$$\lambda(t) = \frac{f(t)}{S(t)} \quad \text{ou} \quad \lambda(t) = \frac{-\partial \ln[S(t)]}{\partial t}$$

## Método do estimador produto de Kaplan-Meier

Quando todos os indivíduos do estudo experimentam o evento de interesse, a sobrevida  $S(t)$  no tempo  $t$  pode ser estimada pelos dados observados, pois representa a proporção dos indivíduos que sobreviveram além do tempo  $t$ . Entretanto, quando há indivíduos em que o evento não ocorre durante o tempo de acompanhamento (“censuras”), isso não é possível. O método do estimador produto de Kaplan-Meier calcula a sobrevida no tempo  $t$  pelo produtório do complemento da proporção de eventos nos indivíduos sob risco ocorridos em todos os tempos  $\leq t$ <sup>107</sup>:

$$\hat{S}_{km}(t) = \prod_{j: t_j \leq t} \left( 1 - \frac{R(t_j) - \Delta N(t_j)}{R(t_j)} \right),$$

sendo  $R(t_j)$  o número de indivíduos sob risco no tempo  $t = t_j$  e  $\Delta N(t_j)$  o número de eventos no tempo  $t = t_j$ .

## Modelo semiparamétrico de riscos proporcionais de Cox

O modelo de Cox reescreve as funções de risco e de sobrevida da seguinte forma<sup>107</sup>:

$$\lambda(t|x) = \lambda_0(t) \times \exp(X \beta')$$

$$S(t|x) = [S_0(t)]^{\exp(X\beta')}$$

sendo  $\lambda_0(t)$  e  $S_0(t)$  o risco basal e a sobrevida basal no tempo  $t$ .

O risco basal é o componente não-paramétrico do modelo. Os eventos ocorridos em cada tempo  $t$  são considerados eventos independentes, e os parâmetros  $\beta$  (componente paramétrico) são estimados a partir da maximização do produtório da função de verossimilhança individual em cada tempo  $t$  (função de verossimilhança parcial).

Sendo  $C_i$  o indicador de ocorrência do evento e  $Y_i$  o tempo observado neste indivíduo, e  $Y_j$  o tempo de observação dos pacientes sob risco, a função de verossimilhança parcial é definida por:

$$L(\beta) = \prod_{i:C_i=1} \frac{\lambda_0 \times \theta_i}{\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \lambda_0 \times \theta_j} = \prod_{i:C_i=1} \frac{\theta_i}{\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j},$$

sendo:

$$\theta_j = HR_j = \exp(X_j \beta')$$

A função de log-verossimilhança correspondente é, então:

$$l(\beta) = \sum_{i:C_i=1} \left( X_i \beta' - \log \sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j \right)$$

Resumidamente, os eventos são ranqueados no tempo e função de verossimilhança representa a probabilidade dos eventos terem ocorrido nessa ordem.

Desta forma, para estimar os parâmetros  $\beta$  não é necessário estimar o risco basal  $\lambda_0(t)$ .

## Pressupostos de do modelo de Cox

Os principais pressupostos do modelo de Cox são:

1. Proporcionalidade – as covariáveis têm efeito multiplicativo sobre o risco de desenvolver o evento, e isso é constante ao longo do tempo. A avaliação deste pressuposto é feita pela análise dos resíduos de Schoenfeld de cada covariável contra o tempo. Frequentemente, a premissa de proporcionalidade constante do risco do modelo de Cox é violada. Uma solução simples é incluir um termo de interação da variável tempo-dependente com uma função do tempo, implementada como uma variável mudando no tempo

<sup>108</sup>. Isso permite que o efeito dessa variável possa ser estimado.

2. Linearidade – o efeito de covariáveis contínuas é log-linear. A avaliação deste pressuposto é feita pela análise dos resíduos de Martingale contra cada variável contínua. Caso o efeito de uma variável contínua não seja linear, pode-se:

(a) Transformar essa variável por uma função que linearize seu efeito. A interpretação do efeito torna-se, no entanto, mais complexa.

(b) Aplicar uma função de suavização não paramétrica, como *splines*. A interpretação do efeito, neste caso, é gráfica.

(c) Categorizar essa variável. A interpretação é simples. Porém, esta abordagem frequentemente acarreta perda de informação.

3. Independência – os eventos ocorrem de maneira independente. Caso a estrutura dos dados seja correlacionada (por exemplo, estudos multicêntricos, estudos familiares ou múltiplos eventos num mesmo indivíduo), violando o pressuposto de independência de eventos, pode-se utilizar um modelo de efeito aleatório (modelo de fragilidade) ou com variância robusta.

## Modelo de Cox para eventos competitivos

A presença de risco competitivo é comum em estudos clínicos, e acontece quando a ocorrência de um evento impede a observação de outros eventos distintos. Esses indivíduos não devem ser censurados, já que não são representativos da população onde o evento competitivo não ocorreu.

Uma abordagem para analisar dados com eventos competitivos é utilizar Função de Incidência Cumulativa, também chamada de Subdistribuição de Risco, descrito por Gray em 1988 <sup>109</sup>.

O modelo de Fine e Gray <sup>110</sup> é uma extensão do modelo de Cox e mantém indivíduos que experimentaram algum evento competitivo no grupo de risco. No entanto, o peso que cada um desses indivíduos terá na função de verossimilhança parcial é proporcional à função de sobrevivência das censuras estimada pelo método de Kaplan-Meier a partir do momento em que o evento competitivo ocorre.

## Modelo de risco competitivo para dados correlacionados

Em alguns casos, eventos não podem ser considerados independentes devido a estrutura correlacionada dos dados. Esta situação fica evidente em estudos multicêntricos, estudos familiares e com eventos múltiplos. Este ocorre quando um indivíduo, após ter o evento de interesse, retorna ao grupo de risco

e está novamente sob risco de ter o mesmo ou outro evento. Pode haver, inclusive, risco competitivo numa estrutura correlacionada de dados <sup>111</sup>. Há duas abordagens principais na análise de dados correlacionados com risco competitivo: condicional e marginal.

A abordagem condicional utilizando o modelo de Fine e Gray inclui efeito aleatório na subdistribuição de risco. Assume-se que o efeito aleatório tem média zero e variância  $\theta$ , sendo que um valor  $\theta=0$  corresponde ao caso em que não há dependência intragrupo. Katsahian e Boudreau <sup>112</sup> propõem o uso da log-verossimilhança parcial penalizada e a utilização da aproximação de Laplace para a verossimilhança parcial marginal. Este método tem como vantagem a possibilidade de ser utilizado com os programas/pacotes já disponíveis para modelos de fragilidade Gaussiana.

A abordagem marginal proposta por Zhou <sup>113</sup> trata indivíduos de um mesmo grupo como observações independentes, e utiliza a variância robusta (“sandwich”) para levar em consideração a correlação intragrupo. Computacionalmente é mais simples, e também pode ser feita utilizando os programas/pacotes já disponíveis para variância robusta.

## 5. Artigo I

**Avaliação de fatores de risco para óbito, recaída e doença do enxerto contra hospedeiro para pacientes com leucemia linfoblástica aguda tratados com transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas no Rio de Janeiro entre 2008 e 2014 – um estudo de coorte retrospectivo**

### Resumo

**INTRODUÇÃO:** A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma das principais indicações de transplante alogênico de medula óssea. Há poucos dados nacionais descrevendo resultados na população brasileira. **OBJETIVO:** Os objetivos foram analisar fatores de risco para óbito, recaída de LLA e doença do enxerto contra hospedeiro pós-transplante. **METODOLOGIA:** É um estudo retrospectivo, unicêntrico, que analisou pacientes com LLA tratados com transplante de medula óssea entre 2008 e 2014. As análises para sobrevida global foram feitas por modelo de Cox, e as análises de DECH e recaída, considerando os riscos competitivos. **RESULTADOS:** Foram incluídos 82 pacientes. A idade mediana foi de 13 anos (71% eram menores de 18 anos), e 76% dos pacientes eram do sexo masculino. Com tempo mediano de acompanhamento de 3 anos, houve 40 (49%) óbitos (sendo 19 em remissão), 24 (29%) recaídas, 42 (51%) DECHa graus II-IV e 32 (39%) DECHc. Os fatores de risco para óbito identificados pelo modelo múltiplo foram: status de doença pré-transplante intermediário (HR=4,9; IC<sub>95</sub> 1,7-13,9, p<0,01) e avançado (HR=5,0; IC<sub>95</sub> 1,5-16,0, p<0,01), fonte de células-tronco de sangue periférico mobilizado (HR=2,8; IC<sub>95</sub> 1,1-6,7, p=0,03) e, nos primeiros 180 dias, cor não-branca (HR=5,7; IC<sub>95</sub> 1,2-14,1, p<0,001). Em transplantes aparentados, a dose de TBI>10Gy, a despeito de uma mortalidade inicial maior (HR=4,1; IC<sub>95</sub> 1,0-12, p=0,06), teve um resultado melhor após 6 meses (HR=0,2; IC<sub>95</sub> 0,01-2,1, interação positiva, p=0,01), levando a uma maior sobrevida global em 3 anos (66% contra 43%). Os fatores de risco identificados para DECHa graus II-IV foram todos associados à doença de base: status avançado (HR=3,4; IC<sub>95</sub> 1,1-10,8, p=0,04) e Ph+ (HR=2,4; IC<sub>95</sub> 1,0-5,7, p=0,04). Para DECHc, DECH aguda prévia (HR=9,0; IC<sub>95</sub> 2,4-33,5, p=0,001) e doadora do sexo feminino (HR=2,9; IC<sub>95</sub> 1,3-6,6, p<0,01). **CONCLUSÃO:** Em transplantes aparentados, doses de TBI ≤ 10Gy devem ser evitadas pois os resultados a longo prazo são piores. A fonte de células-tronco preferencial deve ser medula óssea. O perfil de fatores de risco para DECHa levanta a possibilidade de um efeito iatrogênico, relacionado ao manejo da imunossupressão no pós-transplante. Na nossa população, a

cor não-branca se relacionou com a mortalidade precoce, mostrando que a avaliação da rede de suporte extrahospitalar deve fazer parte da avaliação pré-transplante.

## Introdução

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é o câncer mais frequente da infância <sup>5</sup>. De acordo com o Instituto Nacional de Câncer, a taxa de incidência no Brasil varia de 9,5 a 44,6 por milhão por ano, de acordo com a faixa etária, sendo que 40% de todas as LLA são diagnosticadas na idade adulta segundo a American Cancer Society <sup>4</sup>. É, ainda, um dos poucos cânceres que, mesmo recaído, é curável.

O transplante de células-tronco hematopoiéticas, também chamado de transplante de medula óssea (TMO), é o tratamento de escolha para crianças em primeira remissão de muito alto risco <sup>9,10,17,18</sup> e é uma opção para adultos em primeira remissão <sup>22-25</sup>. Em pacientes em segunda ou terceira remissão, o transplante é o tratamento com maior chance de cura <sup>22,31</sup>.

Poucos avanços foram realizados na prevenção da recaída de leucemias agudas pós-transplante, que corresponde a 34-41% dos óbitos <sup>52,53</sup>. Para leucemia linfoblástica aguda, o condicionamento com irradiação corpórea total (TBI), associada ao quimioterápico ciclofosfamida, se tornou padrão. Os resultados com Bussulfan oral são inferiores, possivelmente por não atingir santuários (como sistema nervoso central) e ter maior toxicidade <sup>44,45</sup>. A dose ideal de TBI não está definida, mas há dados que sugerem que o uso de dose maior de radioterapia ou a associação com o quimioterápico etoposide reduzem a incidência de recaída da doença <sup>46</sup>.

Fatores sociais impactam no resultado do transplante <sup>82,85-87</sup>. Demonstrou-se, ainda, que países com Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) mais elevados têm maior sobrevida pós-transplante <sup>89</sup>. Dados nacionais corroboram essas observações <sup>90</sup> e sugerem, ainda, haver uma barreira social que limita o acesso a pacientes de baixa renda <sup>91</sup>.

Este trabalho tem como objetivo estudar fatores de risco para óbito, recaída de LLA e DECH em pacientes com LLA submetidos a transplante alogênico num período recente.

## Material e Método

É um estudo retrospectivo de Coorte, unicêntrico. O estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de ética local. Foram incluídos todos os pacientes que realizaram transplante alogênico para LLA no Instituto

Nacional de Câncer entre 2008 e 2014. Foram excluídos transplantes singênicos e pacientes com comorbidades graves. O condicionamento padrão era Cy 120 mg/kg + TBI. A dose de TBI era 13,2Gy para transplante não aparentado, 10Gy para transplante aparentado até 21 de outubro de 2010, sendo aumentada para 12Gy após essa data. A critério do Serviço de Radioterapia, a dose poderia ser reduzida para 11Gy em pacientes que já tivessem recebido irradiação do SNC ou até contraindicada. Pacientes submetido a transplante não aparentado receberam ainda rATG 8 mg/kg no condicionamento. A profilaxia de doença do enxerto contra hospedeiro padrão era ciclosporina ou tacrolimus associado a metotrexate ou micofenolato mofetil, e a retirada da ciclosporina ou tacrolimus se iniciava entre o terceiro e quarto mês pós-transplante.

A coleta de dados foi feita por revisão dos prontuários dos pacientes. As variáveis utilizadas foram: idade, sexo do receptor e do doador, cor, sorologia para CMV do doador e do receptor, fonte de células-tronco, parentesco do doador, regime de condicionamento, esquema de profilaxia para DECH, unidade que encaminhou o paciente, fenótipo de leucemia, status de doença pré-transplante, presença de cromossomo Filadélfia (Ph), compatibilidade HLA e ABO, renda familiar e distância da residência até o centro de transplante. Os desfechos estudados foram óbito, recaída de doença e doença do enxerto contra hospedeiro. Status de doença precoce foi definida como doença em primeira remissão (CR1); intermediária, em segunda ou posterior remissão (CR2); e avançada, com doença em atividade. Compatibilidade HLA foi definida em baixa e alta resolução para os locus A, B e C, e em alta resolução para DR e DQ. Pacientes cujo status Filadélfia foi omitido foram analisados como Filadélfia negativo.

Variáveis categóricas foram comparadas pelo teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Variáveis contínuas foram comparadas pelo teste de Wilcoxon ou de Kruskal-Wallis. Sobrevida global e sobrevida livre de doença foram calculadas desde a data do transplante até a data do primeiro evento, que para sobrevida livre de doença foi resistência, recaída ou óbito e, para sobrevida global, óbito por qualquer causa. Curvas de sobrevida global e livre de doença foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do logrank. As análises de sobrevida não ajustadas e ajustadas para outras variáveis foram realizadas por modelo de Cox, sendo estimado o *hazard-ratio* (HR). As variáveis foram incluídas sequencialmente nos modelos, e a inclusão de cada uma delas foi avaliada pelo teste da razão de verossimilhança. A seguir, possíveis confundidores foram incluídos, e o modelo foi reavaliado. Foram considerados estatisticamente significativos p-valores menores que 0,05. Nestes modelos, DECH foi analisada como variável mudando no tempo. A dose de TBI considerada, na análise, foi a que o paciente

deveria ter feito de acordo com o protocolo institucional da época. Dois pacientes fizeram condicionamento com bussulfan (um deveria ter recebido 10Gy e o outro, 13,2Gy) e dois pacientes tiveram a dose de TBI reduzida para 11Gy (um deveria ter recebido 12Gy, e o outro, 13,2Gy). Variáveis tempo-dependentes foram identificadas pela análise dos resíduos de Schoenfeld, e abordadas por estratificação ou através da inclusão de um termo de interação com uma função do tempo<sup>108</sup>. Para análise de sobrevida global, a análise dos resíduos de Schoenfeld mostrou que por volta dos 6 meses o efeito de algumas variáveis mudava. Não foram reportados os efeitos isolados das interações, e sim os efeitos finais, somando-se os betas dos efeitos principais e do termo de interação. Para cálculo da variância desses efeitos finais, foram utilizadas as variâncias dos efeitos principais e dos termos de interação, e as covariâncias destes, sendo reportados os p valores dos termos de interação, isto é, a hipótese nula é que o efeito final não é diferente da soma dos betas dos efeitos principais. As análises de mortalidade relacionada ao transplante (TRM), à recaída e dos desfechos DECHa e DECHc foram feitas por modelo para risco competitivo. Os eventos considerados competitivos foram recaída ou óbito por recaída para TRM, morte em remissão para recaída, e recaída ou óbito sem DECH para DECHa e DECHc.

P-valores menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Todas as análises foram feitas utilizando o programa R, versão 3.1.2, com os pacotes "survival", "mstate", "epicalc" e "car".

## Resultados

Durante o período do estudo identificamos 85 pacientes que realizaram transplante para tratamento de LLA. Três pacientes foram excluídos: um por ter doador irmão gêmeo idêntico (transplante singênico), e outros dois por disfunção orgânica grave pré-transplante (uma síndrome de Down com insuficiência cardíaca congestiva, e uma seqüela de tuberculose prévia com disfunção pulmonar e caverna maior que 5 cm). Os dois pacientes com disfunção orgânica morreram de causas diretamente relacionadas às comorbidades.

As características dos pacientes estão descritas na tabela 1. Vinte e nove por cento eram adultos ( $\geq 18$  anos). Indivíduos brancos tiveram uma proporção maior transplante em fase intermediária da doença (em segunda remissão ou posterior) do que pacientes não-brancos (58,7% contra 33,3%,  $p=0,047$ , material suplementar). A proporção de pacientes em fase inicial da doença (em primeira remissão) foi menor quando a fonte foi sangue periférico mobilizado (SP) ou sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP): 28,6% e 6,2%, respectivamente, contra 51,9% com medula óssea (MO), com  $p<0,01$ . O grupo que utilizou SP como

fonte tinha maior proporção de Ph+ (50%, contra 17,3% e 12,5% de MO e SCUP, respectivamente,  $p=0,04$ , material suplementar). A distribuição da fase da doença foi diferente também entre os transplantes aparentados e não-aparentados ( $p<0,01$ , com proporção maior de fases intermediária e avançada no transplante não aparentado, material suplementar).

Pacientes transplantados em terceira remissão ou posterior tiveram uma tendência a ter renda familiar mensal maior (R\$ 2149, contra R\$ 1197,  $p=0,18$ , material suplementar). Excluindo-se os pacientes que vivam a mais de 1000 km do centro de transplante, pacientes em terceira remissão ou posterior moravam mais perto (25 km, contra 40 km,  $p=0,004$ ), e não houve nenhum indivíduo neste grupo que morasse a mais de 65 km de distância (no outro grupo, 37% dos pacientes moravam a mais de 65 km de distância).

Não tínhamos dados sobre sexo do doador para apenas um paciente.

No total, o tempo de acompanhamento mediano foi de 3 anos e houve 40 (49%) óbitos (sendo 19 em remissão) e 24 (29%) recaídas. Dos 25 (30%) óbitos ocorridos antes de 180 dias, 68% foram de causas diretamente relacionadas ao transplante e 32%, a recaída de leucemia, enquanto que 87% dos 15 (18%) óbitos ocorridos após esse período foram devidos a recaída de leucemia. Cinquenta e nove pacientes (72%) foram diagnosticados com DECH aguda, sendo 42 (51%) com grau máximo II-IV, e 10 (12%) com grau máximo III-IV. Houve, ainda, 32 (39%) diagnósticos de DECH crônica, sendo 17 (21%) com formas moderada/grave e 5 (6%) com forma grave.

## Sobrevida global e livre de doença

A sobrevida global e livre de doença, em cinco anos, foi de 45% e 39%, respectivamente (figura 1). As análises não ajustada e ajustada para outras variáveis estão na tabela 2.

No modelo final, os seguintes fatores de risco foram estatisticamente significativos: status de doença pré-transplante intermediário (HR=4,91; IC<sub>95</sub> 1,73 – 13,94,  $p=0,003$ ) e avançado (HR=4,95; IC<sub>95</sub> 1,52 – 16,01,  $p=0,008$ ), fonte SP (HR 2,76; IC<sub>95</sub> 1,13 – 6,74,  $p=0,03$ ), idade entre 18 e 35 anos (HR=2,66; IC<sub>95</sub> 1,00 – 7,09,  $p=0,05$ ), cor, grau de parentesco e dose de TBI para aparentados. Estas três últimas foram variáveis tempo-dependente, com mudança no perfil de risco após 6 meses. Não-brancos tiveram um risco maior de morte nos primeiros 6 meses (HR=5,73; IC<sub>95</sub> 2,32 – 14,06,  $p<0,001$ ), e o risco se igualou após esse período (HR=0,73; IC<sub>95</sub> 0,15 – 3,57, interação positiva,  $p=0,01$ ). Transplantes não aparentado ou aparentado com dose de TBI=12Gy tiveram risco maior nos primeiros 6 meses (HR=3,43; IC<sub>95</sub> 0,97 – 16,56,  $p=0,06$  e

HR=4,06; IC<sub>95</sub> 0,97 – 12,08, p=0,06, respectivamente) e com queda significativa após (HR=0,59; IC<sub>95</sub> 0,12 – 2,94, interação positiva, p=0,03, e HR=0,17; IC<sub>95</sub> 0,01 – 2,09, interação positiva, p=0,01, respectivamente). O teste da verossimilhança para a inclusão desse termo de interação foi significativo (p=0,01). A superioridade a longo prazo (i.e., sobrevida global após 3 anos) para transplante aparentado com TBI=12Gy pode ser vista nas curvas preditas pelo modelo (figura 2).

A mortalidade relacionada ao procedimento foi maior em não-brancos (HR=4,83; IC<sub>95</sub> 1,71 – 13,62, p=0,003), e com fonte SP (HR=4,54; IC<sub>95</sub> 1,07 – 19,26, p=0,04), controlado pelas mesmas variáveis do modelo acima.

A única variável associada a recaída (tabela 3), no modelo ajustado para outras variáveis, foi status de doença pré-transplante intermediário (HR=3,49; IC<sub>95</sub> 1,00 – 12,12, p=0,05), e avançado (HR=6,56; IC<sub>95</sub> 1,49 – 28,82, p=0,01). Não encontramos nenhuma evidência de proteção de DECH crônica contra recaída (HR=1,31; IC<sub>95</sub> 0,46 – 3,68, p=0,61), mesmo quando variáveis associadas a DECH crônica foram retiradas do modelo.

## Doença do enxerto contra o hospedeiro

Houve 59 (72%) pacientes com DECH aguda. Desses, 42 (51%) tiveram graus máximos II-IV, e 10 (12%) tiveram graus máximos III-IV. Trinta e dois pacientes (39%) foram diagnosticados com DECH crônica, sendo 17 nas formas moderada (21%) ou grave e 5 (6%) na forma grave. As características do diagnóstico de DECH aguda e crônica estão no material suplementar. As curvas de incidência cumulativa de DECH aguda e crônica estão na figura 3.

No modelo de risco competitivo, as únicas variáveis significativas para DECH aguda graus II-IV foram doença avançada ao transplante (HR 3,42; IC<sub>95</sub> 1,09 – 10,78, p=0,04), e presença de cromossomo Filadélfia (HR 2,42; IC<sub>95</sub> 1,02 – 5,70, p=0,04), controlado por fonte, parentesco, dose de TBI para aparentado, sexo, idade e sexo do doador.

No modelo ajustado para outras variáveis, o principal fator de risco para o desenvolvimento de DECH crônica (tabela 4) foi ter tido DECH aguda (qualquer grau, HR=9,02; IC<sub>95</sub> 2,43 – 33,5, p=0,001), seguido de doadora feminina (HR=2,94; IC<sub>95</sub> 1,32 – 6,59, p=0,009). Para as formas moderadas e graves de DECH crônica, doadora do sexo feminino também foi um fator de risco (HR=4,39; IC<sub>95</sub> 1,46 – 13,2, p=0,008), assim como DECH aguda prévia graus II-IV (HR=21,8; IC<sub>95</sub> 2,56 – 186, p=0,005), mas DECH

aguda grau I não foi estatisticamente significativo (HR 9,39; IC<sub>95</sub> 0,74 – 118, p=0,08).

## Discussão

Este trabalho apresenta os resultados recentes de transplante de células-tronco hematopoiéticas para LLA do único centro de transplante alogênico que atualmente atende os pacientes hematológicos da rede de saúde pública do Estado do Rio de Janeiro.

Na nossa população, status de doença intermediário ou avançado, uso de fonte de células-tronco periférico, cor não-branca e, para aparentados, dose de TBI menor foram fatores de risco para óbito. Fatores relacionados a doença (status avançado e Filadélfia positivo) se associaram a DECH aguda, e doadora feminina e DECH aguda prévia estiveram associadas a DECH crônica.

Uma questão que chama a atenção é o alto risco de morte nos primeiros seis meses pós-transplante em pacientes que se declararam negros ou pardos. O transplante é um procedimento de risco, com uma mortalidade relacionada ao procedimento relativamente alta. Como não há, na literatura, explicação genética plausível para esta diferença, acreditamos que a diferença observada seja secundária a diferenças na estrutura social e econômica desses dois grupos já identificada em censos nacionais. Fatores socioeconômicos impactando transplante já foram descritos. Selby et al <sup>82</sup> mostraram mortalidade tardia maior para indivíduos sem seguro de saúde após 100 dias (50% contra 15%), que foi relacionado à dificuldade desses pacientes para conseguir atendimento ou comprar medicamentos no pós-transplante. Nossa instituição fornece, sem custo para o paciente, todas as medicações utilizadas no pós-transplante. Bhayat et al <sup>84</sup> mostrou, em análise ajustada, que indivíduos com leucemia aguda mais pobres tinham menos chance de receber transplante (OR=0,60; IC<sub>95</sub> 0,49 – 0,73, p<0,001). Pacientes mais pobres, submetidos a TMO em Porto Alegre/Brasil <sup>90</sup>, tiveram risco de morte relacionada ao transplante significativamente maior (HR=1,92; IC<sub>95</sub> 1,03 – 3,56, p=0,04). Majhail et al <sup>85</sup>, em revisão de estudos com população norte-americana, concluiu que há disparidade racial no acesso ao transplante e na mortalidade pós procedimento.

Na nossa população, os resultados com a fonte de células-tronco de sangue periférico mobilizado foram significativamente piores (HR=2,76; IC<sub>95</sub> 1,13 – 6,74, p=0,03). Não encontramos nenhuma evidência de proteção de DECH contra recaída de leucemia (HR=1,31; IC<sub>95</sub> 0,46 – 3,68, p=0,61), mas o baixo número absoluto de recaídas, 24, impede qualquer conclusão definitiva. Em estudo que só incluiu indivíduos com LLA, Marks et al <sup>46</sup> também mostraram resultados piores com sangue periférico (HR=1,82; IC<sub>95</sub> 1,15 – 2,88,

$p=0,01$ ), mas os próprios autores subvalorizaram este resultado. É uma crença comum que sangue periférico ofereça um maior controle sobre a doença neoplásica através de um maior efeito do enxerto contra a leucemia (efeito GVL). Isso se correlacionaria clinicamente com maior risco para DECH e com maior toxicidade relacionada ao transplante, sem diferença na sobrevida global. Isso foi comprovado em metanálise de estudos randomizados que incluiu várias neoplasias hematológicas diferentes<sup>114</sup>. Especificamente em relação a LLA, recentemente foi demonstrado *in vitro* que linfócitos NK expandidos de sangue periférico são menos eficazes contra as células da LLA do que linfócitos NK expandidos de cordão<sup>115</sup>. O linfócito NK faz parte da imunidade inata e atua também no controle de patógenos. De fato, o papel do linfócito NK no controle da LLA vem ganhando destaque<sup>116-118</sup>, e não há correlação entre o efeito GVL do linfócito NK e DECH<sup>119</sup>. Esta pode ser uma explicação para esses resultados aparentemente discrepantes em LLA.

Nossos resultados demonstram uma melhoria da sobrevida após aumento da dose de TBI de 10Gy para 12Gy em transplante aparentado (66% contra 43% em 3 anos), às custas de uma mortalidade maior nos primeiros 6 meses (27% contra 19%). Apenas um tempo de acompanhamento maior permitirá dizer, na nossa população, se haverá aumento da toxicidade tardia. A população com dose de TBI=10Gy é um controle histórico, mas é pouco provável que esse resultado esteja sendo confundido por efeito de coorte, já que essa melhoria não se observou entre os transplantes não-aparentados (onde a dose foi 13,2Gy, sem mudança no período). Somente dois pacientes não receberam a dose programada de 12Gy (um reduziu a dose para 11Gy, e outro utilizou bussulfan) e apenas um paciente não recebeu a dose programada de 10Gy (utilizou bussulfan), porém a exclusão desses pacientes não alterou os resultados. Apesar de que a interpretação dos termos de interação como tempo é, de certa forma, mais complexa, principalmente em modelos de Cox, o teste da verossimilhança entre o modelo com e sem interação foi significativo ( $p=0,01$ ), e as curvas preditas pelo modelo são claramente diferentes. A dose ideal de TBI, no entanto, ainda é motivo de pesquisa. Estudos de registro do CIBMTR<sup>46,120</sup> sugerem que doses de TBI maiores ou iguais a 13Gy em associação com Ciclofosfamida em pacientes em CR2 resultam sobrevida global maior (HR=0,32; IC<sub>95</sub> 0,17 – 0,61,  $p=0,0005$ ) e que, em crianças, doses superiores a 12Gy não oferecem nenhum benefício (35% de recaídas no grupo Cy+TBI $\geq$ 13Gy, contra 30% no grupo até Cy+TBI $\leq$ 12Gy). Este debate é de extrema importância. Se doses de TBI até 12Gy são bem toleradas em crianças de 3-18 anos, as complicações pulmonares, cardíacas, renais, oculares e endócrinas são bem conhecidas em adultos, e chegam a ser inaceitáveis em crianças menores que 3 anos<sup>121,122</sup>. Nesse contexto, alternativas estão sendo buscadas, e a formulação intravenosa do

Bussulfan surge como promissora <sup>123,124</sup>.

Diferentemente de resultados já publicados <sup>25,52</sup>, o grupo de pacientes entre 18-35 anos se beneficiou menos do que o grupo de pacientes mais velhos, com maior risco de óbito (HR=2,66; IC<sub>95</sub> 1,00 – 7,09, p=0,05). Isso contrasta com resultados já publicados. Uma metanálise recente <sup>25</sup> mostrou que pacientes menores de 35 anos se beneficiam de ter doador aparentado (OR=0,79; IC<sub>95</sub> 0,70 – 0,90, p=0,0003) enquanto indivíduos >35 anos, não (OR=1,01; IC<sub>95</sub> 0,85 – 1,19, p=0,90). Wood et al <sup>52</sup> mostraram que o risco de óbito aumenta progressivamente com a idade (HR=1,57; IC<sub>95</sub> 1,40 – 1,77, p<0,001 para idade entre 15 e 40 anos, e HR 2,04; IC<sub>95</sub> 1,75 – 2,39, p<0,001 para idade maior que 40 anos). É possível que exista viés de seleção ou fatores de confundimento que não foram identificados, já que o estudo é retrospectivo e observacional, que o centro de transplante recebe os pacientes de forma passiva (i.e., são encaminhados pelos serviços que fazem o tratamento quimioterápico), e que o fato de que pacientes mais jovens se beneficiam mais já era, intuitivamente, de amplo conhecimento no período.

Pacientes com doença em atividade no momento do transplante tiveram resultados muito ruins, com sobrevida em 3 anos de 18% (IC<sub>95</sub> 5% – 64%), comparável aos resultados do CIBMTR <sup>125</sup>. Deve-se ressaltar que, sem transplante, a sobrevida desse grupo é próxima a zero, indicando que há algum subgrupo que se beneficia do procedimento. Este resultado confirma na nossa população resultados internacionais já publicados <sup>126-128</sup>.

O risco de doença do enxerto contra o hospedeiro agudo grau II-IV esteve relacionada a fatores intrínsecos da LLA (status pré-transplante e presença de cromossomo Filadélfia), e não a características do indivíduo ou do transplante. Sohn et al <sup>71</sup> mostrou que, em pacientes que tiveram DECHa graus III-IV, indivíduos com doença em atividade tem maior risco de desenvolver as formas quiescente e progressiva de DECHc (HR=2,08; IC<sub>95</sub> 1,20 – 3,61, p=0,009). Nash et al <sup>129</sup>, em estudo retrospectivo unicêntrico, mostrou um aumento de risco não significativo (HR=1,37; IC<sub>95</sub> 0,97 – 1,92, p=0,07) para DECHa em pacientes com doença avançada. É biologicamente plausível que pacientes em estados mais avançados de doença estejam sob maior risco de DECH, pois receberam uma carga cumulativa de quimioterapia maior ao longo do tratamento, mas esse não é o caso da presença do cromossomo Filadélfia, presente apenas nas células leucêmicas. Leucemia mieloide crônica (LMC), que também tem o cromossomo Filadélfia, é um clássico fator de risco para DECHa (HR=1,35; IC<sub>95</sub> 1,15 – 1,59, p=0,0003), porém LLA é uma doença diferente e o mecanismo pelo qual LMC aumenta esse risco não está diretamente ligado do cromossomo Filadélfia <sup>130</sup>. É

pouco provável que o uso de Imatinibe nesse grupo tenha ter aumentado o risco de DECH, pois seu uso não foi universal nem uniforme. Além disso, há relato <sup>131</sup> de redução de risco de DECH com uso de Imatinibe (HR=0,25; IC<sub>95</sub> 0,09 – 0,71, p=0,009). Doença em atividade e LLA Filadélfia são fatores de riscos associados a recaída pós-transplante e pós-tratamento quimioterápico, respectivamente <sup>125,132</sup>. É bem possível, então, que exista um componente iatrogênico importante, relacionado ao manejo da imunossupressão no pós-transplante, mas este é um dado extremamente difícil de ser coletado fora do contexto de estudos prospectivos. Deve-se ressaltar que consideramos, na análise, status Filadélfia ignorado/omitido/desconhecido como negativo. Analisamos também, então, esses indivíduos no grupo Filadélfia positivo. Se realmente houvesse uma proporção grande de LLA Ph+ nesse grupo, e se LLA Ph+ realmente fosse um fator de risco para DECHa, esperaríamos que a medida de associação fosse maior. Mas ocorreu justamente o contrário: o efeito se diluiu. Isso reforça a hipótese de um efeito iatrogênico.

Qualquer grau de DECH aguda prévia e doadora do sexo feminino estiveram associados a maior risco de DECH crônica. Para DECH crônica moderada ou grave, foram encontrados os mesmos fatores de risco, exceto DECH aguda grau I, que não atingiu significância estatística (HR=9,39; IC<sub>95</sub> 0,74 – 118, p=0,08). Esses fatores de risco já foram relatados: Carlens et al <sup>133</sup> reportaram HR=1,70; IC<sub>95</sub> 1,17 – 2,48, p=0,006 para doadora feminina, e HR=2,05; IC<sub>95</sub> 1,16 – 3,64, p<0,001, para DECHa prévia. Flowers et al <sup>67</sup>, HR=1,37; IC<sub>95</sub> 1,19 – 1,57, p<0,001 para doadora feminina e HR=1,42; IC<sub>95</sub> 1,14 – 1,77, p=0,002 para DECHa graus III-IV prévia. Na nossa população, o impacto dessas variáveis foi maior tanto para doadora feminina (HR=2,94; IC<sub>95</sub> 1,32 – 6,59, p=0,009) quanto para DECHa prévia (HR=9,02; IC<sub>95</sub> 1,43 – 33,5, p=0,001). Nossa população é de um período mais recente (entre 2008 e 2014, contra 1975 a 1996 e 1992 a 2005), mais homogênea (incluiu apenas LLA, contra várias doenças hematológicas malignas e não malignas, e em mais de 95% dos transplantes o condicionamento foi à base de CyTBI, contra vários condicionamentos) e a retirada da imunossupressão se iniciou mais cedo (entre terceiro e quarto mês, contra após o sexto mês). Isso pode ter maximizado o efeito dessas variáveis na nossa população. Nossa incidência cumulativa de DECHc foi a mesma de Flowers et al (cerca de 42%).

Por último, notamos diferença na distribuição da distância da moradia ao centro de transplante entre pacientes com status de doença de mais precoces (primeira e segunda remissão) e mais avançadas (terceira ou posterior remissão, ou doença em atividade). Supõe-se que a distância física impõe uma barreira ao acesso destes, refletindo a ausência de centro de transplante público em cidades do interior do Estado.

Este estudo tem algumas limitações. É retrospectivo, e o tempo de acompanhamento de alguns pacientes ainda é pequeno. Por outro lado, o período do estudo é muito recente e reflete a prática atual. O número de pacientes incluídos foi relativamente grande e a população estudada, homogênea.

## **Conclusão**

Este trabalho, portanto, sugere que doses de TBI  $\leq 10$ Gy para transplante aparentado devam ser abandonadas pois os resultados a médio/longo prazo são piores, e que a fonte de células-tronco preferencial deva ser medula óssea. Pacientes vulneráveis podem estar sob maior risco de morte precoce, e esses indivíduos devem receber um apoio diferenciado, com objetivo de melhorar o suporte extrahospitalar. Para pacientes com fatores de risco para DECH, a imunossupressão deve ser mantida por 6 meses a fim de minimizar o impacto dessas variáveis. Os resultados em pacientes com doença avançada, apesar de ruins, contrariam, apenas do ponto de vista técnico, a recomendação da SBTMO de não realizar transplante nesse grupo.

## Tabelas

Tabela 1. Características dos pacientes, estratificada pelo desfecho óbito

	Total=82		p-valor	Total
	Vivo	Óbito		
Total	42	40		82 (%)
<b>Idade</b>				
Mediana (IQR)	12.5 (7.3,19.7)	13.3 (7.0,21.1)	0.95	12.9 (7.0,20.6)
<b>Sexo</b>				
Masculino	31 (74%)	31 (78%)	0.90	62 (76%)
Feminino	11 (26%)	9 (22%)		20 (24%)
<b>Sexo do doador</b>				
Masculino	21 (50%)	23 (59%)	0.56	44 (54%)
Feminino	21 (50%)	16 (41%)		37 (46%)
<b>Cor</b>				
Branco	25 (60%)	21 (52%)	0.68	46 (56%)
Não-branco	17 (40%)	19 (48%)		36 (44%)
<b>Condicionamento</b>				
Baseado em bussulfan	0	2 (4%)	0.18	2 (2%)
Baseado em TBI	42 (100%)	38 (95%)		80 (98%)
<b>Parentesco</b>				
Parente, TBI=10	9 (21%)	12 (30%)	0.08	21 (26%)
Parente, TBI=12	17 (40%)	7 (18%)		24 (29%)
Não aparentado, TBI=13.2	16 (38%)	21 (52%)		37 (45%)
HLA $\geq$ 7/8	6 (14%)	4 (10%)		10 (12%)
HLA $<$ 7/8 ou desconhecido	5 (12%)	7 (18%)		12 (15%)
Cordão HLA 4/6	2 (5%)	7 (18%)		9 (11%)
Cordão HLA 5/6	3 (7%)	3 (8%)		6 (7%)
<b>Fonte</b>				
Medula óssea	31 (74%)	21 (52%)	0.13	52 (63%)
Sangue periférico	5 (12%)	9 (22%)		14 (17%)
Sangue de cordão	6 (14%)	10 (25%)		16 (20%)
<b>Status de doença</b>				
Precoce	25 (60%)	7 (18%)	<b>&lt; 0.001</b>	32 (39%)
Intermediário	15 (36%)	24 (60%)		39 (48%)
Avançado	2 (5%)	9 (22%)		11 (13%)

Origem				
Federal	6 (14%)	9 (22%)		15 (18%)
Hemocentro	10 (24%)	10 (25%)		20 (24%)
Inca	14 (33%)	10 (25%)	0.85	24 (29%)
Privado	4 (10%)	3 (8%)		7 (9%)
Universitário	8 (19%)	8 (20%)		16 (20%)
Filadélfia				
Negativo	13 (31%)	12 (30%)		25 (31%)
Positivo	11 (26%)	7 (18%)	0.57	18 (22%)
Desconhecido	18 (43%)	21 (52%)		39 (48%)
CMV do paciente				
Negativo	7 (17%)	4 (11%)		11 (14%)
Positivo	34 (83%)	33 (89%)	0.64	67 (86%)
CMV do doador				
Negativo	11 (28%)	7 (22%)		27 (36%)
Positivo	29 (72%)	25 (78%)	0.78	49 (65%)

DP, desvio padrão; precoce, primeira remissão; intermediário, remissão subsequente; avançado, doença ativa. Tipagem HLA em alta resolução para A, B, C e DR em transplante com doador, e baixa resolução em A e B e alta resolução em DR para transplante com cordão

Tabela 2. Fatores de risco para óbito, por modelo de Cox

	N=82					
	Não Ajustado			Ajustado		
	HR	IC 95%	p-valor	HR <sub>aj</sub>	IC 95%	p-valor
<b>Status CIBMTR</b>						
Precoce			0,002*	Ref		<0,001*
Intermediário	3,08	1,32 – 7,14	0,009	4,91	1,73 – 13,94	<b>0,003</b>
Avançado	5,13	1,90 – 13,85	0,001	4,95	1,52 – 16,01	<b>0,008</b>
<b>Fonte</b>						
Medula óssea			0,03*	Ref		0,10*
Sangue periférico	2,93	1,31 – 6,54	0,009	2,76	1,13 – 6,74	<b>0,03</b>
Sangue de cordão	1,88	0,88 – 4,00	0,10	1,13	0,44 – 2,91	0,80
<b>Idade</b>						
< 18 anos			0,19*	Ref		0,13*
18-35 anos	1,76	0,85 – 3,64	0,13	2,66	1,00 – 7,09	<b>0,05</b>
> 35 anos	0,62	0,19 – 2,06	0,44	0,92	0,22 – 3,67	0,90
<b>Sexo</b>						
Masculino				Ref		
Feminino	0,86	0,41 – 1,80	0,68	1,68	0,70 – 4,06	0,25
<b>Parentesco</b>						
Até 180 dias						
Aparentado, até 10Gy			0,60*	Ref		<b>0,04*</b>

Aparentado, 12Gy	0,67	0,26 – 1,70	0,39	4,06	0,97 – 12,08	0,06
Não Aparentado	1,21	0,83 – 2,47	0,60	3,43	0,97 – 16,56	0,06
Após 180 dias***						
Aparentado, 10Gy	-	-	-	Ref		-
Aparentado, 12Gy	-	-	-	0,17***	0,01 – 2,09	<b>0,01**</b>
Não Aparentado	-	-	-	0,59***	0,12 – 2,94	<b>0,03**</b>

Cor

Até 180 dias						
Branco				Ref		<b>&lt;0,001*</b>
Não-branco	1,56	0,84 – 2,91	0,16	5,73	2,32 – 14,06	<b>&lt;0,001</b>
Após 180 dias***						
Branco	-	-	-	Ref		-
Não-branco	-	-	-	0,73***	0,15 – 3,57	<b>0,01**</b>

\*teste global; \*\* teste de interação; \*\*\* HR representa a multiplicação dos efeitos das covariáveis com o termo de interação. Teste da verossimilhança do modelo sem termos de interação e com termos de interação: p=0,002

Tabela 3. Fatores de risco para recaída, por modelo para risco competitivo

	N=82					
	Não ajustado			Ajustado		
	HR	IC 95%	p	HR <sub>aj</sub>	IC 95%	p
<b>Status CIBMTR</b>						
Precoce	Ref		0,002*	Ref		<b>0,03*</b>
Intermediário	3,08	1,32 – 7,14	0,009	3,49	1,00 – 12,1	<b>0,05</b>
Avançado	5,13	1,90 – 13,85	0,001	6,56	1,49 – 28,8	<b>0,01</b>
<b>Fonte</b>						
Medula óssea	Ref		0,39*	Ref		0,59*
Sangue periférico	1,25	0,42 – 3,76	0,69	0,91	0,24 – 3,48	0,89
Sangue de cordão	0,74	0,25 – 2,23	0,60	0,51	0,13 – 1,89	0,31
<b>Idade</b>						
< 18 anos	Ref		0,37*	Ref		0,52*
18-35 anos	1,07	0,40 – 2,88	0,90	1,00	0,26 – 3,83	0,99
> 35 anos	0,32	0,04 – 2,37	0,44	0,34	0,04 – 3,02	0,33
<b>Sexo</b>						
Masculino	Ref			Ref		
Feminino	1,44	0,60 – 3,48	0,42	2,17	0,74 – 6,34	0,16
<b>Parentesco</b>						
Aparentado, 10Gy	Ref		0,60*	Ref		0,62*
Aparentado, 12Gy	0,31	0,08 – 1,12	0,07	0,49	0,11 – 2,16	0,35
Não Aparentado	0,67	0,29 – 1,56	0,36	0,91	0,31 – 2,71	0,87
<b>DECH crônica</b>						
Não	Ref			Ref		
Sim	0,88	0,33 – 2,31	0,79	1,31	0,46 – 3,82	0,61

\*teste global

Tabela 4. Fatores de risco para DECHc, por modelo para risco competitivo

	N=81					
	Não ajustado			Ajustado		
	HR	IC 95%	p-valor	HR <sub>aj</sub>	IC 95%	p-valor
<b>Fonte</b>						
Medula óssea	Ref		0,68**	Ref		0,97**
Sangue periférico	0,87	0,33 – 2,31	0,79	1,01	0,31 – 3,35	0,98
Sangue de cordão	0,62	0,21 – 1,80	0,38	1,13	0,27 – 4,80	0,61
<b>Idade</b>						
até 18 anos	Ref		0,05**	Ref		0,29**
18 – 35 anos	1,20	0,48 – 3,02	0,70	1,25	0,40 – 3,92	0,70
> 35 anos	3,34	1,39 – 8,06	0,007	2,27	0,84 – 6,11	0,10
<b>Sexo Receptor</b>						
Masculino	Ref			Ref		
Feminino	1,26	0,58 – 2,73	0,56	1,26	0,52 – 3,06	0,61
<b>Sexo Doador</b>						
Masculino	Ref			Ref		
Feminino	1,38	0,68 – 2,80	0,37	2,94	1,32 – 6,59	<b>0,009</b>
<b>Parentesco</b>						
Aparentado, TBI=10Gy	Ref		0,08**	Ref		0,47**
Aparentado, TBI=12Gy	2,89	1,08 – 7,74	0,03	1,97	0,60 – 6,50	0,27
Não-aparentado	1,53	0,58 – 4,04	0,39	1,28	0,35 – 4,64	0,70
<b>DECH aguda *</b>						
Não	Ref			Ref		
Graus I-IV	5,58	1,69 – 18,47	0,005	9,02	2,43-33,5	<b>0,001</b>

Controlado por status pré-transplante. \* Teste da razão da verossimilhança com modelo

considerando DECH aguda graus II-IV: p=**0,001**; \*\* Teste global

Tabela 5. Fatores de risco para DECHc moderada/grave, por modelo para risco competitivo

Fonte	N=81					
	Não ajustado			Ajustado		
	HR	IC 95%	p-valor	HR <sub>aj</sub>	IC 95%	p-valor
Medula óssea	Ref		0,51*	Ref		0,24*
Sangue periférico	0,59	0,14 – 2,66	0,50	0,30	0,05 – 1,83	0,19
Sangue de cordão	0,49	0,11 – 2,16	0,34	1,07	0,14 – 7,90	0,95
<b>Sexo Receptor</b>						
Masculino	Ref			Ref		
Feminino	0,65	0,19 – 2,26	0,50	0,70	0,17 – 2,88	0,62
<b>Sexo Doador</b>						
Masculino	Ref			Ref		
Feminino	2,05	0,78 – 5,38	0,15	4,39	1,46 – 13,2	<b>0,008</b>
<b>DECH aguda</b>						
Não	Ref		0,008*	Ref		<b>&lt;0,001</b>
Grau I	2,94	0,27 – 32,4	0,38	9,39	0,74 – 118	0,08
Graus II-IV	9,12	1,20 – 69,4	0,03	21,8	2,56 – 186	<b>0,005</b>
<b>Parentesco</b>						
Aparentado	Ref			Ref		
Não-aparentado	0,46	0,16 – 1,31	0,15	0,41	0,09 – 1,90	0,26
<b>Status de Doença, class. CIBMTR</b>						
Precoce	Ref		0,19*	Ref		0,43*
Intermediário	0,37	0,12 – 1,11	0,08	0,55	0,14 – 2,19	0,40
Avançado	0,83	0,22 – 3,05	0,77	0,56	0,12 – 2,56	0,47
<b>Idade</b>						
até 18 anos	Ref		0,26*	Ref		0,26*
18 – 35 anos	2,32	0,78 – 6,93	0,13	2,54	0,65 – 9,98	0,18
> 35 anos	2,16	0,58 – 7,97	0,25	1,82	0,40 – 8,18	0,44

\* teste global

## Figuras

Figura 1. Sobrevida global (A) e livre de doença (B), toda a população

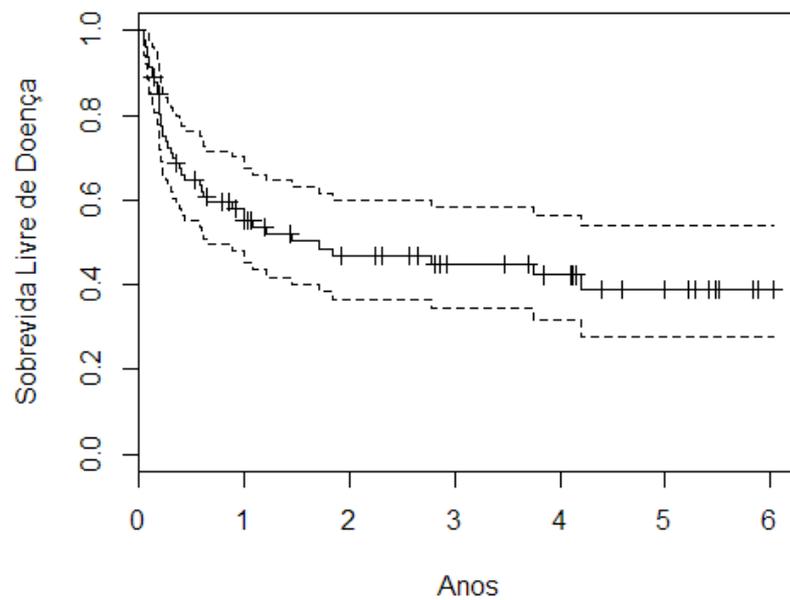
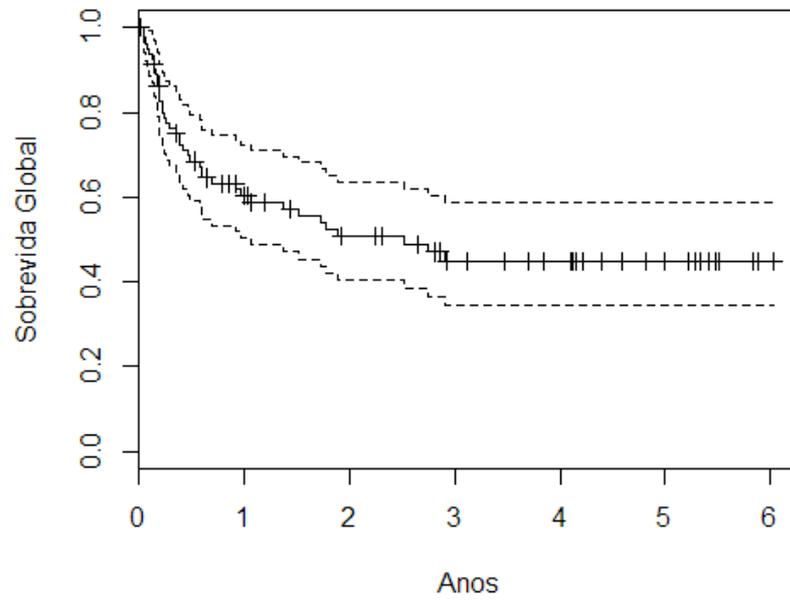


Figura 2. Curvas de sobrevida global ajustadas para transplante aparentado, de acordo com dose de TBI

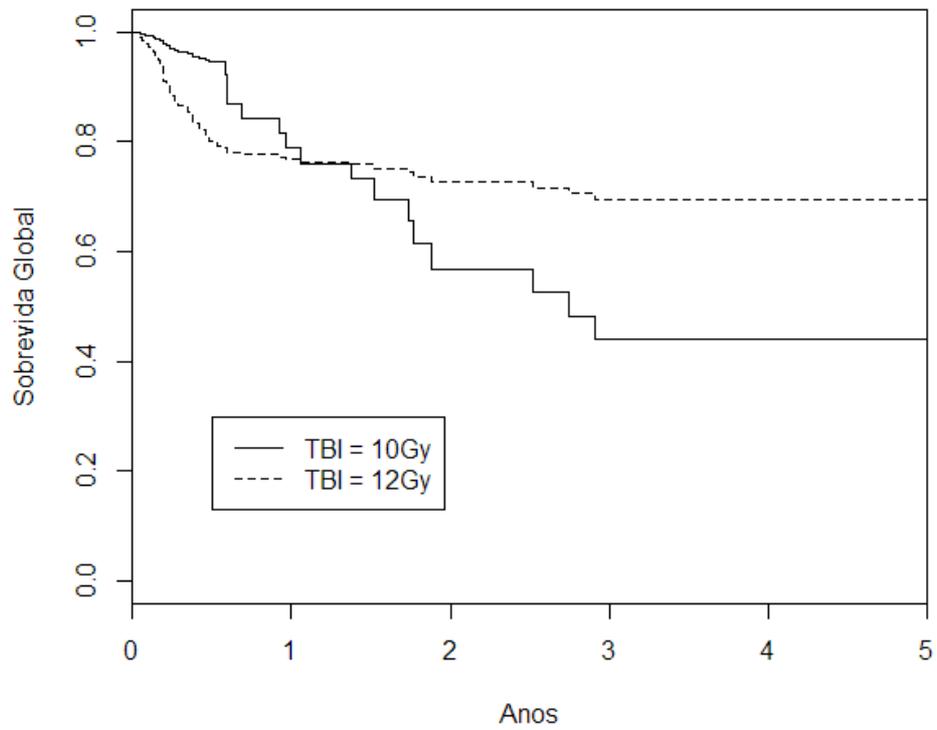
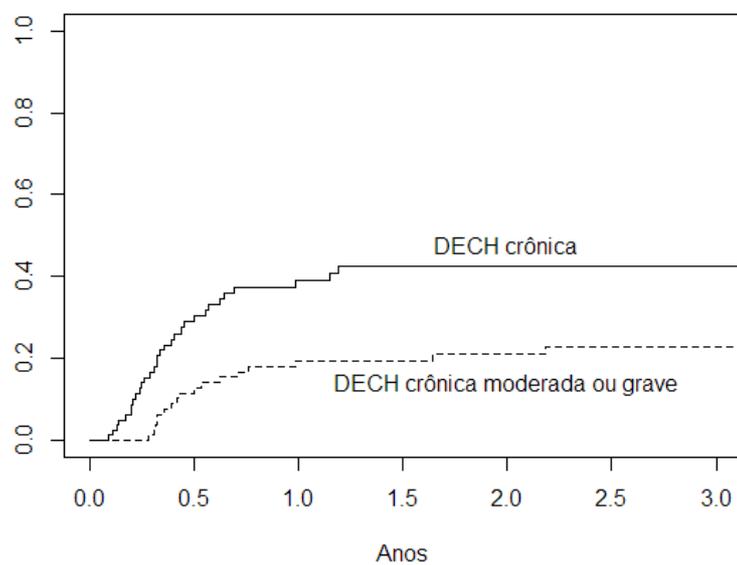
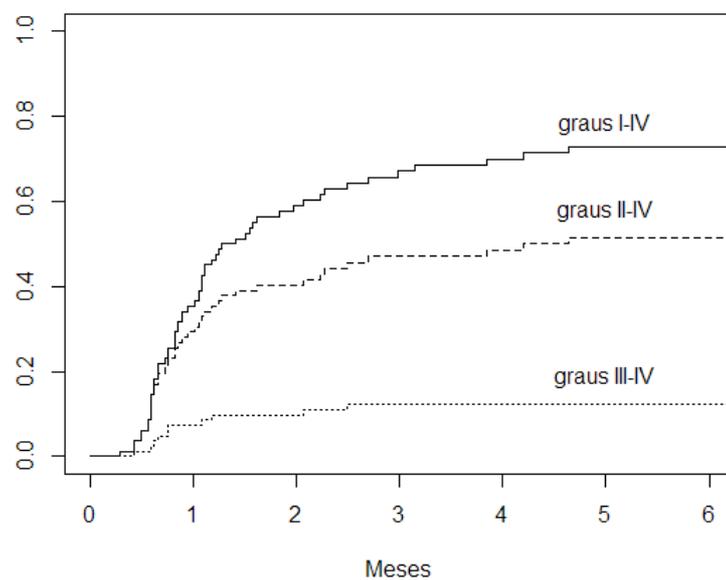


Figura 3. Incidências cumulativas de DECH aguda e crônica



## Material suplementar

Tabela S1. Compatibilidade HLA e ABO

	N=82
Compatibilidade HLA*	
Aparentado 6/6	44 (54%)
Não Aparentado	37 (45%)
Doador $\geq$ 7/8	10 (12%)
Doador sem informação	12 (15%)
Cordão 6/6	0
Cordão 5/6	6 (7%)
Cordão 4/6	9 (11%)
Compatibilidade ABO	
Compatível	41 (50%)
Incompatibilidade	40 (49%)
Maior	18 (22%)
Menor	19 (23%)
Bidirecional	3 (4%)
Desconhecida	1 (1%)

\* Com doador aparentado, compatibilidade em baixa resolução para A, B e DR; não aparentado, compatibilidade em alta resolução para A, B, C e DRB1; com cordão, compatibilidade em baixa resolução para HLA-A e B, e alta resolução para DRB1. Doador sem informação significa sem informação de compatibilidade em alta resolução

Tabela S2. Características dos pacientes, de acordo com a cor

	branco	não-branco	Test stat.	P value
Total	46 (%)	36 (%)		
origem do paciente			Fisher's exact test	0.37
federal	7 (15.2)	8 (22.2)		
hemocentro	12 (26.1)	8 (22.2)		
inca	13 (28.3)	11 (30.6)		
privado	6 (13.0)	1 (2.8)		
universitário	8 (17.4)	8 (22.2)		
Renda*			Ranksum test	0.78
mediana (IQR)	1375.7 (650 – 3000)	1196.9 (829 – 2059)		
número de pessoas na família			Ranksum test	0.30
mediana (IQR)	4 (3.2,4.8)	4 (4,5)		
Distancia**			Ranksum test	0.14
mediana (IQR)	35.8 (26,53)	47 (25.1,129)		
status.cibmtr			Fisher's exact test	<b>0.05</b>
early	13 (28.3)	19 (52.8)		
intermediate	27 (58.7)	12 (33.3)		
advanced	6 (13)	5 (13.9)		
CMV do paciente			Fisher's exact test	0.10
negativo	9 (20.5)	2 (5.9)		
positivo	35 (79.5)	32 (94.1)		

\* renda bruta corrigida pelo índice de inflação, com informação disponível para 45 pacientes; \*\* distancia entre centro de transplante e residência, calculado pelo trajeto; IQR, intervalo interquartil; precoce, primeira remissão; intermediário, remissão subsequente; avançado, doença ativa.

Tabela S3. Características dos pacientes, de acordo com a fonte

	mo	sp	scup	Test stat.	P value
Total	52 (%)	14 (%)	16 (%)		
status.cibmtr				Fisher's exact test	<b>0.005</b>
early	27 (51.9)	4 (28.6)	1 (6.2)		
intermediate	18 (34.6)	8 (57.1)	13 (81.2)		
advanced	7 (13.5)	2 (14.3)	2 (12.5)		
parente					
aparentado	35 (67.3)	9 (64.3)	1 (6.2)		
nao aparentado	17 (32.7)	5 (35.7)	15 (93.8)		
idade				Kruskal-Wallis test	<b>&lt; 0.001</b>
median(IQR)	12.9 (7.2-20.5)	24.3 (15.8-42)	8.1 (5.7-10)		
sexo				Fisher's exact test	<b>0.02</b>
masculino	37 (71.2)	9 (64.3)	16 (100)		
feminino	15 (28.8)	5 (35.7)	0 (0)		
filadélfia				Fisher's exact test	<b>0.04</b>
negativo	18 (34.6)	4 (28.6)	3 (18.8)		
positivo	9 (17.3)	7 (50)	2 (12.5)		
desconhecido	25 (48.1)	3 (21.4)	11 (68.8)		

IQR, intervalo interquartil; precoce, primeira remissão; intermediário, remissão subsequente; avançado, doença ativa.

Tabela S4. Características dos pacientes, de acordo com parentesco

	aparentado	nao aparentado	Test stat.	P value
Total	45 (%)	37 (%)		
status.cibmtr			Fisher's exact test	<b>0.003</b>
early	25 (55.6)	7 (18.9)		
intermediate	16 (35.6)	23 (62.2)		
advanced	4 (8.9)	7 (18.9)		
cor.2			Chisq. (1 df) = 0.61	0.44
branco	23 (51.1)	23 (62.2)		
nao branco	22 (48.9)	14 (37.8)		
idade			Ranksum test	<b>0.03</b>
median(IQR)	14.8 (8.2,27.5)	10 (6.9,15.4)		
sexo			Fisher's exact test	0.43
masculino	31 (68.9)	31 (83.8)		
feminino	14 (31.1)	6 (16.2)		
filadélfia			Fisher's exact test	0.08
negativo	18 (40)	7 (18.9)		
positivo	7 (15.6)	11 (29.7)		
desconhecido	20 (44.4)	19 (51.4)		

IQR, intervalo interquartil; precoce, primeira remissão; intermediário, remissão subsequente; avançado, doença ativa.

Tabela S5. Características da DECH aguda

Grau Máximo	
	n=82
Não	24 (29%)
I	17 (21%)
II	31 (38%)
III	4 (5%)
IV	6 (7%)
Características Temporais	
	Mediana * (IQR)
Diagnóstico	30 (19 - 47)

\* em dias pós-transplante

Tabela S6. Características da DECH crônica

Características Clínicas	
	n=82
Gravidade no diagnóstico de DECH	32 (39%)
Leve	29 (35%)
Moderado	3 (4%)
Progressão	
Leve para Moderado	14 (17%)
Moderado para Grave	5 (6%)
Características Temporais	
	dias
	Mediana (IQR)
Diagnóstico	122 (79 - 204)
Progressão	
Leve para Moderado	69 (37 - 126)
Moderado para Grave	23 (19 - 341)

Tabela S7. Distribuição dos estágios de doença, por cor

	Branco	Não-branco
Crianças		
Precoce	8 (10%)	13 (16%)
Intermediário	22 (27%)	10 (12%)
Avançado	2 (2%)	3 (4%)
Adultos		
Precoce	5 (6%)	6 (7%)
Intermediário	5 (6%)	2 (2%)
Avançado	4 (5%)	2 (2%)

Figura S1. Histograma da distribuição da idade

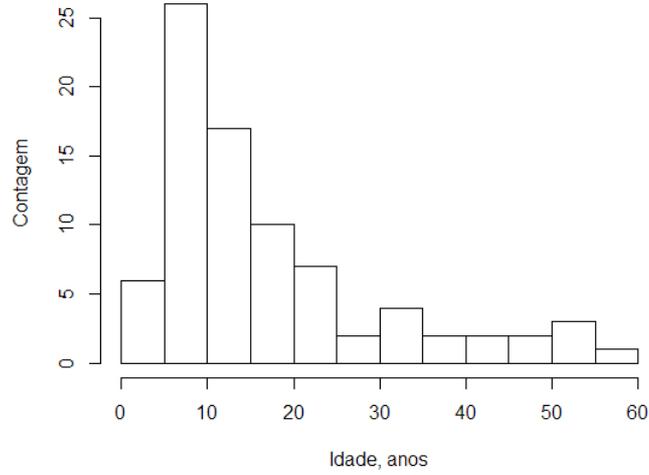
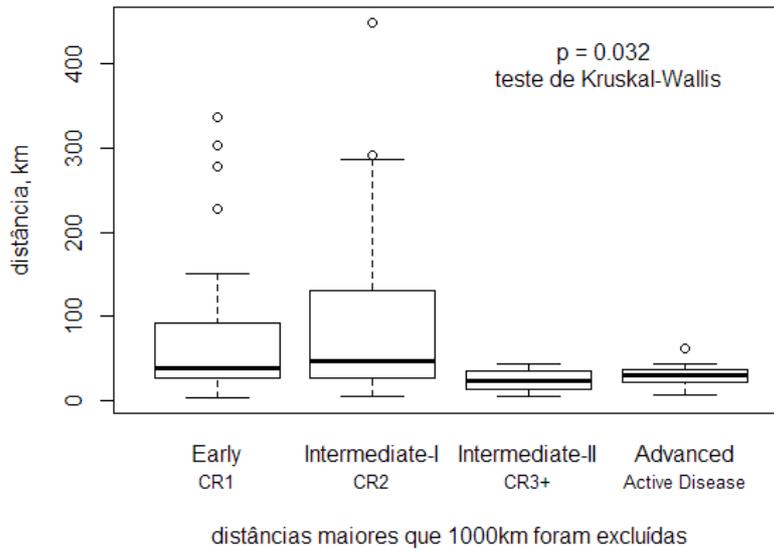


Figura S2. Boxplot da distância entre moradia e centro de transplante

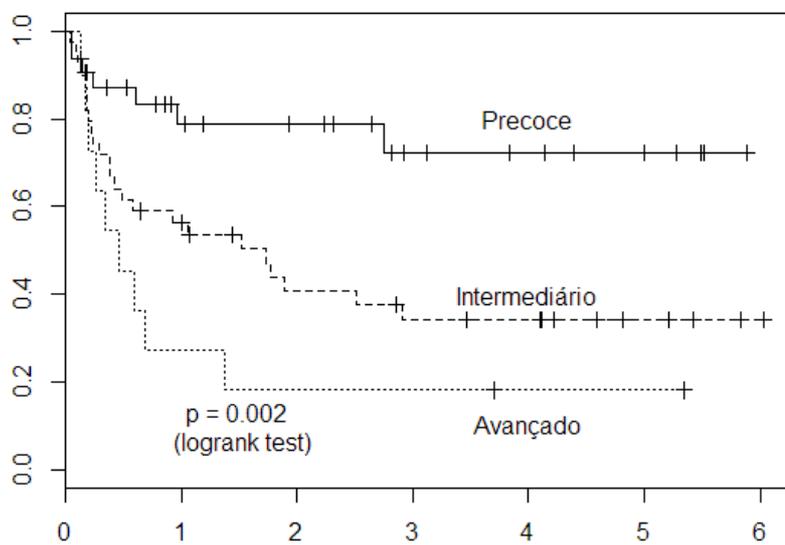
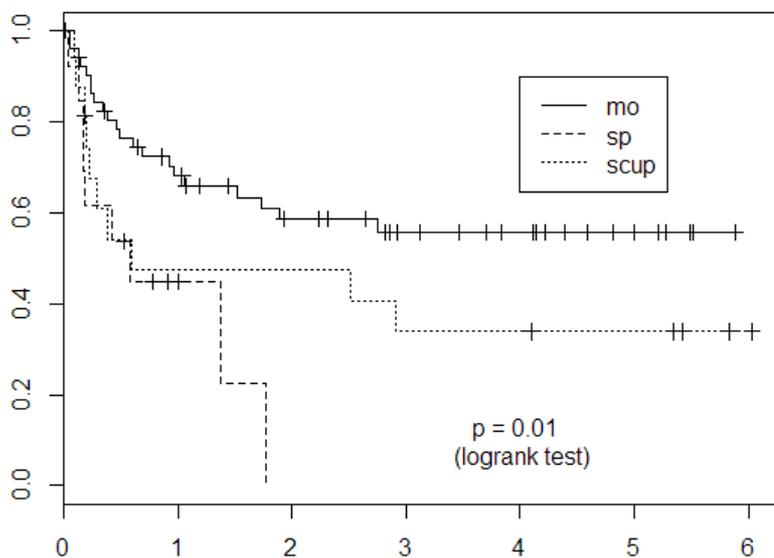


Early vs. Intermediate-II:  $p=0,02$  (teste de Mann-Whitney)

Early vs. Advanced:  $p=0,05$  (teste de Mann-Whitney)

Intermediate-I vs. Intermediate-II:  $p=0,03$  (teste de Mann-Whitney)

Figura S3. Sobrevida global de acordo com (A) fonte de células-tronco, (B) status pré-transplante, (C) parentesco e (D) Filadélfia.



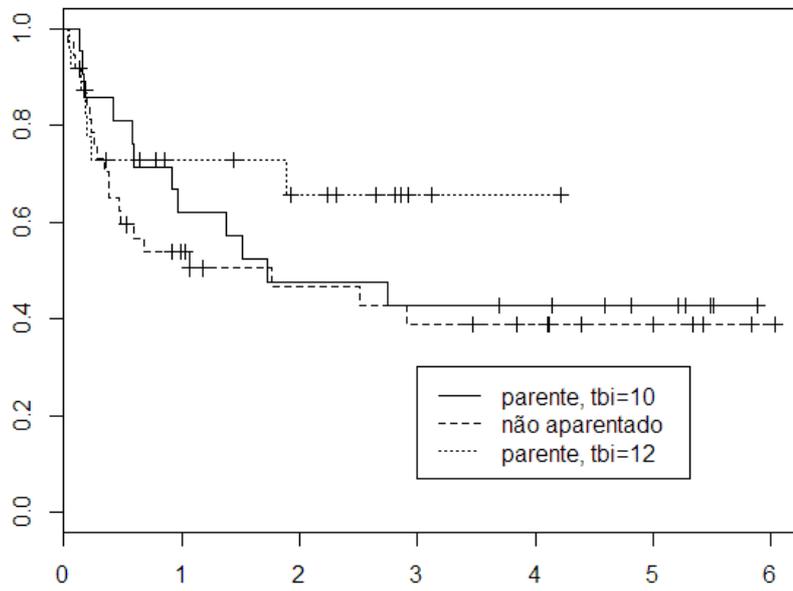
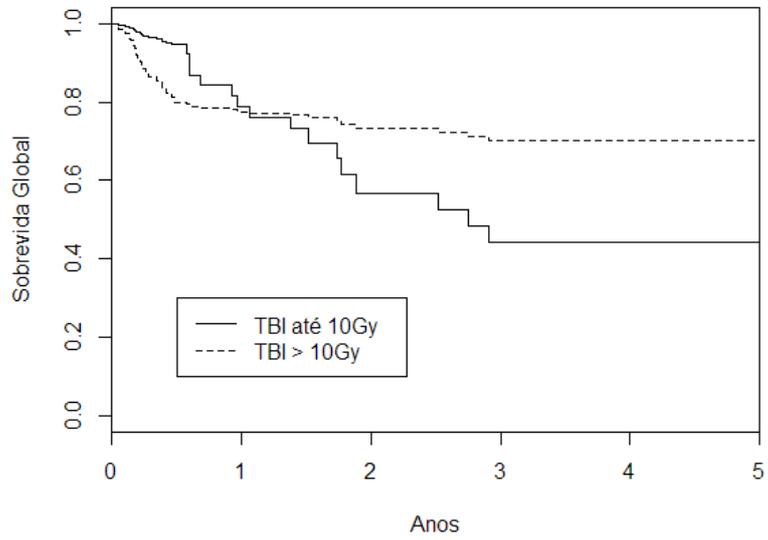
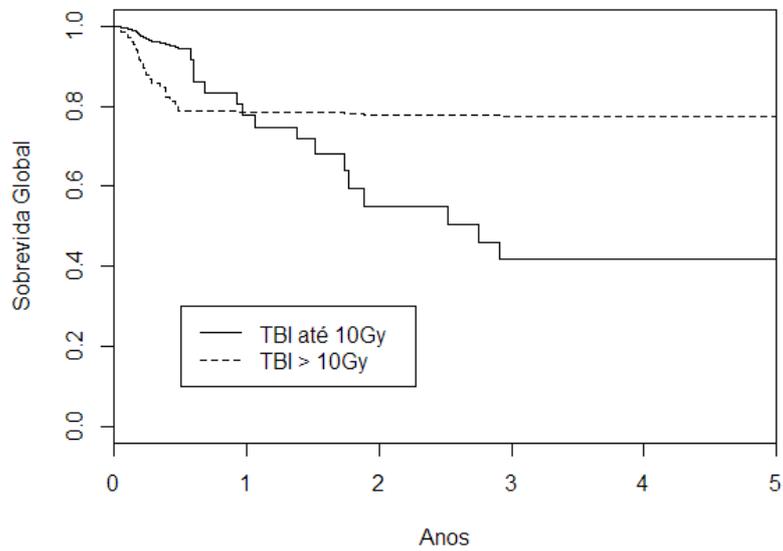


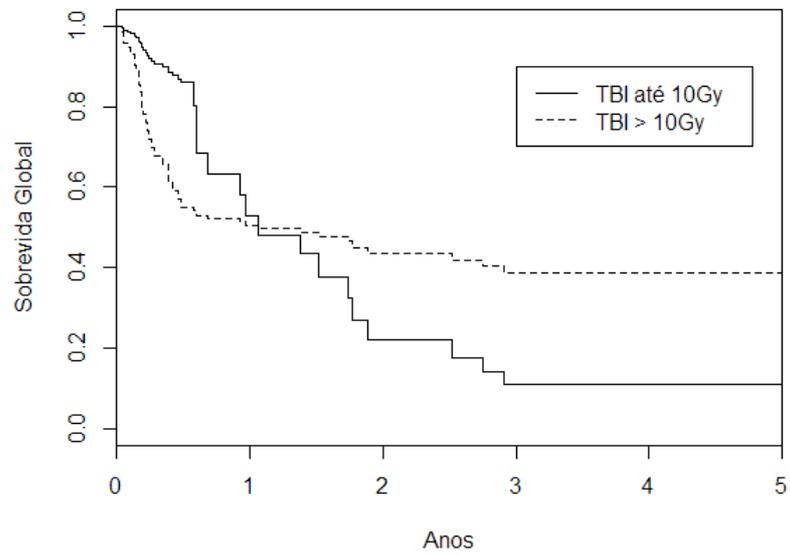
Figura S4. Curvas de sobrevida global previstas para transplante aparentado para diferentes situações  
A. Fonte=MO, Idade=17, Sexo=M, Status=Intermediario, Cor=Branco



B. Fonte=MO, Idade=37, Sexo=M, Status=Precoce, Cor=Não-branco



C. Fonte=MO, Idade=19, Sexo=M, Status=Avançado, Cor=Branco



D. Fonte=MO, Idade=5, Sexo=F, Status=Precoce, Cor=Não-branco

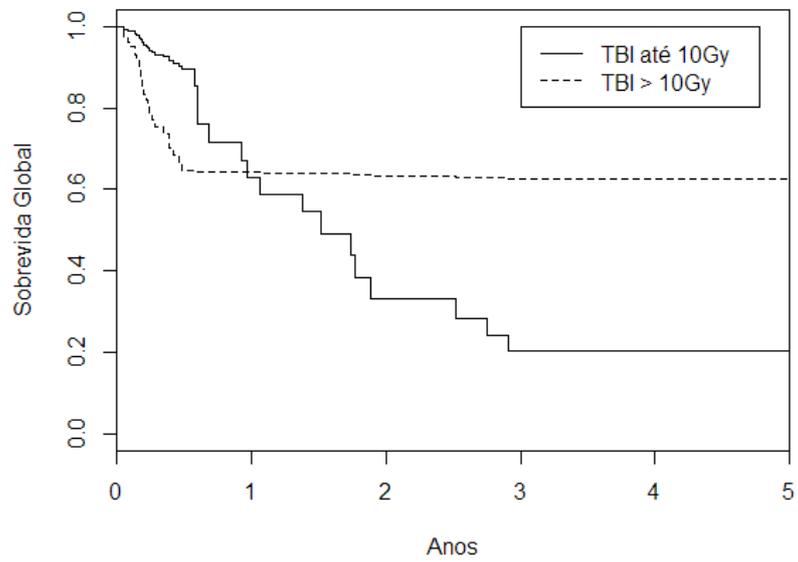


Figura S5. Risco acumulado basal  $\Lambda_0(t)$  para transplante aparentado

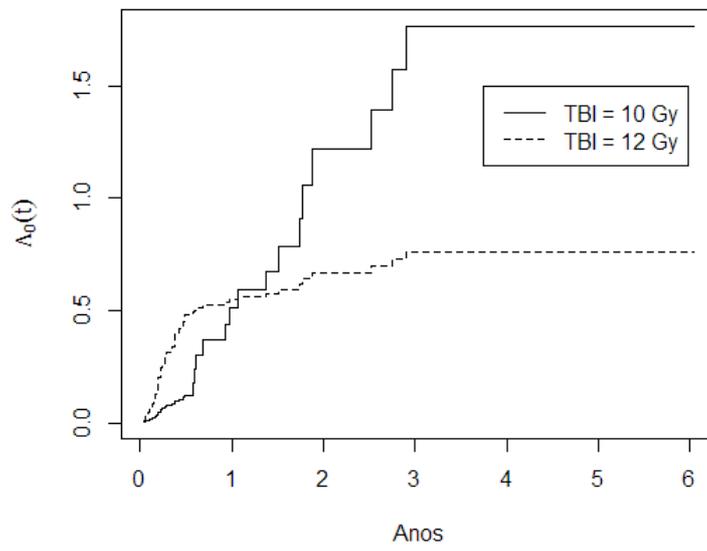


Figura S6. Incidência cumulativa de mortalidade relacionada ao procedimento (óbito em remissão), de acordo com cor.

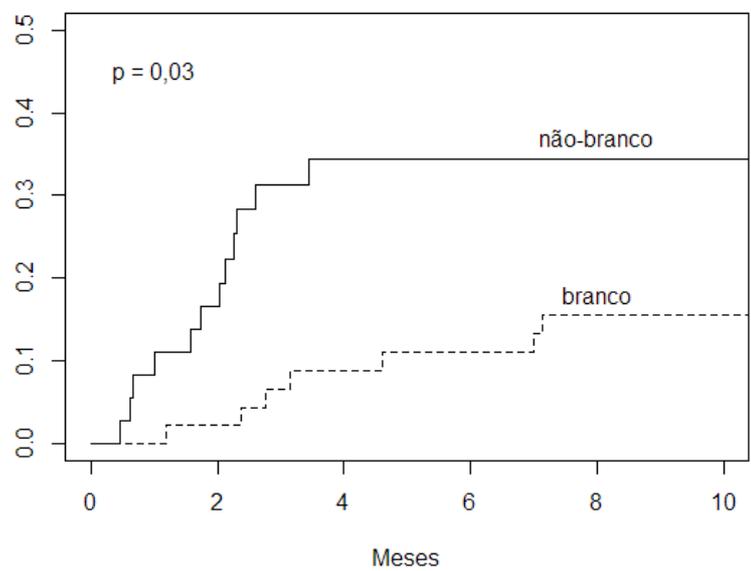
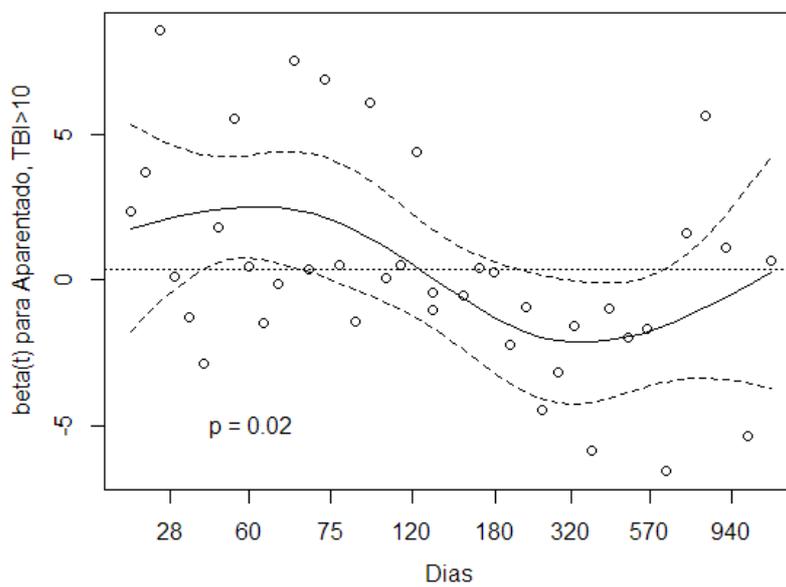
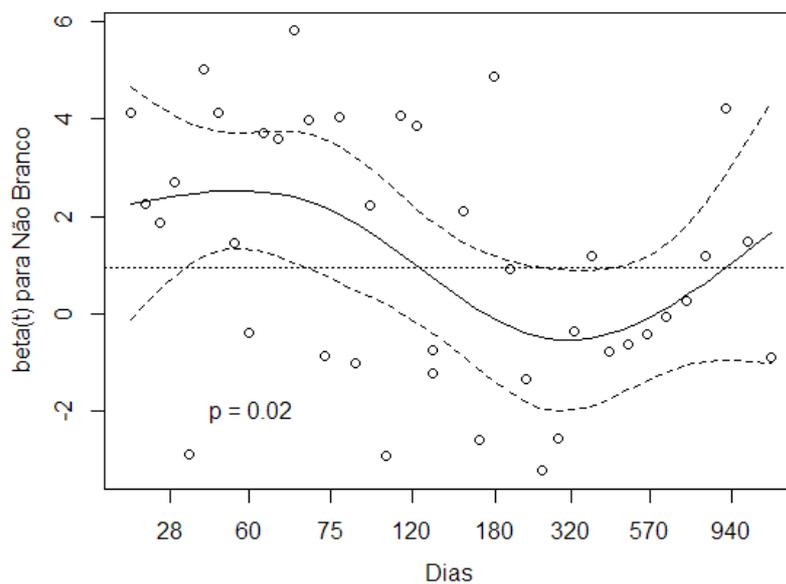
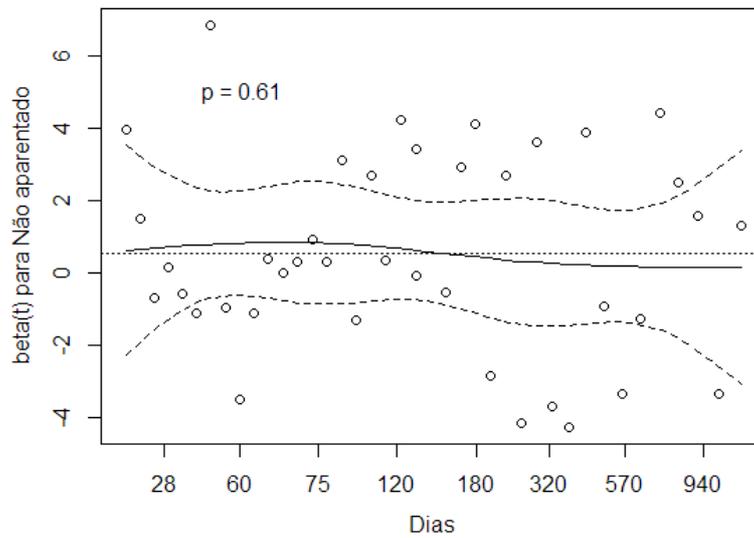


Figura S7. Resíduos de Schoenfeld das variáveis tempo-dependentes, sem a inclusão de termo de interação com o tempo.





Transplantes não aparentado ou com dose de TBI=10Gy tiveram risco maior nos primeiros 6 meses (HR=3,43; IC<sub>95</sub> 0,97 – 16,56, p=0,06 e HR=4,06; IC<sub>95</sub> 0,97 – 12,08, p=0,06, respectivamente) e com queda significativa após (HR=0,59; IC<sub>95</sub> 0,12 – 2,94, interação positiva, p=0,03, e HR=0,17; IC<sub>95</sub> 0,01 – 2,09, interação positiva, p=0,01). A superioridade a médio/longo prazo das curvas de sobrevida para transplante aparentado com TBI=12Gy preditas pelo modelo para diferentes situações pode ser vista graficamente pelas curvas preditas (figura 2). O teste da verossimilhança dos modelos sem e com ambos termos de interação foi significativo (p=0,002). Os gráficos dos resíduos de Schoenfeld das variáveis tempo-dependente, sem a inclusão do termo de interação, estão no material suplementar. O modelo final teve concordância de 0,77, R<sup>2</sup> = 0,20 (máximo, 0,80), e teste Score com p<0,0001.

## 6. Artigo II

### **Análise de fatores preditivos para reativação de citomegalovírus em pacientes com leucemia linfoblástica aguda tratados com transplante de medula óssea no Rio de Janeiro entre 2008 e 2014**

#### **Resumo**

**INTRODUÇÃO:** Apesar dos avanços no manejo da reativação de CMV, a infecção por este vírus continua sendo uma das principais complicações pós-transplante de medula óssea. Múltiplas reativações levam a maior morbidade e a resistência ao antiviral, podendo levar a óbito. **OBJETIVO:** Identificar fatores de risco para reativação de CMV em pacientes submetidos a transplante alogênico de medula óssea para LLA .

**MATERIAL E MÉTODO:** Foram incluídos pacientes com LLA submetidos a transplante de medula óssea alogênico em um único centro (Instituto Nacional de Câncer) entre 2008 e 2014. A análise de fatores de risco para reativação de CMV foi feita por modelo de Cox considerando riscos competitivos e dados correlacionados (eventos múltiplos). **RESULTADOS:** Foram analisados 82 pacientes. No período, houve 77 reativações em 42 (51%) pacientes. Não houve aumento de risco para nova reativação após a primeira. Os seguintes fatores de risco se associaram a qualquer episódio de reativação de CMV: uso de sangue de cordão umbilical e placentário (HR=2,47, IC<sub>95</sub> 1,10 – 5,56, p=0,03), Doença do enxerto contra hospedeiro graus II-IV (HR=1,76, IC<sub>95</sub> 1,02 – 3,04, p=0,04), transplante não aparentado (HR=2,86, IC<sub>95</sub> 1,33 – 6,15, p=0,007) e idade > 35 anos (HR=2,61, IC<sub>95</sub> 1,08 – 6,28, p=0,03). O modelo até o primeiro evento não identificou os seguintes fatores de risco: fonte sangue de cordão (HR=1,42; IC<sub>95</sub> 0,57 – 3,53, p=0,45) e DECHa (HR=1,89; IC<sub>95</sub> 0,95 – 3,75, p=0,07). **CONCLUSÃO:** A reativação de CMV se correlacionou com variáveis que, na literatura, estão associadas a maior imunossupressão ou a recuperação imunológica deficiente. O modelo de Cox considerando riscos competitivos e eventos múltiplos se ajustou bem aos dados e se mostrou adequado para este tipo de análise.

#### **Introdução**

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é, hoje, uma das principais indicações de transplante alogênico de medula óssea (TMO) <sup>16</sup>. A mortalidade relacionada ao transplante, no entanto, ainda é alta <sup>7,12</sup>, e a doença por citomegalovirus (CMV) é uma das principais complicações pós-transplante <sup>50</sup>.

O CMV é um vírus da família dos herpes vírus e, portanto, tem a capacidade de se manter em estado latente após a primoinfecção. Pode se reativar no receptor que já teve infecção prévia ou ser transmitido pelas células do doador. Pode, ainda, ocorrer primoinfecção por transmissão por pessoa a pessoa ou por transfusão sanguínea<sup>50</sup>. Nestes últimos casos, apesar de semanticamente incorreto, o termo “reativação” também é utilizado.

A doença por CMV é uma das complicações mais importantes do transplante de medula óssea alogênico. Pode acometer múltiplos órgãos: pulmão (causando pneumonite), fígado (hepatite aguda), trato gastrointestinal (levando a diarreia e/ou náuseas e vômitos), medula óssea (disfunção do enxerto) e sistema nervoso central (encefalite)<sup>50</sup>.

Apesar de ser um marcador de imunossupressão, o CMV tem uma interação complexa com o sistema imune. O vírus altera a expressão de moléculas de HLA, a produção de citocinas e a expressão de moléculas de adesão. Isso pode explicar o fato de os pacientes que reativam CMV estarem sob maior risco de infecções bacterianas e fúngicas<sup>50</sup> e sob menor risco de recaída de leucemia mieloide aguda<sup>134</sup>.

Os principais fatores de risco para doença por CMV são: receptor com sorologia positiva para CMV cujo doador tenha sorologia negativa, uso de sangue de cordão como fonte de células-tronco, depleção de células T e doença do enxerto contra o hospedeiro aguda<sup>50,79,80</sup>.

Grandes avanços foram feitos no manejo desta complicação. A estratégia preemptiva consiste em monitoração da reativação do CMV por PCR ou por antigenemia sérica para pp65 e tratamento precoce com ganciclovir antes que ocorra doença pelo vírus. Isso levou a uma queda da incidência de doença por CMV de 24-30%<sup>80,81</sup> para 5-6% em receptores ou doadores com sorologia positiva pré-transplante, reduzindo a mortalidade por CMV para 0-2%<sup>79,81</sup>.

O objetivo deste estudo foi identificar fatores de risco para reativação de CMV em pacientes com LLA tratados com transplante de medula óssea.

## **Material e Método**

É um estudo de coorte retrospectivo unicêntrico e foi aprovado pelo comitê de ética local. Foram incluídos todos os pacientes com LLA que receberam transplante alogênico de medula óssea no Instituto Nacional de Câncer no período de 2008 até 2014. Excluiu-se pacientes cujo diagnóstico não estava de acordo com a classificação da OMS de 2008 de Leucemia Linfoblástica Aguda e indivíduos com disfunção orgânica

grave pré-transplante. Todos os pacientes receberam profilaxia com dose alta de aciclovir (500mg/m<sup>2</sup> 3x/dia).

Definiu-se reativação de CMV como antigenemia para CMV positiva no sangue que levou a tratamento preemptivo com ganciclovir ou identificação do vírus em outros materiais biológicos. O exame de antigenemia no sangue era feito semanalmente para todos os pacientes pelo menos até o D+100 pós-transplante. As variáveis independentes utilizadas foram: sexo, idade, status pré-transplante, presença de cromossomo Ph, fonte de células-tronco, tipo de doador, sexo do doador e status da doença pré-transplante, sorologia pré-transplante do doador e do receptor para CMV, e ocorrência e graduação de doença do enxerto contra o hospedeiro agudo (DECHag). A coleta de dados foi feita por revisão dos prontuários dos pacientes. Todos os componentes sanguíneos eram irradiados e filtrados. Pacientes com DECHa graus II-IV eram tratados com metilprednisolona 1-2mg/kg por pelo menos 14 dias.

Inicialmente foi feita uma análise descritiva do perfil dos pacientes com LLA que fazem transplante de medula óssea. Subgrupos, divididos por grau de parentesco e fonte de células-tronco, foram comparados pelo teste de Mann-Whitney-Wilcoxon (para variáveis contínuas, com dois grupos de comparação), e pelo teste de Kruskal-Wallis (para variáveis contínuas, com mais de dois grupos de comparação), e teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher (para variáveis categóricas).

O tempo até reativação de CMV foi analisada por modelo para risco competitivo e dados correlacionados (Zhou 2012). O método propõe que se utilize a metodologia de Fine e Gray para estimar o efeito de covariáveis, e leva em conta a correlação intraindivíduo através de variância robusta. Como pode haver múltiplas reativações de CMV e como há eventos competitivos que impedem a observação do desfecho de interesse, o modelo descrito por Zhou <sup>113</sup> adequa-se ao objetivo deste trabalho. A DECH aguda foi tratada como uma variável mudando no tempo. As variáveis foram sendo adicionadas sequencialmente no modelo e testadas pelo teste da razão de verossimilhança até que a adição de novas variáveis não alterassem significativamente o modelo. Posteriormente, foram acrescentados potenciais confundidores, e o modelo foi reavaliado. Foram considerados estatisticamente significativos p-valores menores que 5%.

Uma vez diagnosticada reativação pelo CMV, era iniciado tratamento com Ganciclovir 10mg/kg.dia por pelo menos 14 dias e até negatização da antigenemia. Durante o tratamento e até a negatização da antigenemia, o paciente era considerado fora de risco para reativação. Os eventos considerados competitivos foram óbito e recaída de LLA.

Todas as análises foram feitas com o programa R ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)), versão 3.1.2, com os pacotes “survival”, “epicalc” e “mstate”.

## Resultados

Durante o período do estudo foram identificados 85 pacientes que realizaram transplante para LLA, tendo tempo mediano de acompanhamento de 3 anos. Três pacientes foram excluídos: um por ter doador irmão gêmeo idêntico (transplante singênico), e outros dois por disfunção orgânica grave pré-transplante (uma síndrome de Down com insuficiência cardíaca congestiva, e uma seqüela de tuberculose prévia com disfunção pulmonar e caverna maior que 5 cm). Esses dois pacientes morreram de causas diretamente relacionadas às comorbidades. As características desses pacientes estão resumidas na tabela 1. Não conseguimos os dados de sorologia para CMV de 6 doadores.

Não encontramos diferença de perfil de sorologia para CMV entre doadores aparentados e não-aparentados. Receptores menores de 12 anos tiveram uma proporção menor de sorologia positiva para CMV pré-transplante (77% contra 90%,  $p=0,15$ , tabela 2). Quarenta e um pacientes (50%) tiveram DECH aguda graus II-IV, com mediana de diagnóstico de 30 dias (IQR: 19 – 47 dias).

Houve 42 (51%) pacientes que reativaram CMV, totalizando 77 reativações. O histograma do número de reativações está na figura 1, e o risco acumulado de cada reativação está na figura 2. Não houve diferença no perfil de risco acumulado de cada reativação. O perfil temporal das reativações está na tabela 3.

No modelo para risco competitivo e dados correlacionados (tabela 4), identificamos os seguintes fatores de risco para reativação de CMV: uso de sangue de cordão umbilical e placentário (HR=2,47, IC<sub>95</sub> 1,10 – 5,56,  $p=0,03$ ), DECHa graus II-IV (HR=1,76, IC<sub>95</sub> 1,02 – 3,04,  $p=0,04$ ), transplante não aparentado (HR=2,86, IC<sub>95</sub> 1,33 – 6,15,  $p=0,007$ ) e idade > 35 anos (HR=2,61, IC<sub>95</sub> 1,08 – 6,28,  $p=0,03$ ). Para comparação, na mesma tabela encontra-se o modelo de risco competitivo para a primeira reativação de CMV. Neste modelo, nem DECHag (HR=1,89; IC<sub>95</sub> 0,95 – 3,75,  $p=0,07$ ) nem fonte cordão (HR=1,42; IC<sub>95</sub> 0,57 – 3,53,  $p=0,45$ ) foram significativos.

## Discussão

Apesar de unicêntrico, este é um estudo com um número de pacientes relativamente grande, homogêneo e com dados atuais, que reflete a incorporação de avanços recentes no transplante de medula óssea no Brasil.

Os resultados mostram que, na nossa população, a proporção de indivíduos CMV+ é mais alta do que a relatada em outros estudos internacionais. Dos nossos doadores, 82% (IC<sub>95</sub> 77 – 87%) eram CMV+, contra 66% reportado em estudo randomizado multicêntrico norteamericano e europeu<sup>135</sup> e 41% reportado na maior série já publicada em CMV pós-transplante alogênico<sup>136</sup>. No Brasil, já foi relatado 92% de doadores CMV+<sup>137</sup>. Da mesma forma, 51% (IC<sub>95</sub> 40 – 62%) dos nossos pacientes reativaram CMV, contra 30% e 38% do que foi estimado e encontrado, respectivamente, em estudo randomizado que utilizou profilaxia com aciclovir em dose alta<sup>135</sup>, e contra 30% que foi encontrado na maior série publicada<sup>136</sup>. Como nosso serviço filtra e irradia todos os componentes sanguíneos e raramente faz transfusão de granulócitos, esperaríamos uma proporção de reativação menor.

Na nossa população, a fonte de células-tronco hematopoiéticas utilizada impactou no risco de reativação de CMV. Transplante com sangue de cordão umbilical leva a linfopenia T prolongada<sup>138</sup>. Apesar de ser classicamente um dos maiores fatores de risco para reativação de CMV<sup>50</sup>, um estudo retrospectivo com mais de 700 pacientes<sup>139</sup> não demonstrou aumento de reativação (HR=0,8; IC<sub>95</sub> 0,5 – 1,3, p=0,44). No nosso estudo, esta fonte foi um fator de risco (HR=2,47; IC<sub>95</sub> 1,10 – 5,56, p=0,03). Considerando que quase todos os transplantes de cordão foram não aparentados (94%), esse risco é maior ainda (HR=7,07; IC<sub>95</sub> 3,06 – 16,3, p<0,001). Foi demonstrado que profilaxia pré-transplante com ganciclovir é uma medida eficaz, com relato<sup>140</sup> de redução de risco de reativação (HR=0,27; IC<sub>95</sub> 0,15 – 0,48, p<0,001), e esta pode ser uma medida simples e pouco tóxica para esses pacientes sob maior risco. Nossos resultados podem, no entanto, estar confundidos pelo grau de incompatibilidade HLA dos cordões. No transplante com cordão, aceita-se até duas incompatibilidades HLA, e uma (HR=3,0; IC<sub>95</sub> 1,3 – 6,9, p=0,01) ou duas (HR=2,8; IC<sub>95</sub> 1,2 – 6,3, p=0,02) incompatibilidades estão associadas a maior risco de reativação de CMV<sup>141</sup>. No nosso estudo, 9 cordões (56%) tinham duas incompatibilidades e 6 (38%), uma.

Encontramos, ainda, uma tendência a maior risco quando a fonte é sangue periférico mobilizado (HR=1,72; IC<sub>95</sub> 0,86 – 3,42, p=0,12). Apesar de não ser estatisticamente significativo, apenas 14 pacientes utilizaram esta fonte, comprometendo o poder para detectar diferenças. Esta associação não é universal na literatura. Guerrero et al<sup>142</sup> demonstraram, em estudo randomizado e utilizando técnica mais sensível (PCR) para identificar reativação de CMV, maior incidência com sangue periférico (63% contra 42%, p=0,04) e atraso na reconstituição imune contra CMV com esta fonte. No entanto, George et al<sup>143</sup>, em pacientes de alto risco e também utilizando técnica muito sensível (PCR), tiveram 71% de reativação com medula óssea contra

41% com sangue periférico ( $p=0,01$ ), e Hakki et al <sup>144</sup> mostrou que sangue periférico se correlaciona melhor com a recuperação imune contra CMV.

Indivíduos com mais de 35 anos tiveram risco maior de reativação. A recuperação imune deriva da expansão de linfócitos T maduros e da produção *de novo* de linfócitos T imaturos no timo. Esta última é necessária para controle adequado de patógenos. Com a idade, o timo se atrofia e torna a recuperação imune mais lenta e menos eficaz <sup>145</sup>. Walker et al <sup>139</sup> também mostraram aumento do risco de reativação de CMV com aumento da idade (HR=1,4; IC<sub>95</sub> 1,0 – 2,0,  $p=0,05$  para indivíduos maiores de 18 anos). A recuperação imune também é influenciada pela ocorrência de DECH, e a forma aguda graus II-IV (i.e., com indicação de corticoterapia) foi um dos principais fatores de risco neste trabalho (HR=1,76; IC<sub>95</sub> 1,02 – 3,04,  $p=0,04$ ).

Tem-se demonstrado, de forma consistente, que quanto mais imunossupressor é o condicionamento, maior é o risco de reativação de CMV. Atta et al <sup>146</sup> demonstrou que a preparação de coelho do ATG, que é mais imunossupressora, leva a redução do tempo para reativação de CMV (40 dias, contra 50 dias com ATG de cavalo,  $p=0,02$ ). Uma comparação <sup>147</sup> de Flu+TBI com ATG+TLI mostrou cerca de 90% de incidência de reativação de CMV no grupo que utilizou ATG, contra cerca de 50% no outro grupo, com  $p<0,001$  (Hannon 2015) e George et al <sup>143</sup> demonstraram que condicionamento a base de fludarabina aumenta o risco de reativação (HR=2,39; IC<sub>95</sub> 1,21 – 4,73,  $p=0,008$ ). Na nossa população, todos os pacientes que realizaram transplante não aparentado utilizaram imunoglobulina antitimócito (ATG) no condicionamento, com maior risco para reativação de CMV (HR=2,86; IC<sub>95</sub> 1,33 – 6,15,  $p=0,007$ ). Esta medicação, que causa depleção de células T, não foi utilizada em nenhum transplante aparentado. Jaskula et al <sup>148</sup> também utilizaram ATG para todos os transplantes não aparentados, com maior chance de reativação nesse grupo (OR=2,59; IC<sub>95</sub> 1,07 – 6,29,  $p=0,04$ ). Não temos, portanto, como separar o efeito isolado do parentesco do efeito do uso de ATG no condicionamento. Essa informação seria de extrema relevância. Há 3 estudos randomizados de ATG em transplante não aparentado. No estudo mais recente, Finke et al <sup>149</sup> mostrou redução da incidência de DECH aguda graus III-IV em transplante não aparentado com o uso do ATG (HR=0,56; IC<sub>95</sub> 0,36=0,87,  $p=0,01$ ) e da DECH crônica extensa (HR=0,22; IC<sub>95</sub> 0,11-0,43,  $p<0,0001$ ), porém sem ganho de sobrevida e com aumento não significativo do risco de reativação de CMV (HR=1,53; IC<sub>95</sub> 0,96 – 2,44,  $p=0,08$ ). Bacigalupo et al <sup>150</sup> mostrou aumento da incidência de reativação de CMV com dose mais alta de ATG (78% contra 67%,  $p$  não informado) associado a risco maior de infecção fatal (30% contra 7%,  $p=0,02$ ), e Wagner et al <sup>151</sup> mostrou aumento da incidência de reativação de CMV (28% contra

17%, p=0,02) em estudo que incluiu, além de ATG, depleção in vitro de células T. Infelizmente, a maneira como a compatibilidade HLA foi avaliada nesse estudo (HLA A e B em baixa resolução) não representa a prática atual. Uma metanálise <sup>152</sup> mostrou redução de risco de GVHDa graus III-IV com ATG (RR=0,53; IC<sub>95</sub> 0,33-0,85, p=0,0005). No entanto, um estudo de registro do CIBMTR <sup>153</sup> mostrou redução na sobrevida livre de recaída em transplante com intensidade reduzida e uso de ATG (25% contra 39%, p<0,001).

Aparentemente, o maior benefício desta medicação se dá em transplante não aparentado incompatível <sup>154-156</sup>, porém esse achado não é universal <sup>68</sup>. Isso mostra que, apesar de reduzir consistentemente o risco de DECH, o uso de ATG deve ser criterioso. Conhecer os efeitos isolados do transplante não aparentado e do uso de ATG poderia permitir reduzir a dose desta medicação em pacientes de alto risco para reativação de CMV ou de alto risco para outras infecções e de baixo risco para DECH. A redução da dose de rATG de 7,5mg/kg para 6,0mg/kg reduziu a incidência cumulativa de reativação de CMV de 64% para 30%, p=0,005 <sup>157</sup>.

Em relação à metodologia utilizada, intuitivamente a informação obtida a partir de 77 reativações é maior que a obtida a partir de 42 primeiras reativações. A estatística do teste de Wald do modelo de risco competitivo para dados correlacionados foi 35,4, com 8 graus de liberdade (p<0,001). A título de comparação, para o modelo de risco competitivo para a primeira reativação foi 21,9, com 8 graus de liberdade, mostrando que o modelo proposto por Zhou <sup>113</sup> se ajusta melhor aos dados de reativação de CMV. Chama a atenção, portanto, que nenhum dos principais estudos randomizados tenha utilizado, para análise, um modelo de evento múltiplo <sup>135,158-161</sup>, principalmente quando se sabe que múltiplos tratamentos para reativação de CMV levam à resistência ao antibiótico/antiviral <sup>50</sup>. No Brasil essa questão é ainda mais importante porque há apenas uma droga disponível para tratamento de reativação de CMV.

Considerando que múltiplas reativações levam a resistência ao ganciclovir e a morbidade, sugerimos que a metodologia utilizada para análise desta complicação seja por modelo de evento múltiplo, que se mostrou adequado neste estudo e aparentemente superior à análise até a primeira reativação. Este trabalho mostra que, apesar de a reativação de CMV ser uma complicação frequente e bem estudada no contexto do transplante de medula óssea, este é um tema que deve ser reestudado a cada avanço que ocorre no transplante. Mudanças na prática do transplante de medula óssea influenciam diretamente no risco e na análise de reativação de CMV.

## Tabelas

Tabela 1. Características dos Pacientes

	Reativação de CMV		P-valor	Total
	Não	Sim		
	40	42		82
<b>Idade</b>				
Mediana (IQR)	12.2 (7.0,18.2)	14.0 (7.3,31.4)	0.23	12.9 (7.0,20.6)
<b>Sexo do paciente</b>				
Masculino	29 (72%)	33 (79%)	0.70	62 (76%)
Feminino	11 (28%)	9 (21%)		20 (24%)
<b>Sexo do doador</b>				
Masculino	19 (48%)	25 (61%)	0.32	44 (54%)
Feminino	21 (52%)	16 (39%)		37 (46%)
<b>Parentesco</b>				
Aparentado	29 (72%)	16 (38%)	0.004	45 (55%)
Não aparentado	11 (28%)	26 (62%)		37 (45%)
<b>Fonte</b>				
Medula óssea	30 (75%)	22 (52%)	0.09	52 (63%)
Sangue periférico	4 (10%)	10 (25%)		14 (17%)
Sangue de cordão	6 (15%)	10 (24%)		16 (20%)
<b>Status de doença, pelo cibmtr</b>				
Precoce	16 (40%)	16 (38%)	0.97	32 (39%)
Intermediário	19 (48%)	20 (48%)		39 (48%)
Avançado	5 (12%)	6 (14%)		11 (13%)
<b>CMV do paciente</b>				
Negativo	8 (20%)	5 (12%)	0.48	11 (14%)
Positivo	32 (80%)	37 (88%)		67 (86%)
<b>CMV do doador*</b>				
Negativo	13 (33%)	14 (38%)	0.86	11 (18%)
Positivo	26 (67%)	23 (62%)		49 (82%)

IQR, intervalo interquartil; m, masculino; f, feminino; mo, medula óssea; sp, sangue periférico mobilizado; scup, sangue de cordão umbilical e placentário; precoce, primeira remissão; intermediário, remissão subsequente; avançado, doença ativa. \*Excluído cordão

Tabela 2. Status CMV do doador

---

Idade		
0 -12 anos	CMV+	17 (77%)
	CMV-	5 (23%)
12 - 18 anos	CMV+	19 (90%)
	CMV-	2 (10%)
> 18 anos	CMV+	21 (91%)
	CMV-	2 (9%)

---

Tabela 3. Tempo para reativação de CMV

	Tempo* (IQR)
1a. reativação	50 (32 - 294)
2a. reativação	29 (17 - 198)
3a. reativação	35 (10 - 478)
4a. ou mais reativações	46 (19 - 135)

\* mediana, em dias; IQR, intervalo interquartil

Tabela 4. Fatores de risco para reativação de CMV

Fonte	Não Ajustada			Ajustada			Ajustada		
	HR	IC 95%	p-valor	HR	IC 95%	p-valor	HR	IC95%	p-valor
Medula óssea	Ref		0,01*	Ref		0,007*			0,21*
Sangue periférico	1,78	0,83 - 3,80	0,14	1,72	0,86 - 3,42	0,12	1,43	0,63 - 3,29	0,39
Sangue de cordão	2,96	1,39 - 6,28	0,005	2,47	1,10 - 5,56	0,03	1,42	0,57 - 3,53	0,45
DECH aguda									
até grau I	Ref			Ref					
graus II-IV	1,88	1,04 - 3,39	0,04	1,76	1,02 - 3,04	0,04	1,89	0,95 - 3,75	0,07
Parentesco									
Aparentado	Ref			Ref					
Não Aparentado	3,14	1,67 - 5,91	<0,001*	2,86	1,33 - 6,15	0,007	3,42	1,60 - 7,32	0,002
CMV									
Doador e Receptor Negativo	Ref			Ref					
Doador ou Receptor Positivo	3,63	0,52 - 25,1	0,19	5,59	0,67 - 46,8	0,11	6,11	0,76 - 48,9	0,09
Idade									
até 18 anos	Ref		0,03*	Ref		0,01*			0,02*
18 - 35 anos	0,19	0,18 - 1,33	0,16	0,99	0,36 - 2,70	0,99	1,21	0,43 - 3,44	0,72

> 35 anos	1,93	0,96 - 3,88	0,07	2,61	1,08 - 6,28	0,03	2,72	1,18 - 6,24	0,02
Sexo									
Masculino	Ref			Ref					
Feminino	0,7	0,33 - 1,47	0,35	0,85	0,38 - 1,92	0,69	0,81	0,36 - 1,83	0,61

\* teste global (verossimilhança para multivariada, Wald para não ajustada); \*\* modelo até a primeira reativação, para comparação

## Figuras

Figura 1. Histograma do número de reativações de CMV

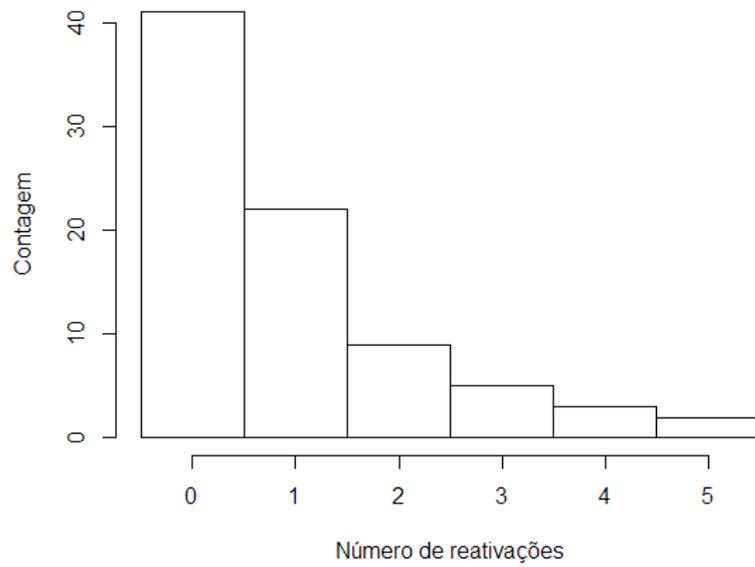
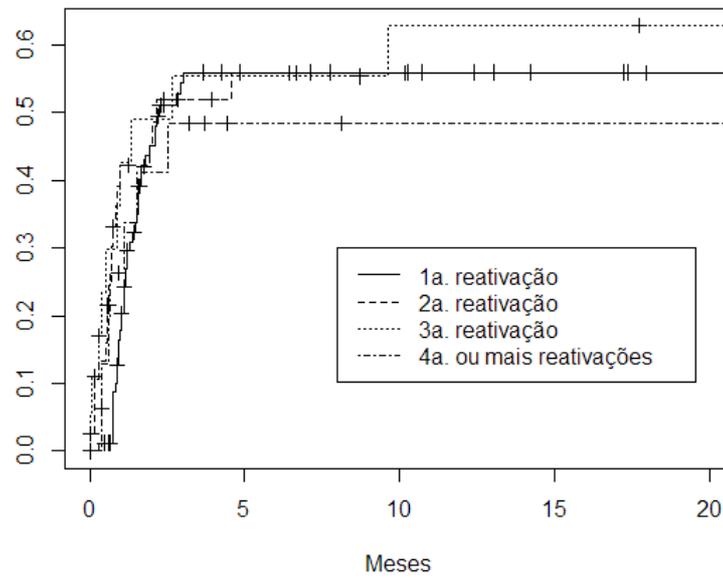


Figura 2. Risco acumulado de reativação de CMV



## 7. Conclusão

Este é um estudo unicêntrico que analisou a sobrevida e complicações pós-transplante de medula óssea de pacientes com LLA utilizando dados recentes, com número de pacientes relativamente grande, que refletem a prática atual. Tudo isso, associado ao fato de que o Instituto Nacional de Câncer absorveu quase todos os pacientes do Rio de Janeiro no período estudado, mostra a relevância deste estudo.

Este trabalho mostra que mudanças nos protocolos e procedimentos do transplante podem melhorar os resultados. Sangue periférico como fonte de células-tronco aumentou quase três vezes o risco de óbito. O uso de dose maior de TBI para transplante aparentado levou a um aumento de sobrevida global em 3 anos de 45% para 70% na curva de Kaplan-Meier ajustada.

Mostramos também que pacientes não-brancos tiveram resultados piores, principalmente em relação a mortalidade relacionada ao tratamento (34% contra 16%). Provavelmente isso está relacionado a características socioeconômicas que não foram identificadas neste estudo, e reforça que indivíduos potencialmente vulneráveis necessitam de maior apoio institucional para este tratamento.

O fato de que o status pré-transplante se correlacionou com a sobrevida global e livre de eventos não foi surpreendente. Na fase precoce, foi cerca de 70% em 5 anos, contra 20% em fase avançada. Há, portanto, um subgrupo significativo dos pacientes em fase avançada que se beneficia do procedimento, mas a recomendação do Consenso da Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea é não oferecer transplante para esses pacientes. Essa recomendação deveria ser revista com base nesses resultados.

Na análise de DECH aguda, nossos dados sugerem que pode haver um efeito iatrogênico, provavelmente ligado ao manejo da imunossupressão no pós-transplante. Por outro lado, não encontramos evidência de que, em LLA, doença do enxerto contra o hospedeiro resulte em redução de recaídas. Esses dados são extremamente importantes para quem lida diretamente com o paciente. Ao manejar a imunossupressão desses pacientes de forma diferente, o médico que assiste ao paciente deve se perguntar se realmente há um benefício ou se, na verdade, se está apenas acrescentando morbidade. Seria interessante, no futuro, verificar se esses resultados também se aplicam a leucemia mieloide aguda, outra importante indicação de transplante alogênico.

Qualquer grau de DECH aguda aumentou em 9 vezes o risco de DECH crônica. Esse é um dado importante. A DECH aguda grau I costuma ser autolimitada e não necessita tratamento. É frequente, na

prática clínica, que a DECH aguda grau I seja subvalorizada. No entanto, deve-se estar atento ao maior risco de desenvolvimento de DECH crônica, que é a complicação pós-transplante mais importante em sobreviventes de longo prazo.

Doadora do sexo feminino também aumentou, em quase 3 vezes, o risco de DECHc. No nosso Serviço, já se dá preferência a doadores masculinos, portanto constatou-se que essa conduta é correta.

Reativação de CMV é outra complicação importante no pós-transplante. Para analisar os fatores de risco de reativação, utilizamos um modelo para risco competitivo e dados correlacionados por eventos múltiplos. A coleta dos dados para esta análise é mais complexa, e envolve as datas de todos os diagnósticos de reativação de CMV do paciente e de término de tratamento preemptivo. No entanto, foi possível detectar fatores de risco que não teriam sido detectados no presente estudo se as informações sobre reativações subsequentes não tivessem sido consideradas, fornecendo subsídio para que estudos específicos de reativação de CMV também utilizem esta metodologia.

Os resultados deste trabalho podem, portanto, auxiliar no manejo do paciente peri e pós-transplante, potencialmente aumentando a sobrevida e reduzindo a morbidade desses pacientes. A importância para saúde pública deriva de esta doença ser o câncer mais comum da infância (sem esquecer que 40% dos diagnósticos de LLA são em adultos), de que LLA é uma das principais indicações de transplante alogênico, e de que o transplante de medula é um tratamento caro em que pequenas mudanças podem trazer grandes impactos nos resultados deste procedimento.

## 8. Bibliografia

1. Ferlay J, Soerjomataram I. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available: <http://globocan.iarc.fr> [accessed 15 Apr 2014].
2. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva / Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014.
3. Instituto Nacional de Câncer / Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Câncer da criança e do adolescente no Brasil: dados dos registros de base populacional e de mortalidade. Rio de Janeiro: INCA, 2008.
4. American Cancer Society. Leukemia – acute lymphocytic (adults). Available: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003109-pdf.pdf> and <http://www.cancer.org/cancer/leukemia-acute/lymphocytic/detailedguide/leukemia-acute-lymphocytic-key-statistics>. [Accessed 01 May 2015].
5. Swerdlow SH, Campo E, Harris N, ES Jaffe, Pileri S, Stein H, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4. ed. International Agency for Research on Cancer, editor. Lyon: Internat. Agency for Research on Cancer; 2008.
6. Whitlock J, Gaynon P. Acute lymphoblastic leukemia in children. In: Wintrobe MM, Greer JP, Foerster J, Rodgers G, editors. Wintrobe's clinical hematology. 12th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2009. p. 1918–37.
7. Sary J, Zimmermann M, Campbell M, Castillo L, Dibar E, Donska S, et al. Intensive Chemotherapy for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Results of the Randomized Intercontinental Trial ALL IC-BFM 2002. *Journal of Clinical Oncology*. 2014 Jan 20;32(3):174–184. PMID: 24344215
8. Gökbuget N, Hoelzer D, Arnold R, Böhme A, Bartram CR, Freund M, et al. Treatment of Adult ALL according to protocols of the German Multicenter Study Group for Adult ALL (GMALL). *Hematol Oncol Clin North Am*. 2000 Dec;14(6):1307–1325, ix. PMID: 11147225
9. Möricke A, Reiter A, Zimmermann M, Gadner H, Stanulla M, Dördelmann M, et al. Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95. *Blood*. 2008 May 1;111(9):4477–4489. PMID: 18285545
10. Pui C-H, Campana D, Pei D, Bowman WP, Sandlund JT, Kaste SC, et al. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *N Engl J Med*. 2009 Jun 25;360(26):2730–2741. PMID: PMC2754320
11. Schultz KR, Carroll A, Heerema NA, Bowman WP, Aledo A, Slayton WB, et al. Long-term follow-up of imatinib in pediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Children's Oncology Group study AALL0031. *Leukemia*. 2014 Jul;28(7):1467–1471. PMID: PMC4282929
12. Fielding AK, Rowe JM, Richards SM, Buck G, Moorman AV, Durrant IJ, et al. Prospective outcome data on 267 unselected adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia confirms superiority of allogeneic transplantation over chemotherapy in the pre-imatinib era: results from the International ALL Trial MRC UKALLXII/ECOG2993. *Blood*. 2009 May 7;113(19):4489–4496. PMID: PMC4188540

13. Fielding AK, Rowe JM, Buck G, Foroni L, Gerrard G, Litzow MR, et al. UKALLXII/ECOG2993: addition of imatinib to a standard treatment regimen enhances long-term outcomes in Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014 Feb 6;123(6):843–850. PMID: PMC3916877
14. Moorman AV, Harrison CJ, Buck GAN, Richards SM, Secker-Walker LM, Martineau M, et al. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood*. 2007 Apr 15;109(8):3189–3197. PMID: 17170120
15. Jain P, Kantarjian H, Ravandi F, Thomas D, O'Brien S, Kadia T, et al. The combination of hyper-CVAD plus nelarabine as frontline therapy in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-lymphoblastic lymphoma: MD Anderson Cancer Center experience. *Leukemia*. 2014 Apr;28(4):973–975. PMID: 24157581
16. Passweg JR, Baldomero H, Peters C, Gaspar HB, Cesaro S, Dreger P, et al. Hematopoietic SCT in Europe: data and trends in 2012 with special consideration of pediatric transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. 2014 Jun;49(6):744–750. PMID: PMC4051369
17. Balduzzi A, Valsecchi MG, Uderzo C, De Lorenzo P, Klingebiel T, Peters C, et al. Chemotherapy versus allogeneic transplantation for very-high-risk childhood acute lymphoblastic leukaemia in first complete remission: comparison by genetic randomisation in an international prospective study. *Lancet*. 2005 Aug 20;366(9486):635–642. PMID: 16112299
18. Schrauder A, Reiter A, Gadner H, Niethammer D, Klingebiel T, Kremens B, et al. Superiority of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation compared with chemotherapy alone in high-risk childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: results from ALL-BFM 90 and 95. *J Clin Oncol*. 2006 Dec 20;24(36):5742–5749. PMID: 17179108
19. Conter V, Valsecchi MG, Parasole R, Putti MC, Locatelli F, Barisone E, et al. Childhood high-risk acute lymphoblastic leukemia in first remission: results after chemotherapy or transplant from the AIEOP ALL 2000 study. *Blood*. 2014 Mar 6;123(10):1470–1478. PMID: 24415536
20. Biondi A, Schrappe M, De Lorenzo P, Castor A, Lucchini G, Gandemer V, et al. Imatinib after induction for treatment of children and adolescents with Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia (EsPhALL): a randomised, open-label, intergroup study. *Lancet Oncol*. 2012 Sep;13(9):936–945. PMID: PMC3431502
21. Dunsmore KP, Devidas M, Linda SB, Borowitz MJ, Winick N, Hunger SP, et al. Pilot study of nelarabine in combination with intensive chemotherapy in high-risk T-cell acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2012 Aug 1;30(22):2753–2759. PMID: PMC3402886
22. Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 10;29(5):532–543. PMID: 21220592
23. Cornelissen JJ, van Putten WLJ, Verdonck LF, Theobald M, Jacky E, Daenen SMG, et al. Results of a HOVON/SAKK donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults: benefits for whom? *Blood*. 2007 May 1;109(9):3658–3666. PMID: 17213292
24. Messori A, Fadda V, Maratea D, Trippoli S. Acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: temporal trend of outcomes in studies comparing allogeneic transplant with autologous transplant or chemotherapy. *Annals of Hematology*. 2013 Sep;92(9):1221–1228. PMID: 23677128
25. Gupta V, Richards S, Rowe J, Acute Leukemia Stem Cell Transplantation Trialists' Collaborative

- Group. Allogeneic, but not autologous, hematopoietic cell transplantation improves survival only among younger adults with acute lymphoblastic leukemia in first remission: an individual patient data meta-analysis. *Blood*. 2013 Jan 10;121(2):339–350. PMID: PMC4186648
26. Schrappe M. Minimal residual disease: optimal methods, timing, and clinical relevance for an individual patient. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:137–142. PMID: 23233572
  27. Eckert C, Henze G, Seeger K, Hagedorn N, Mann G, Panzer-Grümayer R, et al. Use of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation based on minimal residual disease response improves outcomes for children with relapsed acute lymphoblastic leukemia in the intermediate-risk group. *J Clin Oncol*. 2013 Jul 20;31(21):2736–2742. PMID: 23775972
  28. Hochberg J, Khaled S, Forman SJ, Cairo MS. Criteria for and outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplant in children, adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukaemia in first complete remission. *Br J Haematol*. 2013 Apr;161(1):27–42. PMID: 23384118
  29. Ribera J-M, Oriol A, Morgades M, Montesinos P, Sarra J, Gonzalez-Campos J, et al. Treatment of High-Risk Philadelphia Chromosome-Negative Acute Lymphoblastic Leukemia in Adolescents and Adults According to Early Cytologic Response and Minimal Residual Disease After Consolidation Assessed by Flow Cytometry: Final Results of the PETHEMA ALL-AR-03 Trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2014 May 20;32(15):1595–1604. PMID: 24752047
  30. Dhédin N, Huynh A, Maury S, Tabrizi R, Beldjord K, Asnafi V, et al. Role of allogeneic stem cell transplantation in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015 Apr 16;125(16):2486–2496. PMID: 25587040
  31. Zanichelli MA, Colturato VR, Sobrinho J. Indicações em transplante de células-tronco hematopoéticas em pacientes adultos com leucemia linfóide aguda. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2010 May;32:54–60.
  32. Fagioli F, Quarello P, Zecca M, Lanino E, Rognoni C, Balduzzi A, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for children with high-risk acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: a report from the AIEOP registry. *Haematologica*. 2013 Aug;98(8):1273–1281. PMID: PMC3729909
  33. Bader P, Kreyenberg H, Henze GHR, Eckert C, Reising M, Willasch A, et al. Prognostic value of minimal residual disease quantification before allogeneic stem-cell transplantation in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia: the ALL-REZ BFM Study Group. *J Clin Oncol*. 2009 Jan 20;27(3):377–384. PMID: 19064980
  34. Conter V, Bartram CR, Valsecchi MG, Schrauder A, Panzer-Grümayer R, Möricke A, et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood*. 2010 Apr 22;115(16):3206–3214. PMID: 20154213
  35. Schrappe M, Valsecchi MG, Bartram CR, Schrauder A, Panzer-Grümayer R, Möricke A, et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study. *Blood*. 2011 Aug 25;118(8):2077–2084. PMID: 21719599
  36. Leung W, Pui C-H, Coustan-Smith E, Yang J, Pei D, Gan K, et al. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia. *Blood*. 2012 Jul 12;120(2):468–472. PMID: PMC3398757
  37. Balduzzi A, De Lorenzo P, Schrauder A, Conter V, Uderzo C, Peters C, et al. Eligibility for allogeneic transplantation in very high risk childhood acute lymphoblastic leukemia: the impact of the waiting

- time. *Haematologica*. 2008 Jun;93(6):925–929. PMID: 18413892
38. Jain N, Gurbuxani S, Rhee C. Acute lymphoblastic leukemia in adults. In: Hoffman R, Benz E, Silberstein L, editors. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 6th ed. Churchill Livingstone; 2012. p. 960–80.
  39. Tallen G, Ratei R, Mann G, Kaspers G, Niggli F, Karachunsky A, et al. Long-Term Outcome in Children With Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia After Time-Point and Site-of-Relapse Stratification and Intensified Short-Course Multidrug Chemotherapy: Results of Trial ALL-REZ BFM 90. *Journal of Clinical Oncology*. 2010 May 10;28(14):2339–2347. PMID: 20385996
  40. Locatelli F, Schrappe M, Bernardo ME, Rutella S. How I treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2012 Oct 4;120(14):2807–2816. PMID: 22896001
  41. Gökbuget N, Stanze D, Beck J, Diedrich H, Horst H-A, Hüttmann A, et al. Outcome of relapsed adult lymphoblastic leukemia depends on response to salvage chemotherapy, prognostic factors, and performance of stem cell transplantation. *Blood*. 2012 Sep 6;120(10):2032–2041. PMID: 22493293
  42. Copelan EA. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *New England Journal of Medicine*. 2006 Apr 27;354(17):1813–1826. PMID: 16641398
  43. Appelbaum FR. Hematopoietic-cell transplantation at 50. *N Engl J Med*. 2007 Oct 11;357(15):1472–1475. PMID: 17928594
  44. Davies SM, Ramsay NK, Klein JP, Weisdorf DJ, Bolwell B, Cahn JY, et al. Comparison of preparative regimens in transplants for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2000 Jan;18(2):340–347. PMID: 10637248
  45. Bunin N, Aplenc R, Kamani N, Shaw K, Cnaan A, Simms S. Randomized trial of busulfan vs total body irradiation containing conditioning regimens for children with acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium study. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Sep;32(6):543–548. PMID: 12953124
  46. Marks DI, Forman SJ, Blume KG, Pérez WS, Weisdorf DJ, Keating A, et al. A comparison of cyclophosphamide and total body irradiation with etoposide and total body irradiation as conditioning regimens for patients undergoing sibling allografting for acute lymphoblastic leukemia in first or second complete remission. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006 Apr;12(4):438–453. PMID: 16545728
  47. Mackall C, Fry T, Gress R, Peggs K, Storek J, Toubert A, et al. Background to hematopoietic cell transplantation, including post transplant immune recovery. *Bone Marrow Transplant*. 2009 Oct;44(8):457–462. PMID: 19861978
  48. Zaia J, Baden L, Boeckh MJ, Chakrabarti S, Einsele H, Ljungman P, et al. Viral disease prevention after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2009 Oct;44(8):471–482. PMID: 19861981
  49. Marr KA, Bow E, Chiller T, Maschmeyer G, Ribaud P, Segal B, et al. Fungal infection prevention after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2009 Oct;44(8):483–487. PMID: 19861982
  50. Boeckh M, Ljungman P. How we treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients. *Blood*. 2009 Jun 4;113(23):5711–5719. PMID: PMC2700312
  51. Hahn T, McCarthy PL, Hassebroek A, Bredeson C, Gajewski JL, Hale GA, et al. Significant improvement in survival after allogeneic hematopoietic cell transplantation during a period of

- significantly increased use, older recipient age, and use of unrelated donors. *J Clin Oncol*. 2013 Jul 1;31(19):2437–2449. PMID: PMC3691359
52. Wood WA, Lee SJ, Brazauskas R, Wang Z, Aljurf MD, Ballen KK, et al. Survival improvements in adolescents and young adults after myeloablative allogeneic transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Jun;20(6):829–836. PMID: PMC4019683
  53. Frangoul H, Jagasia M. Relapse post hematopoietic SCT remains the Achilles heel for the field. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Aug;49(8):997–998. PMID: 25096916
  54. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, Hingorani S, Sorrow ML, Boeckh M, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2010 Nov 25;363(22):2091–2101. PMID: PMC3017343
  55. Gratwohl A, Hermans J, Goldman JM, Arcese W, Carreras E, Devergie A, et al. Risk assessment for patients with chronic myeloid leukaemia before allogeneic blood or marrow transplantation. Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet*. 1998 Oct 3;352(9134):1087–1092. PMID: 9798583
  56. Sorrow ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood*. 2005 Oct 15;106(8):2912–2919. PMID: PMC1895304
  57. Parimon T, Au DH, Martin PJ, Chien JW. A risk score for mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Ann Intern Med*. 2006 Mar 21;144(6):407–414. PMID: 16549853
  58. Smith AR, Majhail NS, MacMillan ML, DeFor TE, Jodele S, Lehmann LE, et al. Hematopoietic cell transplantation comorbidity index predicts transplantation outcomes in pediatric patients. *Blood*. 2011 Mar 3;117(9):2728–2734. PMID: 21228326
  59. Wood W, Deal A, Whitley J, Sharf A, Serody J, Gabriel D, et al. Usefulness of the hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index (HCT-CI) in predicting outcomes for adolescents and young adults with hematologic malignancies undergoing allogeneic stem cell transplant. *Pediatr Blood Cancer*. 2011 Sep;57(3):499–505. PMID: 21384538
  60. Armand P, Gibson CJ, Cutler C, Ho VT, Koreth J, Alyea EP, et al. A disease risk index for patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2012 Jul 26;120(4):905–913. PMID: PMC3412351
  61. Barba P, Martino R, Pérez-Simón JA, Fernández-Avilés F, Castillo N, Piñana JL, et al. Combination of the Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index and the European Group for Blood and Marrow Transplantation score allows a better stratification of high-risk patients undergoing reduced-toxicity allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Jan;20(1):66–72. PMID: 24141006
  62. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood*. 2007 Dec 15;110(13):4576–4583. PMID: 17785583
  63. Yakoub-Agha I, Mesnil F, Kuentz M, Boiron JM, Ifrah N, Milpied N, 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 malignancy: a prospective study from the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy. *J Clin Oncol*. 2006 Dec 20;24(36):5695–5702. PMID: 17116940
  64. Deeg HJ. How I treat refractory acute GVHD. *Blood*. 2007 May 15;109(10):4119–4126. PMID:

65. Cutler C, Antin J. Manifestations and treatment of acute graft-versus-host disease. In: Appelbaum FR, Thomas ED, editors. *Thomas' hematopoietic cell transplantation: stem cell transplantation*. 4th ed. Chichester, UK ; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2009. p. 1287–1303.
66. Pavletic S, Vogelsang G. Chronic graft-versus-host disease: clinical manifestations and therapy. In: Appelbaum FR, Thomas ED, editors. *Thomas' hematopoietic cell transplantation: stem cell transplantation*. 4th ed. Chichester, UK ; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2009. p. 1304–1324.
67. Flowers MED, Inamoto Y, Carpenter PA, Lee SJ, Kiem H-P, Petersdorf EW, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood*. 2011 Mar 17;117(11):3214–3219. PMID: 22713691
68. Finke J, Schmoor C, Bethge WA, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, 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 Nov;18(11):1716–1726. PMID: 22713691
69. Shinzato A, Tabuchi K, Atsuta Y, Inoue M, Inagaki J, Yabe H, et al. PBSCT is associated with poorer survival and increased chronic GvHD than BMT in Japanese paediatric patients with acute leukaemia and an HLA-matched sibling donor. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Sep;60(9):1513–1519. PMID: 23512888
70. Eapen M, Rocha V, Sanz G, Scaradavou A, Zhang M-J, Arcese W, et al. Effect of graft source on unrelated donor haemopoietic stem-cell transplantation in adults with acute leukaemia: a retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2010 Jul;11(7):653–660. PMID: 20631635
71. Sohn SK, Kim DH, Baek JH, Kim JG, Lee KB, Lee K-H, et al. Risk-factor analysis for predicting progressive- or quiescent-type chronic graft-versus-host disease in a patient cohort with a history of acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2006 Apr;37(7):699–708. PMID: 16501588
72. Chao N, Sullivan KM. Pharmacologic prevention of acute graft-versus-host disease. In: Appelbaum FR, Thomas ED, editors. *Thomas' hematopoietic cell transplantation: stem cell transplantation*. 4th ed. Chichester, UK ; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2009. p. 1257–1274.
73. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med*. 1980 Aug;69(2):204–217. PMID: 6996481
74. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005 Dec;11(12):945–956. PMID: 16338616
75. Lee SJ, Klein JP, Barrett AJ, Ringden O, Antin JH, Cahn J-Y, et al. Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse. *Blood*. 2002 Jul 15;100(2):406–414. PMID: 12091329
76. Couriel D, Carpenter PA, Cutler C, Bolaños-Meade J, Treister NS, Gea-Banacloche J, et al. Ancillary therapy and supportive care of chronic graft-versus-host disease: national institutes of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic Graft-versus-host disease: V. Ancillary Therapy and Supportive Care Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006 Apr;12(4):375–396. PMID: 16545722

77. Wolff D, Gerbitz A, Ayuk F, Kiani A, Hildebrandt GC, Vogelsang GB, et al. Consensus conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): first-line and topical treatment of chronic GVHD. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010 Dec;16(12):1611–1628. PMID: 20601036
78. Wolff D, Schleuning M, von Harsdorf S, Bacher U, Gerbitz A, Stadler M, et al. Consensus Conference on Clinical Practice in Chronic GVHD: Second-Line Treatment of Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011 Jan;17(1):1–17. PMID: 20685255
79. Ljungman P, Perez-Bercoff L, Jonsson J, Avetisyan G, Sparrelid E, Aschan J, et al. Risk factors for the development of cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica.* 2006 Jan;91(1):78–83. PMID: 16434374
80. Emery VC, Sabin CA, Cope AV, Gor D, Hassan-Walker AF, Griffiths PD. Application of viral-load kinetics to identify patients who develop cytomegalovirus disease after transplantation. *Lancet.* 2000 Jun 10;355(9220):2032–2036. PMID: 10885354
81. Einsele H, Ehninger G, Hebart H, Wittkowski KM, Schuler U, Jahn G, et al. Polymerase chain reaction monitoring reduces the incidence of cytomegalovirus disease and the duration and side effects of antiviral therapy after bone marrow transplantation. *Blood.* 1995 Oct 1;86(7):2815–2820. PMID: 7670117
82. Selby GB, Ali LI, Carter TH, Veseley S, Roy V. The influence of health insurance on outcomes of related-donor hematopoietic stem cell transplantation for AML and CML. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2001;7(10):576. PMID: 11760090
83. Bierenbaum J, Davidoff AJ, Ning Y, Tidwell ML, Gojo I, Baer MR. Racial differences in presentation, referral and treatment patterns and survival in adult patients with acute myeloid leukemia: a single-institution experience. *Leuk Res.* 2012 Feb;36(2):140–145. PMID: 22112974
84. Bhayat F, Das-Gupta E, Hubbard R. Bone marrow transplantation in AML, and socioeconomic class: a UK population-based cohort study. *BMC Cancer.* 2010;10:514. PMCID: PMC2955610
85. Majhail NS, Nayyar S, Santibañez MEB, Murphy EA, Denzen EM. Racial disparities in hematopoietic cell transplantation in the United States. *Bone Marrow Transplant.* 2012 Nov;47(11):1385–1390. PMCID: PMC3848311
86. Serna DS, Lee SJ, Zhang M, Baker K S, Eapen M, Horowitz MM, et al. Trends in survival rates after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for acute and chronic leukemia by ethnicity in the United States and Canada. *J Clin Oncol.* 2003 Oct 15;21(20):3754–3760. PMID: 14551294
87. Baker KS, Davies SM, Majhail NS, Hassebroek A, Klein JP, Ballen KK, et al. Race and socioeconomic status influence outcomes of unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009 Dec;15(12):1543–1554. PMCID: PMC2775819
88. Wagner JE, Eapen M, Carter S, Wang Y, Schultz KR, Wall DA, et al. One-unit versus two-unit cord-blood transplantation for hematologic cancers. *N Engl J Med.* 2014 Oct 30;371(18):1685–1694. PMCID: PMC4257059
89. Giebel S, Labopin M, Ehninger G, Beelen D, Blaise D, Ganser A, et al. Association of Human Development Index with rates and outcomes of hematopoietic stem cell transplantation for patients with acute leukemia. *Blood.* 2010 Jul 8;116(1):122–128. PMID: 20395416
90. Silla L, Fischer GB, Paz A, Daudt LE, Mitto I, Katz B, et al. Patient socioeconomic status as a prognostic factor for allo-SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2009 Apr;43(7):571–577. PMID: 18978820
91. Eid K a. B, Miranda ECM, Vigorito AC, Aranha FJP, Oliveira GB, De Souza CA. The availability of

- full match sibling donors and feasibility of allogeneic bone marrow transplantation in Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 2003 Mar;36(3):315–321. PMID: 12640495
92. Allemani C, Weir HK, Carreira H, Harewood R, Spika D, Wang X-S, et al. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). *Lancet.* 2015 Mar 14;385(9972):977–1010. PMID: 25467588
  93. Brandalise S, Odone V, Pereira W, Andrea M, Zanichelli M, Aranega V. Treatment results of three consecutive Brazilian cooperative childhood ALL protocols: GBTLI-80, GBTLI-82 and -85. ALL Brazilian Group. *Leukemia.* 1993 Aug;7 Suppl 2:S142–145. PMID: 8361220
  94. Brandalise SR, Pinheiro VR, Aguiar SS, Matsuda EI, Otubo R, Yunes JA, et al. Benefits of the intermittent use of 6-mercaptopurine and methotrexate in maintenance treatment for low-risk acute lymphoblastic leukemia in children: randomized trial from the Brazilian Childhood Cooperative Group--protocol ALL-99. *J Clin Oncol.* 2010 Apr 10;28(11):1911–1918. PMID: 20212252
  95. Scrideli CA, Assumpção JG, Ganazza MA, Araújo M, Toledo SR, Lee MLM, et al. A simplified minimal residual disease polymerase chain reaction method at early treatment points can stratify children with acute lymphoblastic leukemia into good and poor outcome groups. *Haematologica.* 2009 Jun;94(6):781–789. PMID: PMC2688569
  96. Mata JF, Silveira VS, Mateo EC, Cortez MAA, Queiroz RGP, Yunes JA, et al. Low mRNA expression of the apoptosis-related genes CASP3, CASP8, and FAS is associated with low induction treatment response in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Pediatr Blood Cancer.* 2010 Jul 15;55(1):100–107. PMID: 20232432
  97. Silveira VS, Scrideli CA, Moreno DA, Yunes JA, Queiroz RGP, Toledo SC, et al. Gene expression pattern contributing to prognostic factors in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2013 Feb;54(2):310–314. PMID: 22897724
  98. Gratwohl A, Baldomero H, Aljurf M, Pasquini MC, Bouzas LF, Yoshimi A, et al. Hematopoietic stem cell transplantation: a global perspective. *JAMA.* 2010 Apr 28;303(16):1617–1624. PMID: PMC3219875
  99. Zanichelli MA, Coulturato V, Simoes BP, Vieira GMM, Sobrinho J. Transplante de células-tronco hematopoiéticas em leucemia linfoblástica aguda em adultos. In: Hamerschlak N, Bouzas LF, Seber A, Silla L, Ruiz MA, editors. *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea 2012.* SBTMO; 2013. p. 49–62.
  100. Seber A, Bonfim CMS, Daudt LE, Gouveia RV, Villela N, Mauad M, et al. Indicações de transplante de células-tronco hematopoéticas em pediatria. In: Hamerschlak N, Bouzas LF, Seber A, Silla L, Ruiz MA, editors. *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea 2012.* SBTMO; 2013. p. 239–284.
  101. Campregher PV, Hamerschlak N, Coulturato VAR, Mauad MA, de Souza MP, Bouzas LF da S, et al. Survival and graft-versus-host disease in patients receiving peripheral stem cell compared to bone marrow transplantation from HLA-matched related donor: retrospective analysis of 334 consecutive patients. *Eur J Haematol.* 2015 Jan 21; PMID: 25645430
  102. CONASS. *Assistencia de media e alta complexidade no SUS.* Brasilia: CONASS; 2011.
  103. *Regulamento técnico do Sistema Nacional de Transplantes.* Portaria no. 2600 de 21 de outubro de 2009.
  104. Brasil, Ministério da Saúde. *Portaria no 845 de 2 de maio de 2012.*

105. SIGTAP - Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e OPM do SUS. Disponível: <http://http://sigtap.datasus.gov.br/tabela-unificada/app/sec/inicio.jsp> [acessado: 21/07/2015].
106. Thomas X, Boiron J-M, Huguet F, Dombret H, Bradstock K, Vey N, et al. Outcome of treatment in adults with acute lymphoblastic leukemia: analysis of the LALA-94 trial. *J Clin Oncol*. 2004 Oct 15;22(20):4075–4086. PMID: 15353542
107. Carvalho MS, Andreozzi VL, Codeço CT, Campos DP, Barbosa MTS, Shimakura SE, et al. Modelo semiparamétrico de sobrevivência. *Análise de sobrevivência: Teoria e aplicações em saúde*. 2nd ed. Rio de Janeiro, RJ: Editora Fiocruz; 2011. p. 183–211.
108. Thomas L, Reyes EM. Tutorial: Survival Estimation for Cox Regression Models with Time-Varying Coefficients Using SAS and R. *Journal of Statistical Software, Code Snippets*. 2014;61(1):Code Snippet 1.
109. Gray RJ. A class of k-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *The Annals of Statistics*. 1988 Sep;16(3):1141–1154.
110. Fine JP, Gray RJ. A Proportional Hazards Model for the Subdistribution of a Competing Risk. *Journal of the American Statistical Association*. 1999 Jun;94(446):496–509.
111. Diao G, Zeng D. Clustered competing risks. In: Klein JP, van Houwelingen HC, Ibrahim JG, Scheike, editors. *Handbook of survival analysis* [Internet]. 2014 [cited 2015 May 17]. p. 511–522. Available from: <http://www.crcnetbase.com/isbn/9781466555679>
112. Katsahian S, Boudreau C. Estimating and testing for center effects in competing risks. *Stat Med*. 2011 Jun 15;30(13):1608–1617. PMID: 21341296
113. Zhou B, Fine J, Latouche A, Labopin M. Competing risks regression for clustered data. *Biostatistics*. 2012 Jul;13(3):371–383. PMCID: PMC3372942
114. Stem Cell Trialists' Collaborative Group. Allogeneic peripheral blood stem-cell compared with bone marrow transplantation in the management of hematologic malignancies: an individual patient data meta-analysis of nine randomized trials. *J Clin Oncol*. 2005 Aug 1;23(22):5074–5087. PMCID: PMC1475795
115. Durrieu L, Lemieux W, Dieng MM, Fontaine F, Duval M, Le Deist F, et al. Implication of different effector mechanisms by cord blood-derived and peripheral blood-derived cytokine-induced killer cells to kill precursor B acute lymphoblastic leukemia cell lines. *Cytotherapy*. 2014 Jun;16(6):845–856. PMID: 24529554
116. Bari R, Rujkijyanont P, Sullivan E, Kang G, Turner V, Gan K, et al. Effect of donor KIR2DL1 allelic polymorphism on the outcome of pediatric allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2013 Oct 20;31(30):3782–3790. PMCID: PMC3795888
117. Babor F, Manser AR, Fischer JC, Scherenschlich N, Enczmann J, Chazara O, et al. KIR ligand C2 is associated with increased susceptibility to childhood ALL and confers an elevated risk for late relapse. *Blood*. 2014 Oct 2;124(14):2248–2251. PMID: 25163702
118. Sullivan EM, Jeha S, Kang G, Cheng C, Rooney B, Holladay M, et al. NK cell genotype and phenotype at diagnosis of acute lymphoblastic leukemia correlate with postinduction residual disease. *Clin Cancer Res*. 2014 Dec 1;20(23):5986–5994. PMCID: PMC4252745
119. Locatelli F, Pende D, Mingari MC, Bertaina A, Falco M, Moretta A, et al. Cellular and molecular basis of haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in the successful treatment of high-risk

- leukemias: role of alloreactive NK cells. *Front Immunol.* 2013;4:15. PMID: PMC3561663
120. Tracey J, Zhang M-J, Thiel E, Sobocinski KA, Eapen M. Transplantation conditioning regimens and outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013 Feb;19(2):255–259. PMID: PMC3553255
  121. Künkele A, Engelhard M, Hauffa BP, Mellies U, Müntjes C, Hüer C, et al. Long-term follow-up of pediatric patients receiving total body irradiation before hematopoietic stem cell transplantation and post-transplant survival of >2 years. *Pediatr Blood Cancer.* 2013 Nov;60(11):1792–1797. PMID: 23893964
  122. Mulcahy Levy JM, Tello T, Giller R, Wilkening G, Quinones R, Keating AK, et al. Late effects of total body irradiation and hematopoietic stem cell transplant in children under 3 years of age. *Pediatr Blood Cancer.* 2013 Apr;60(4):700–704. PMID: PMC3488362
  123. Lee JW, Kang HJ, Kim S, Lee SH, Yu K-S, Kim NH, et al. Favorable outcome of hematopoietic stem cell transplantation using a targeted once-daily intravenous busulfan-fludarabine-etoposide regimen in pediatric and infant acute lymphoblastic leukemia patients. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015 Jan;21(1):190–195. PMID: 25255163
  124. Bredeson C, LeRademacher J, Kato K, Dipersio JF, Agura E, Devine SM, et al. Prospective cohort study comparing intravenous busulfan to total body irradiation in hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2013 Dec 5;122(24):3871–3878. PMID: PMC3854109
  125. Pasquini MC, Zhu X. Current uses and outcomes of hematopoietic stem cell transplantation: 2014 CIBMTR Summary Slides. Available: <http://www.cibmtr.org> [Accessed 01 May 2015].
  126. Koh H, Nakamae H, Hagihara K, Nakane T, Manabe M, Hayashi Y, et al. Factors that contribute to long-term survival in patients with leukemia not in remission at allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Exp Clin Cancer Res.* 2011;30:36. PMID: PMC3083370
  127. Duval M, Klein JP, He W, Cahn J-Y, Cairo M, Camitta BM, et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for acute leukemia in relapse or primary induction failure. *J Clin Oncol.* 2010 Aug 10;28(23):3730–3738. PMID: PMC2917308
  128. Inagaki J, Fukano R, Noguchi M, Kurauchi K, Tanioka S, Okamura J. Hematopoietic stem cell transplantation following unsuccessful salvage treatment for relapsed acute lymphoblastic leukemia in children. *Pediatr Blood Cancer.* 2015 Apr;62(4):674–679. PMID: 25546601
  129. Nash RA, Pepe MS, Storb R, Longton G, Pettinger M, Anasetti C, et al. Acute graft-versus-host disease: analysis of risk factors after allogeneic marrow transplantation and prophylaxis with cyclosporine and methotrexate. *Blood.* 1992 Oct 1;80(7):1838–1845. PMID: 1391947
  130. Hahn T, McCarthy PL, Zhang M-J, Wang D, Arora M, Frangoul H, et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia. *J Clin Oncol.* 2008 Dec 10;26(35):5728–5734. PMID: PMC2645611
  131. Nakasone H, Kanda Y, Takasaki H, Nakaseko C, Sakura T, Fujisawa S, et al. Prophylactic impact of imatinib administration after allogeneic stem cell transplantation on the incidence and severity of chronic graft versus host disease in patients with Philadelphia chromosome-positive leukemia. *Leukemia.* 2010 Jun;24(6):1236–1239. PMID: 20428195
  132. Fletcher JA, Lynch EA, Kimball VM, Donnelly M, Tantravahi R, Sallan SE. Translocation (9;22) is associated with extremely poor prognosis in intensively treated children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 1991 Feb 1;77(3):435–439. PMID: 1991160

133. Carlens S, Ringdén O, Remberger M, Lönnqvist B, Hägglund H, Klaesson S, et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: a retrospective single centre analysis. *Bone Marrow Transplant.* 1998 Oct;22(8):755–761. PMID: 9827972
134. Manjappa S, Bhamidipati PK, Stokerl-Goldstein KE, DiPersio JF, Uy GL, Westervelt P, et al. Protective effect of cytomegalovirus reactivation on relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia patients is influenced by conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014 Jan;20(1):46–52. PMCID: PMC4029772
135. Ljungman P, de La Camara R, Milpied N, Volin L, Russell CA, Crisp A, et al. Randomized study of valacyclovir as prophylaxis against cytomegalovirus reactivation in recipients of allogeneic bone marrow transplants. *Blood.* 2002 Apr 15;99(8):3050–3056. PMID: 11929799
136. Nichols WG, Corey L, Gooley T, Davis C, Boeckh M. High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV)-seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: evidence for indirect effects of primary CMV infection. *J Infect Dis.* 2002 Feb 1;185(3):273–282. PMID: 11807708
137. Machado CM, Menezes RX, Macedo MC, Mendes AV, Boas LS, Castelli JB, et al. Extended antigenemia surveillance and late cytomegalovirus infection after allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant.* 2001 Dec;28(11):1053–1059. PMID: 11781616
138. Komanduri KV, St John LS, de Lima M, McMannis J, Rosinski S, McNiece I, et al. Delayed immune reconstitution after cord blood transplantation is characterized by impaired thymopoiesis and late memory T-cell skewing. *Blood.* 2007 Dec 15;110(13):4543–4551. PMCID: PMC2234787
139. Walker CM, van Burik J-AH, De For TE, Weisdorf DJ. Cytomegalovirus infection after allogeneic transplantation: comparison of cord blood with peripheral blood and marrow graft sources. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007 Sep;13(9):1106–1115. PMID: 17697973
140. Milano F, Pergam SA, Xie H, Leisenring WM, Gutman JA, Riffkin I, et al. Intensive strategy to prevent CMV disease in seropositive umbilical cord blood transplant recipients. *Blood.* 2011 Nov 17;118(20):5689–5696. PMCID: PMC3217367
141. Albano MS, Taylor P, Pass RF, Scaradavou A, Ciubotariu R, Carrier C, et al. Umbilical cord blood transplantation and cytomegalovirus: Posttransplantation infection and donor screening. *Blood.* 2006 Dec 15;108(13):4275–4282. PMID: 16926290
142. Guerrero A, Riddell SR, Storek J, Stevens-Ayers T, Storer B, Zaia JA, et al. Cytomegalovirus viral load and virus-specific immune reconstitution after peripheral blood stem cell versus bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012 Jan;18(1):66–75. PMCID: PMC3237869
143. George B, Kerridge I, Gilroy N, Huang G, Hertzberg M, Gottlieb D, et al. Fludarabine-based reduced intensity conditioning transplants have a higher incidence of cytomegalovirus reactivation compared with myeloablative transplants. *Bone Marrow Transplant.* 2010 May;45(5):849–855. PMID: 19915635
144. Hakki M, Riddell SR, Storek J, Carter RA, Stevens-Ayers T, Sudour P, et al. Immune reconstitution to cytomegalovirus after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: impact of host factors, drug therapy, and subclinical reactivation. *Blood.* 2003 Oct 15;102(8):3060–3067. PMID: 12843000
145. Seggewiss R, Einsele H. Immune reconstitution after allogeneic transplantation and expanding options for immunomodulation: an update. *Blood.* 2010 May 13;115(19):3861–3868. PMID: 20215642
146. Atta EH, de Sousa AM, Schirmer MR, Bouzas LF, Nucci M, Abdelhay E. Different outcomes

- between cyclophosphamide plus horse or rabbit antithymocyte globulin for HLA-identical sibling bone marrow transplant in severe aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012 Dec;18(12):1876–1882. PMID: 22796534
147. Hannon M, Beguin Y, Ehx G, Servais S, Seidel L, Graux C, et al. Immune Recovery after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation following Flu-TBI versus TLI-ATG Conditioning. *Clin Cancer Res*. 2015 Mar 16; PMID: 25779951
  148. Jaskula E, Bochenska J, Kocwin E, Tarnowska A, Lange A. CMV Serostatus of Donor-Recipient Pairs Influences the Risk of CMV Infection/Reactivation in HSCT Patients. *Bone Marrow Res*. 2012;2012:375075. PMCID: PMC3512215
  149. Finke J, Bethge WA, Schmoor C, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, et al. Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomised, open-label, multicentre phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2009 Sep;10(9):855–864. PMID: 19695955
  150. Bacigalupo A, Lamparelli T, Bruzzi P, Guidi S, Alessandrino PE, di Bartolomeo P, et al. Antithymocyte globulin for graft-versus-host disease prophylaxis in transplants from unrelated donors: 2 randomized studies from Gruppo Italiano Trapianti Midollo Osseo (GITMO). *Blood*. 2001 Nov 15;98(10):2942–2947. PMID: 11698275
  151. Wagner JE, Thompson JS, Carter SL, Kernan NA, Unrelated Donor Marrow Transplantation Trial. Effect of graft-versus-host disease prophylaxis on 3-year disease-free survival in recipients of unrelated donor bone marrow (T-cell Depletion Trial): a multi-centre, randomised phase II-III trial. *Lancet*. 2005 Sep 27;366(9487):733–741. PMID: 16125590
  152. Theurich S, Fischmann H, Shimabukuro-Vornhagen A, Chemnitz JM, Holtick U, Scheid C, et al. Polyclonal anti-thymocyte globulins for the prophylaxis of graft-versus-host disease after allogeneic stem cell or bone marrow transplantation in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;9:CD009159. PMID: 22972135
  153. Soiffer RJ, Lerademacher J, Ho V, Kan F, Artz A, Champlin RE, et al. Impact of immune modulation with anti-T-cell antibodies on the outcome of reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematologic malignancies. *Blood*. 2011 Jun 23;117(25):6963–6970. PMCID: PMC3128486
  154. Pidala J, Tomblyn M, Nishihori T, Ayala E, Field T, Fernandez H, et al. ATG prevents severe acute graft-versus-host disease in mismatched unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Aug;17(8):1237–1244. PMID: 21215811
  155. Sohn SK, Moon JH. Favorable effects of low-dose anti-thymocyte globulin in a partially-mismatched HLA group in an unrelated allogeneic stem cell transplantation setting. *Ann Transplant*. 2015;20:7–15. PMID: 25564881
  156. Ayuk F, Diyachenko G, Zabelina T, Panse J, Wolschke C, Eiermann T, et al. Anti-thymocyte globulin overcomes the negative impact of HLA mismatching in transplantation from unrelated donors. *Exp Hematol*. 2008 Aug;36(8):1047–1054. PMID: 18456390
  157. Hamadani M, Blum W, Phillips G, Elder P, Andritsos L, Hofmeister C, et al. Improved nonrelapse mortality and infection rate with lower dose of antithymocyte globulin in patients undergoing reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Nov;15(11):1422–1430. PMCID: PMC3953136
  158. Boeckh M, Gooley TA, Myerson D, Cunningham T, Schoch G, Bowden RA. Cytomegalovirus pp65 antigenemia-guided early treatment with ganciclovir versus ganciclovir at engraftment after

- allogeneic marrow transplantation: a randomized double-blind study. *Blood*. 1996 Nov 15;88(10):4063–4071. PMID: 8916975
159. Prentice HG, Gluckman E, Powles RL, Ljungman P, Milpied NJ, Camara R, et al. Long-term survival in allogeneic bone marrow transplant recipients following acyclovir prophylaxis for CMV infection. The European Acyclovir for CMV Prophylaxis Study Group. *Bone Marrow Transplant*. 1997 Jan;19(2):129–133. PMID: 9116609
160. Winston DJ, Yeager AM, Chandrasekar PH, Snyderman DR, Petersen FB, Territo MC, et al. Randomized comparison of oral valganciclovir and intravenous ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis*. 2003 Mar 15;36(6):749–758. PMID: 12627359
161. Boeckh M, Nichols WG, Chemaly RF, Papanicolaou GA, Wingard JR, Xie H, et al. Valganciclovir for the prevention of complications of late cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2015 Jan 6;162(1):1–10. PMID: 25560711