

LUIZ PAULO BELTRAME

**INDUÇÃO DE QUIMERISMO HEMATOPOÉTICO MISTO
COM FLUDARABINA E IRRADIAÇÃO CORPORAL
TOTAL PRÉ TRANSPLANTE DE CÉLULAS
PROGENITORAS PERIFÉRICAS, EM PACIENTES COM
NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS**

CAMPINAS

2006

LUIZ PAULO BELTRAME

**INDUÇÃO DE QUIMERISMO HEMATOPOÉTICO MISTO
COM FLUDARABINA E IRRADIAÇÃO CORPORAL
TOTAL PRÉ TRANSPLANTE DE CÉLULAS
PROGENITORAS PERIFÉRICAS, EM PACIENTES COM
NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS**

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de
Doutor em Clínica Médica, área de concentração
Clínica Médica.*

ORIENTADOR: *Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza*

CAMPINAS

2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

B419i Beltrame, Luiz Paulo
 Indução de quimerismo hematopoético misto com fludarabina e
 irradiação corporal total pré transplante de células progenitoras
 periféricas, em pacientes com neoplasias hematológicas / Luiz Paulo
 Beltrame. Campinas, SP : [s.n.], 2006.

Orientador : Cármino Antonio de Souza
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Ciências Médicas.

1. Transplante de medula óssea. 2. Linfoma. 3. Hodgkin,
Linfoma não . 4. Mieloma múltiplo. I. Souza, Cármino Antonio de.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
Médicas. III. Título.

Título em inglês : NST is feasible and safe for high risk hematopoietic malignancies

Keywords: • Bone Marrow Transplantation

- Lymphoma
- Lymphoma non-Hodgkin
- Multiple myeloma

Área de concentração : Clínica Médica

Titulação: Doutorado em Clínica Médica

Banca examinadora: Prof Dr Cármino Antonio de Souza

Prof Dr Ângelo Maiolino

Profa. Dra. Vânia Hungria

Profa. Dra. Kátia Borgia Barbosa Pagano

Profa Maria de Lourdes Rios Barjas de Castro

Data da defesa: 30-06-2006

Banca Examinadora da Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza

MEMBROS:

1- Prof Dr Cármino Antonio de Souza

2- Prof. Dr. Ângelo Maiolino

3- Profa. Dra. Vânia Hungria

4- Profa. Dra. Kátia Borgia Barbosa Pagano

5- Profa. Dra. Maria de Lourdes B. R. Castro

Curso de pós-graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 30/06/2006

Dedico este trabalho para:

Rosa de Antônio Beltrame

Mônica Beltrame

Mariza Beltrame Telles

Júlio Carlos de Vasconcelos Zacarchenco

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Cármino Antônio de Souza**, pela orientação, dedicação e paciência na realização deste trabalho, pela convivência amistosa em todos os momentos, e sobretudo pelo exemplo de conduta profissional, como médico e como professor, que tenho buscado seguir em minha vida.

Ao Dr. Afonso Celso Vigorito, pelo incentivo e preciosa ajuda na realização deste trabalho;

À Eliana Cristina Martins Miranda, pela grande colaboração, paciência, incentivo, e pela amizade que surgiu desde o início, e se consolidou durante a realização deste trabalho;

Aos médicos da equipe de Transplante de Medula Óssea do Hospital das Clínicas da UNICAMP, Dra. Kátia Aparecida Eid, Dra. Gislaine Borba Oliveira, e Dr. Francisco José Penteado Aranha, por todo incentivo, apoio, amizade e colaboração nestes anos todos;

À Nicete Romano, por toda paciência, amizade, incentivo, e por todo suporte fornecido;

A todos os funcionários do Hemocentro da UNICAMP, pelo grande apoio na realização deste trabalho, e pela amizade sempre demonstrada.

“De tudo ficaram três coisas: a certeza de que ele estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo. Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte, da procura um encontro.”

Fernando Sabino (1956)

	<i>Pág.</i>
RESUMO.....	<i>xiii</i>
ABSTRACT.....	<i>xvi</i>
1- INTRODUÇÃO.....	18
2- OBJETIVOS.....	32
3- MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4- RESULTADOS.....	49
5- DISCUSSÃO.....	66
6- CONCLUSÃO.....	72
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
8- APÊNDICE.....	83

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A-CPP	Transplante autólogo de células progenitoras periféricas
Abi-CPP	Transplante mieloablativo de células progenitoras periféricas
ALT	Alanina amino-transferase
AREB	Anemia refratária com excesso de blastos
AREB-t	Anemia refratária com excesso de blastos em transformação
AST	Aspartato amino-transferase
CH	Concentrado de hemácias
CMV	Citomegalovírus
CP	Concentrado de plaquetas
CPP	Células progenitoras periféricas
CSPA	Ciclosporina-A
DECH	Doença do enxerto contra o hospedeiro
ECM	Enxerto contra malignidade (efeito)
FISH	Hibridização fluorescente <i>in situ</i>
G-CSF	Fator de crescimento de colônias de neutrófilos
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígenos leucocitários humanos

HTLV-1	Vírus linfotrófico de células T humanas
ICT	Irradiação corporal total
ILD	Infusão de linfócitos do doador
LLA	Leucemia linfóide aguda
LLC	Leucemia linfóide crônica
LMA	Leucemia mielóide aguda
LMC	Leucemia mielóide crônica
LH	Linfoma Hodgkin
LNH	Linfoma não-Hodgkin
MBRP	Muito boa remissão parcial
mHAgs	Antígenos menores de histocompatibilidade humana
MM	Mieloma múltiplo
MMF	Micofenolato mofetil
MRT	Mortalidade relacionada ao transplante
MTX	Metotrexate
N	Neutrófilos
Nabl	Não-mieloablativo (transplante)
Nabl-CPP	Transplante não-mieloablativo de células precursoras periféricas
NPP	Nutrição parenteral

NR	Não responsivo
P	Plaquetas
PD	Progressão de doença
QM	Quimerismo misto
RP	Remissão parcial
SG	Sobrevida global
SLP	Sobrevida livre de progressão
SMD	Síndrome mielodisplásica
TMO	Transplante alogênico de medula óssea
TPAP	Tempo e atividade de protrombina
TPP	Tempo para progressão
TTPA	Tempo de tromboplastina parcial ativado
VNTR	<i>Variable number of tandem repeat</i>
VOD	Doença veno-oclusiva hepática

	<i>Pág.</i>
Tabela 1- Indicações da infusão de linfócitos do doador após a realização do NAbI-CPP.....	43
Tabela 2- Regimes de condicionameto pré-transplante e esquemas de imunossupressão pós-transplante nos NAbI-CPP e Abl-CPP.....	47
Tabela 3- Distribuição dos pacientes por idade, sexo, doença e situação da doença.....	52
Tabela 4- Toxicidade hematológica e incidência de infecções relacionadas ao regime de condicionamento pré-trans-plante nos pacientes submetidos ao NAbI-CPP e Abl-CPP.....	56
Tabela 5- Toxicidade não-hematológica e incidência de infecções relacionadas ao regime de condicionamento pré-trans-plante nos pacientes submetidos ao NAbI-CPP e Abl-CPP.....	57
Tabela 6- Dados dos pacientes submetidos ao NAbI-CPP.....	91
Tabela 7- Dados dos pacientes submetidos ao Abl-CPP.....	94

	<i>Pág.</i>
Figura 1- Cinética de pega após TMO com regime de condicionamento não-mieloablativo com Fludarabina 90 mg/m ² e 2 Gy de ICT.....	23
Figura 2- Regime de condicionamento pré-NAbl-CPP e esquema de imunossupressão pós-transplante.....	40
Figura 3- Distribuição dos pacientes por doença nos indivíduos submetidos ao NAbl-CPP e Abl-CPP.....	51
Figura 4- Estimativa de sobrevida global nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP e Abl-CPP.....	61
Figura 5- Estimativa de mortalidade relacionada ao procedimento nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP e Abl-CPP.....	62
Figura 6- Estimativa da sobrevida livre de progressão nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP.....	63
Figura 7- Estimativa do tempo para progressão nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP.....	64
Figura 8- Estimativas de sobrevida livre de progressão e do tempo para progressão nos pacientes submetidos ao Abl-CPP e ao NAbl-CPP.....	65

RESUMO

As elevadas taxas de mortalidade após transplante alogênico de medula óssea (TMO) com regime de condicionamento pré-transplante mieloablativo, levou-nos a iniciar a realização destes procedimentos utilizando-se regime de condicionamento pré-transplante não-mieloablativo, para pacientes considerados de maior risco. Esta modalidade de tratamento passou a ser oferecida para pacientes com neoplasias hematológicas que devido à idade mais avançada, e/ou presença de comorbidades, eram inelegíveis para serem submetidos a um TMO convencional, e também para aqueles que estavam sendo submetidos a um segundo TMO.

Entre julho de 2001 e outubro de 2005, 26 pacientes (leucemia mielóide aguda, n=1; leucemia mielóide crônica, n=1; Linfoma de Hodgkin, n=4; Linfoma não-Hodgkin agressivo, n=6; mieloma múltiplo, n=14) receberam TMO de um doador relacionado HLA-idêntico com células progenitoras periféricas (CPP), após um condicionamento pré-TMO não-mieloablativo. O regime de condicionamento consistia de fludarabina, 30 mg/m²/dia por 3 dias, e 2 Gy de irradiação corporal total. A profilaxia da doença do enxerto-contrá-hospedeiro foi feita com ciclosporina-A por 56 dias, e micofenolato mofetil por 28 dias. Dos 26 pacientes, 23 (88%) encontravam-se em progressão de doença, e 24 (92%) estavam sendo submetidos ao segundo TMO. O seguimento mediano global foi de 436 dias (3-1397 dias), e o seguimento mediano dos pacientes vivos ao término deste estudo foi de 640 dias (135-1397 dias).

São apresentados também, sem qualquer finalidade comparativa, os resultados de 47 pacientes que no mesmo período e na mesma unidade, foram submetidos ao TMO com CPP após um regime de condicionamento mieloablativo.

Nos pacientes que receberam TMO com regime de condicionamento não-mieloablativo, a toxicidade não-hematológica foi branda e a recuperação rápida. Infecção bacteriana foi observada em 11 pacientes (44%).

O tempo mediano com contagem de neutrófilos menor que 500 células por ml de sangue foi de 6 dias, e apenas 3 pacientes (12%) atingiram contagem plaquetária abaixo de 20.000. Quimerismo hematopoiético completo foi atingido em 25 pacientes (95%), e infusão de linfócitos do doador foi necessária em 6 indivíduos, sendo em 3 devido ao estado de

quimerismo misto, e em 3 devido à progressão de doença. A doença do enxerto-contrahospedeiro (DECH) aguda graus II ou maior ocorreu em 9 pacientes (37%) e a DECH crônica extensa ocorreu em 15 (60%). Houve 12 óbitos (46%), 7 relacionados a complicações do procedimento e 5 devido a progressão de doença. A sobrevida global, sobrevida livre de progressão e tempo para progressão nestes pacientes foram respectivamente 39% (95% IC, 15-63%), 33% (95% IC, 11-55%) e 64% (95% IC, 32-96%), considerando-se um tempo de seguimento mediano de 436 dias, com variação de 3 a 1397.

O TMO com regime de condicionamento pré-transplante não-mieloablativo mostrou-se factível e seguro, com redução da toxicidade e mortalidade relacionadas ao procedimento, mesmo para pacientes com neoplasias hematológicas de alto risco.

ABSTRACT

Background and Objectives. High mortality rate after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with myeloablative conditioning prompted us to offer HSCT with non-myeloablative conditioning (NST).

Design and Methods. Between July, 2001 and October, 2005, 26 patients [acute myeloid leukemia, n=1; chronic myeloid leukemia, n=1; Hodgkin's lymphoma, n=4; aggressive non-Hodgkin's lymphoma n=6; multiple myeloma (MM), n=14], received peripheral NST from HLA-identical siblings. Conditioning regimen consisted of fludarabine plus 2 Gy of TBI, and GVHD prophylaxis with cyclosporine-A plus micofenolate mofetil. Eighty-eight percent were in progression of disease (PD) and 92% were undergoing their second HSCT.

Results. Non-hematologic toxicities were mild and transient. Bacterial infection occurred in 44%. Median time to granulocyte recovery was six days and only 12% achieved platelets count lower than $20 \times 10^9/L$. Full donor chimerism was established in 95%. Donor lymphocyte infusion was required in 6 patients, 3 because of mixed chimerism and 3 because of PD. A-GVHD grade II or higher was observed in 37%, and extensive c-GVHD in 60%. There were 12 deaths (46%), 7 transplant related mortality and 5 related to PD. OS, PFS and time to progression (TTP) were respectively 39% (95% CI, 15-63%), 33% (95% CI, 11-55%) and 64% (95% CI, 32-96%) for the whole group. MM patients had OS, PFS and TTP of 27% (CI 95%, 0-67%), 42% (95% CI, 8-76%) and 86% (95% CI, 60-100%), respectively.

Interpretation and Conclusion. This approach showed feasible and safe with reduction in transplant related toxicities, even for these high risk hematopoietic malignancies.

1 – INTRODUÇÃO

1- Evolução do conhecimento em transplante alogênico de medula óssea

O transplante alogênico de medula óssea (TMO) foi originalmente desenvolvido como uma forma de resgate de altas doses de quimioterapia utilizadas para erradicação de uma neoplasia hematológica maligna, ou para permitir a proliferação do enxerto no hospedeiro, nos pacientes portadores de anemia aplástica severa.

Os primeiros estudos de TMO em humanos datam de 1955-1960, porém os transplantes eram, na imensa maioria dos casos, sem sucesso, com os pacientes morrendo devido à perda do enxerto ou por progressão de doença (Baron & Storb, 2004). A segunda metade dos anos 60 assistiu o desenvolvimento dos regimes de condicionamento que consistiam na utilização da máxima dose tolerada de ciclofosfamida ou irradiação corporal total. Em uma revisão de 1970 foram analisados 200 TMO realizados até então, confirmando que muito pouco destes procedimentos haviam tido sucesso (Diaconescu & Storb, 2005).

Depois de um melhor entendimento do complexo sistema de antígenos leucocitários humanos (HLA), que permitiu a seleção de doadores compatíveis e do desenvolvimento de regimes de imunossupressão pós-TMO para controle da rejeição do enxerto e da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH), esta modalidade terapêutica passou de uma tentativa desesperada de tratamento para uma abordagem eletiva e potencialmente curativa para muitos pacientes com anemia aplástica severa e com doenças hematológicas malignas (Baron & Storb, 2004). Em 1977 e em 1979 foram publicados resultados nos quais pacientes com leucemias agudas em boas condições clínicas no momento do TMO tinham tido maior sobrevida livre de doença do que aqueles em más condições, e que os pacientes com doenças avançadas e/ou refratárias continuavam tendo uma elevada taxa de recidiva mesmo com as elevadas doses do regime de condicionamento pré-TMO. Isto sugeria que o TMO deveria ser oferecido mais cedo no curso da doença, enquanto os pacientes estivessem em boas condições clínicas e enquanto o tumor ainda fosse quimiossensível e/ou tivesse menor taxa de proliferação (Baron & Storb, 2004). Em 1986, dois estudos reportaram que a maioria dos pacientes com leucemia mielóide crônica (LMC) em fase crônica poderia ser curada com TMO a partir de um doador HLA-idêntico (Goldman et al., 1986).

Desde o final da década de 70 tem sido reconhecido que células imunocompetentes do enxerto transplantadas com as células-tronco, ou advindas destas, mediavam um efeito anti-tumoral no receptor, independentemente da ação das altas doses de rádio e/ou quimioterapia, o que foi descrito como efeito enxerto-contra-malignidade (ECM) (Baron & Storb, 2004). Ancorado na existência do efeito ECM, o desenvolvimento de regimes de condicionamento pré-TMO não-mieloablativos tem aberto a possibilidade de esta modalidade terapêutica poder ser oferecida aos pacientes com maior idade e/ou com comorbidades associadas, que os tornam inelegíveis para a utilização de um regime de condicionamento pré-TMO convencional ou mieloablativo, que utiliza altas doses de quimio e/ou radioterapia.

Também, nos estudos iniciais, exclusivamente a medula óssea era utilizada como fonte das células precursoras hematopoiéticas. Em 1990, o advento dos fatores estimulantes do crescimento de colônia de granulócitos (G-CSF) iniciou a era de utilização de células mononucleares do sangue periférico como fonte de células precursoras hematopoiéticas (Diaconescu & Storb, 2005).

2- Os regimes de condicionamento pré-TMO

A radiação corporal total (ICT) com 10 a 13,4 Gy foi a primeira abordagem de regime de condicionamento pré-TMO, seguindo-se da associação da ICT com a ciclofosfamida na dose de 120 mg/kg, e a partir de 1983 o bussulfan na dose de 16 mg/kg, combinado com a ciclofosfamida, passou a ser uma alternativa aos regimes de condicionamento que utilizavam ICT (Baron & Storb, 2004).

A esperada sobrevida longa dos pacientes submetidos à TMO pode ser impedida por taxas elevadas de mortalidade relacionada ao transplante (MRT). Tem sido reportado que os regimes de condicionamento com altas doses de bussulfan e ciclofosfamida carregam consigo uma elevada taxa de MRT (Nakamae et al., 2004; Peggs, 2004).

Regimes de condicionamento com intensidade reduzida ou não-mieloablativos foram estabelecidos para permitir que pacientes que tenham alto risco de MRT com esquemas tradicionais possam tornar-se elegíveis para a realização de um TMO. Um esquema verdadeiramente não-mieloablativo deve incluir: **i.)** não erradicação da hematopoiese do hospedeiro; **ii.)** recuperação da hematopoiese autóloga em até quatro semanas sem transplante; **iii.)** presença de quimerismo misto linfo-hematopoiético antes da pega do enxerto (Champlin et al., 2001; Giralt et al., 2001; Michallet et al., 2001).

Os regimes não-mieloablativos são baseados na otimização da imunossupressão pré e pós-transplante para superar a reação do hospedeiro contra o enxerto, e assim permitir o estabelecimento de um estado de quimerismo misto linfo-hematopoiético no receptor. Posteriormente, este estado de quimerismo misto evolui para o estado de quimerismo completo, ou seja, processa-se a substituição total do sistema linfo-hematopoiético do receptor pelo sistema linfo-hematopoiético do doador (Baron et al., 2005).

Em dois estudos recentes (Diaconescu et al., 2004; Valcarcel et al., 2005) os autores relatam que o uso de condicionamento não-mieloablativo foi o fator preditivo mais importante na redução da toxicidade e da MRT. Para Diaconescu et al., a redução da MRT foi especialmente relevante nos pacientes com condições clínicas não ideais pré-TMO, enquanto para Valcarcel et al., a redução da MRT foi mais significativa nos pacientes que estavam sendo submetido ao segundo TMO. Para Vela-Ojeda et al., 2004, o TMO com regime de condicionamento não-mieloablativo apresenta vantagens como: **i.)** evitar a ocorrência de lesões orgânicas severas, característica dos regimes mieloablativos; **ii.)** ausência de pancitopenia profunda e prolongada, reduzindo assim o risco de infecções; **iii.)** segurança da recuperação hematopoiética, no caso de rejeição do enxerto; **iv.)** permite a persistência das células apresentadoras de antígeno do hospedeiro, aumentando a apresentação dos antígenos menores de histocompatibilidade para os linfócitos T do doador, iniciando então o efeito ECM.

3- Quimerismo misto e a cinética de pega após TMO com regime de condicionamento não-mieloablativo

Conforme citado acima, o termo "quimerismo misto" refere-se à presença concomitante, após um TMO, de células linfo-hematopoiéticas do doador e do receptor no organismo do receptor, e "quimerismo completo" é definido como a completa reposição do sistema linfo-hematopoiético do receptor pelo sistema linfo-hematopoiético do doador.

Quando analisadas quantitativamente, por razões práticas, "quimerismo misto" foi definido como a detecção de 5 a 95% de células hematopoiéticas do doador no receptor, o que aproximadamente define a sensibilidade dos ensaios usados para esta finalidade (Antin et al., 2001). Vários métodos têm sido empregados para a determinação do grau de quimerismo linfo-hematopoiético doador-receptor após um TMO alogênico, como a citogenética convencional ou molecular (quando doador e receptor são de sexos diferentes), imunoglobulinas, marcadores ou antígenos eritrocitários, isoenzimas de leucócitos, hibridização fluorescente *in situ* (FISH) e análise do polimorfismo genético através do *variable number of tandem repeat* (VNTR). Neste último, certas seqüências de partes centrais do DNA são dispersas e repetem-se pareadamente em todo o genoma, e o número de repetições pareadas desta seqüência central é diferente entre os indivíduos. Estas repetições de seqüências centrais dentro de um *locus* são caracterizadas por extenso polimorfismo e por herança mendeliana autossômica. O VNTR tem vantagens sobre as técnicas que detectam cromossomos sexuais, pois pode ser usado para virtualmente todos os doadores-receptores como marcador de pega e na avaliação do grau de quimerismo em TMO (Baron et al., 2005).

Em um estudo da cinética de pega após TMO, com várias populações celulares periféricas, em 120 pacientes condicionados com fludarabina e ICT, e imunossupressão com ciclosporina e micofenolato, a maioria dos pacientes desenvolveu rapidamente altos graus de pega, porém mantiveram-se quimeras mistas por até seis meses, conforme ilustrado na Figura 1, reproduzida originalmente (Baron et al. 2005). A intensidade de quimioterapia realizada previamente foi diretamente relacionada com a ocorrência de quimerismo completo no dia +30 após o TMO (Valcarcel et al., 2003).

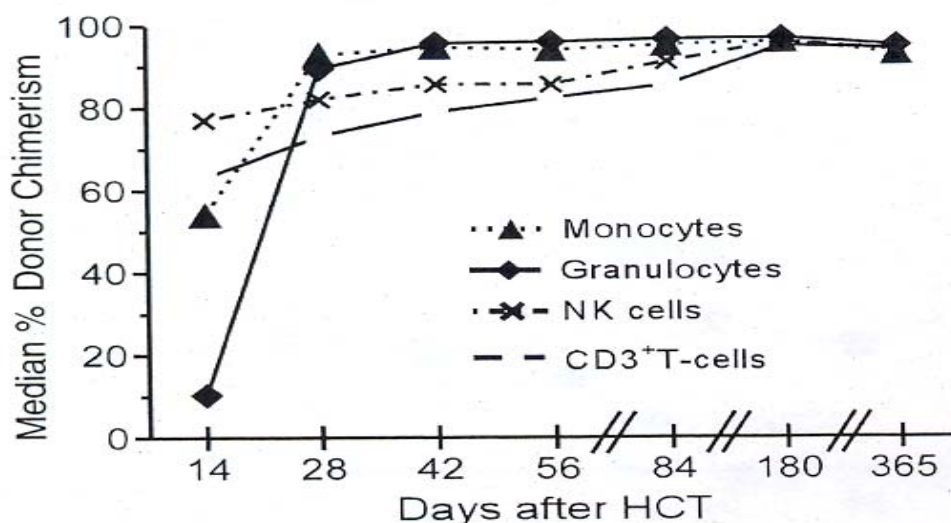


Figura 1- Cinética de pega após TMO com regime de condicionamento não-mieloablativo com Fludarabina 90 mg/m² e 2 Gy de ICT.

HCT=Hematopoietic cell transplantation; NK=natural killers Baron et al. 2005, Blood Reviews.

4- Doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) nos TMO com regime de condicionamento não-mieloablativo

DECH tem sido a principal limitação para uma maior aplicabilidade do TMO, e sua magnitude em humanos não foi completamente observada até o estabelecimento do enxerto no hospedeiro (“pega”) por um tempo maior. A DECH foi classificada em duas síndromes distintas, a DECH aguda que ocorre até três meses após o TMO e a DECH crônica, que pode ocorrer a partir daí (Lee et al., 2003). Mesmo com doadores HLA-idênticos e do uso de imunossupressão com metotrexate após o TMO, nos estudos iniciais aproximadamente metade dos pacientes desenvolviam DECH aguda, consistente com o que já havia sido observado previamente em estudos experimentais com cães (Przepiorka et al., 1995). Os critérios de classificação da DECH encontram-se no apêndice, item 1.

A imunobiologia da DECH aguda é complexa e pode ser conceituada como um processo de três etapas. Na primeira etapa, o regime de condicionamento com radio e/ou quimioterapia causa dano tecidual e ativação dos tecidos do hospedeiro, induzindo a secreção de citocinas inflamatórias como a interleucina 1 e o fator de necrose tumoral alfa. Como consequência, a expressão dos antígenos do complexo maior de histocompatibilidade e das moléculas de adesão está aumentada. Estes “sinais de perigo” expressos pelos tecidos lesados causam ativação de células dendríticas do hospedeiro, que são potentes apresentadoras de antígeno, e isto leva a um aumento do reconhecimento dos antígenos do hospedeiro pelos linfócitos T do doador. A ICT é particularmente importante porque induz apoptose seguida por lesão celular no endotélio do trato digestivo, permitindo que produtos microbianos imuno-estimulatórios como a lipopolissacaridase entrem na circulação sistêmica, levando à amplificação da DECH. Na segunda etapa temos a interação das células T do doador com as células apresentadoras de antígenos e subsequente proliferação, diferenciação e produção de citocinas por estas células. Citocinas como a interleucina 2 e o interferon gama causam expansão das células T, induzem resposta das células T citotóxicas e das células NK, além de iniciar fagocitose mononuclear adicional para produzir interferon alfa e interleucina 1. Estas citocinas inflamatórias por sua vez estimulam a produção de agentes quimiotáticos, recrutando então células efetoras para órgãos alvo. Na etapa 3, a função efetora dos fagócitos mononucleares são potencializadas por um sinal secundário proveniente da lipopolissacaridase que extravasa através da mucosa intestinal lesada na primeira etapa. Este mecanismo pode resultar na amplificação local da injúria tecidual e no aumento ainda maior na promoção da resposta inflamatória, a qual, junto com as células T citotóxicas e com as células NK levam à destruição tecidual do hospedeiro (Reddy & Ferrara, 2003).

Segundo algumas séries publicadas, quando se utiliza regime de condicionamento não-mieloablativo há diminuição na incidência da DECH aguda, há menor incidência de DECH aguda grau IV, e o aparecimento da DECH aguda é mais tardio, com retardo em dois meses quando comparado com TMO utilizando-se regime de condicionamento mieloablativo (Sandmaier et al., 2002; Junghanss et al., 2002; Flowers et al., 2003; Mielcarek et al., 2003; Mielcarek & Storb, 2003; Sorrow et al., 2004). Também, a DECH aguda pode ocorrer durante o estado de quimerismo misto, e

quimerismo de células T do doador maior que 90% no dia +28 pós-TMO é altamente preditivo da ocorrência de DECH aguda.

A imunobiologia da DECH crônica é menos compreendida, mas deve-se a uma recuperação aberrante do sistema imunológico, com diminuição da indução de tolerância no timo, e assim diminuição da deleção de células T auto-reativas (seleção negativa) por este órgão, permitindo a eclosão de células T contra moléculas da classe II do complexo maior de histocompatibilidade, comuns ao doador e ao receptor. A DECH crônica extensa ocorre em 50-70% dos pacientes adultos submetidos ao TMO, mesmo com doadores relacionados HLA-idênticos, e é a maior causa de mortalidade tardia relacionada ao procedimento.

Todas as séries publicadas não mostraram diferenças na incidência cumulativa da DECH crônica extensa em pacientes que receberam TMO após condicionamento convencional ou não-mieloablativo (Sandmaier et al., 2002; Junghanss et al., 2002; Flowers et al., 2003; Mielcarek et al., 2003; Mielcarek & Storb, 2003; Sorror et al., 2004).

5- O efeito enxerto-contramalignidade e a infusão de linfócitos do doador

O efeito imunológico do enxerto contra malignidade (ECM) foi primeiramente sugerido em 1956, a partir da observação de que ratos recebendo TMO singênico e injeção de células de leucemia congênitas, após irradiação corporal total, quase sempre morriam de leucemia, enquanto ratos recebendo TMO alogênico desenvolviam DECH, mas tinham uma menor incidência de morte por leucemia. Foi sugerido então que a "reação" das células do doador poderia erradicar as células malignas, fenômeno este que foi denominado "imunidade adotada" (Baron & Storb, 2004). Os primeiros relatos do efeito ECM em humanos vieram a partir de estudos mostrando menor incidência de recidiva de leucemia em pacientes que desenvolviam DECH aguda e/ou crônica, quando comparados com aqueles que não haviam tido DECH. O efeito ECM foi também sugerido por outros autores que observaram aumento do risco de recidiva em pacientes que recebiam enxertos depletados de células T, e em receptores de transplantes singênicos (Baron & Storb, 2004).

O conhecimento do efeito ECM levou à introdução da infusão de linfócitos do doador (ILD) para o tratamento de pacientes com doenças hematológicas malignas que apresentavam recidiva da doença após a realização do TMO (Kolb et al., 1995; Dazzi et al., 2000). Remissões completas puderam ser observadas após a ILD, especialmente em pacientes com LMC, onde a taxa de resposta completa variava de cerca de 70% nas recidivas citogenéticas a 20% nas recidivas em fase avançada da doença. A taxa de resposta completa descrita na leucemia mielóide aguda (LMA) foi de 20%, na síndrome mielodisplásica (SMD) de 28%, no mieloma múltiplo (MM) de 29%, e na leucemia linfóide aguda (LLA) de cerca de 10%. Há duas características específicas da LMC que explicam sua maior responsividade à ILD. Primeiramente a evolução lenta da LMC permitiria tempo suficiente para o desenvolvimento do efeito ECM, e também porque células dendríticas, as mais potentes células apresentadoras de antígenos, fazem parte do clone da LMC (Kolb et al., 2004).

A maior complicação da ILD é a DECH aguda, que ocorre em aproximadamente 60% dos pacientes, e cuja ocorrência está significativamente relacionada com a obtenção da remissão completa. O risco de DECH aumenta com o aumento do número de linfócitos do doador infundidos (Kolb et al., 2004). DECH crônica extensa também ocorre em aproximadamente 60% dos pacientes, e sua ocorrência também está fortemente relacionada com a obtenção da resposta completa. Foi possível reduzir o risco de DECH sem impedir o efeito ECM através do início da ILD com baixas doses, seguindo-se de um aumento progressivo do número de células CD 3⁺ infundidas em caso de não resposta (Dazzi et al., 2000). Pode ocorrer, no entanto, resposta completa mesmo sem a ocorrência de DECH, sugerindo que o efeito ECM pode ser dirigido para outros alvos que não estão envolvidos na fisiopatologia da DECH. Outra complicação importante da ILD é a aplasia de medula óssea que ocorre em até 20% dos pacientes. A aplasia resolve-se espontaneamente em metade dos casos, porém pode ser necessário o uso de G-CSF ou infusão de células progenitoras do doador (Baron & Storb, 2004).

Recentemente, taxas menores de recidiva foram descritas em homens portadores de LMC, LMA e LLA, que receberam enxerto de um doador do sexo feminino. Estas observações sugeriam que antígenos menores de histocompatibilidade codificados por genes localizados no cromossomo Y contribuíam para a seletividade do efeito ECM.

Há evidências sugerindo que diferentes tipos de células do doador, incluindo células NK, células T específicas contra antígenos do tumor ou associados ao tumor, e principalmente células T específicas para os antígenos do complexo menor de histocompatibilidade humana, presentes nas células hematopoiéticas normais e nas células neoplásicas, contribuem para o efeito ECM. (Randolph et al., 2004)

a.) O efeito ECM mediado pelas células NK:

As moléculas da classe I do complexo maior de histocompatibilidade humano, particularmente HLA-C, servem como ligantes para tipos diferentes de receptores de células NK inibitórias. As células NK têm um papel estabelecido na contenção de vírus e tumores que diminuem a expressão das moléculas da classe I do complexo maior de histocompatibilidade humano para escapar do reconhecimento pelas células CD 8⁺ T citotóxicas. (Riddell et al.,2003) Assim, em TMO entre indivíduos HLA idênticos, todas as células NK do doador vão expressar pelo menos um receptor inibitório específico da classe I do complexo maior de histocompatibilidade humano, e assim qualquer contribuição para a atividade do efeito ECM tem sido difícil de ser demonstrada (Riddell et al.,2003).

b.) Células T específicas contra proteínas associadas à malignidade:

Células T reconhecem peptídeos que são derivados das proteínas celulares e apresentam-se na superfície celular com as moléculas do complexo maior de histocompatibilidade humano. Estudos recentes sugerem que novas proteínas expressas nas células tumorais como resultado de translocações cromossômicas ou mutações, ou proteínas normais que são "super-expressas" como consequência de diferenciação

aberrante, são processadas em peptídeos e apresentadas na superfície celular para o reconhecimento pela célula T. Proteínas envolvidas na transformação celular, como as derivadas de mutações *ras* ou *bcr/abl*, trazem peptídeos únicos na região da sequência mutada ou sítio de fusão, respectivamente, e representam potencial alvo tumor-específico para imunoterapia. Há pouca evidência para a ativação das células T específicas para estas proteínas após TMO (Riddell et al., 2003).

c.) Células T contra os antígenos menores de histocompatibilidade (mHAg):

Os antígenos menores de histocompatibilidade (mHAg) consistem de peptídeos derivados de proteínas celulares que diferem entre o doador e o receptor devido ao polimorfismo no genoma, peptídeos estes ligados às moléculas do complexo maior de histocompatibilidade humana, e que são reconhecidos pelas células T do doador após o TMO. Mesmo em irmãos HLA-idênticos, o repertório de peptídeos ligados às moléculas do complexo maior de histocompatibilidade humana pode variar substancialmente devido ao polimorfismo de outros *loci*, levando à diferença na sequência das cadeias de aminoácidos das proteínas celulares. Estes peptídeos são reconhecidos como estranhos pelas células T do doador, e induzem resposta imunológica que contribuem para o estabelecimento da DECH, para o efeito ECM, ou para ambos. Células CD 8⁺ T citotóxicas reconhecem os mHAg apresentados pelas moléculas do HLA classe I e diretamente lisam as células-alvo via secreção de perforina/granzima, além de produzirem citocinas inflamatórias que podem ser tumorícidas, e que podem recrutar células efetoras adicionais. As células CD 4⁺ T-helper reconhecem mHAg apresentadas pelas moléculas do HLA classe II e lisam as células alvo via interação Fas/FasL, liberando as células apresentadoras de antígenos via interação CD 40/CD 40L, além de produzirem citocinas mediadoras da resposta imune (Kolb et al., 2004; Riddell et al., 2003).

Várias características da resposta das células T aos mHAg podem contribuir para sua eficácia anti-tumoral. Primeiramente, os mHAg são altamente imunogênicos, visto que as células T do doador levam à DECH e ao efeito ECM independentemente da

administração de drogas imunossupressoras para o bloqueio da aloreatividade. Depois, temos que a maioria dos clones de células T específicas para os mHAgS que têm sido isolados após um TMO são altamente ávidos, capazes de reconhecer mesmo as células tumorais que expressam menores quantidades dos antígenos do complexo maior de histocompatibilidade humana. Ainda, a resposta das células T aos mHAgS envolve tanto células $CD4^+$ quanto $CD8^+$. Apesar das células neoplásicas não poderem ser alvos diretos das células $CD4^+$ se elas não expressarem moléculas da classe II do complexo maior de histocompatibilidade humano, as células $CD4^+$ podem mesmo assim participar do efeito ECM promovendo aumento e sustentação das células $CD8^+$. Finalmente, a resposta ao mHAgS pode ser dirigida à múltiplos determinantes (Kolb et al., 2004; Riddell et al., 2003).

6- Aplicações terapêuticas do TMO com regime de condicionamento não-mieloablativo

Para explorar o efeito imunológico do TMO alogênico, e aumentar a segurança do procedimento, três estratégias têm sido desenvolvidas, que são o uso de regimes de condicionamento com intensidade reduzida, indução de tolerância imunológica entre o doador e o receptor através da criação de um estado de quimerismo misto linfo-hematopoietico, e otimização do efeito ECM através do aumento da rapidez e totalização da recuperação imunológica das células do doador no hospedeiro. A desvantagem de uma possível perda do efeito ECM devido à indução de tolerância imunológica doador-receptor pode ser debelada através da infusão adicional de células imunocompetentes do doador (ILD) para promover o efeito ECM. Estas estratégias são coletivamente agrupadas sob o termo “transplante não-mieloablativo” (Barrett, 2000).

Embora o conceito seja relativamente novo, está claro que o transplante não-mieloablativo tem revolucionado o conceito de TMO, e aumentado o número de pacientes que podem ser beneficiados com esta modalidade terapêutica (Sykes et al., 1999). O TMO não-mieloablativo baseia-se mais no efeito ECM do que no efeito das altas doses de quimio e/ou radioterapia. Os regimes de condicionamento nos transplante

não-mieloablativos permitem a persistência das células apresentadoras de antígenos do receptor, aumentando a apresentação dos mHAg do receptor para as células T do doador, induzindo assim o efeito ECM (McSweeney et al., 2001).

Diferentes malignidades parecem ter diferentes sensibilidades ao efeito ECM das células T do doador. LMC e doenças linfoproliferativas indolentes parecem ser as mais sensíveis; MM, LMA, doenças linfoproliferativas de grau intermediário de malignidade e alguns tumores sólidos como carcinoma de células renais ou câncer de mama têm uma sensibilidade intermediária, enquanto que a LLA e os linfomas de alto grau de malignidade parecem ser relativamente resistentes ao efeito ECM (Dreger, 2002; Hogan & Storb, 2003). Alguns mecanismos podem permitir o escape das células tumorais ao efeito ECM, como a falta de expressão de proteínas específicas do tumor, ou principalmente a falta de expressão de antígenos menores de histocompatibilidade pelas células tumorais, dificultando o reconhecimento e a destruição destas células pelas células T do doador.

Teoricamente, o transplante não-mieloablativo pode ser uma “base imunológica” para futuras intervenções coordenadas, dirigidas contra as células malignas, tais como infusão de linfócitos T citotóxicos contra antígenos menores de histocompatibilidade, células dendríticas, ou vacinação tumoral (Maris & Storb, 2003).

Estudos experimentais mostram que o transplante não-mieloablativo poderia ser usado conjuntamente com transplante de órgãos sólidos, estabelecendo tolerância imunológica ao órgão transplantado, evitando assim a necessidade do uso de imunossupressores a vida toda (Slavin et al., 1998).

Considerando o que já foi publicado sobre os resultados terapêuticos dos transplantes não mieloablativos, temos que:

- i.) Para linfoma de Hodgkin (LH) há poucos dados sobre a utilização do transplante não-mieloablativo. Em uma série de 49 pacientes Peggs et al., 2004, relataram resposta duradoura após o transplante, e a resposta terapêutica após ILD sugere ação do efeito ECM no LH. Resultados muito semelhantes foram observados em uma série de 94 pacientes por Schimitz et al., 2004. Nas duas séries, a quimiossensibilidade foi o principal fator de prognóstico favorável.

- ii.)** Para os Linfomas não-Hodgkin (LNH), há forte evidência da sensibilidade ao efeito ECM nos linfomas foliculares (Marks et al., 2002), e parece haver forte evidência do efeito ECM nos linfomas das células do manto (Khoury et al., 2001; Sweetenham et al., 2001; Khoury et al., 2003; Maloney, 2003) Na Leucemia Linfocítica Crônica (LLC), resposta duradoura após ILD sugere sensibilidade desta doença ao efeito ECM, porém o efeito ECM praticamente inexistente em pacientes com crescimento tumoral rápido (Dreger et al., 2002). Não há dados conclusivos sobre sensibilidade ao efeito ECM nos linfomas B de grandes células (Grigg & Ritchie, 2004), e muito provavelmente os linfomas linfoblástico e Burkitt não sejam sensíveis ao efeito ECM. Para LLA, o transplante não-mieloablativo pode ter algum papel quando feito precocemente, mas não tem efeito quando realizado em doença avançada ou em progressão (Arnold et al., 2002). Para os linfomas cutâneos de células T, alguns investigadores sugerem que haja sensibilidade ao efeito ECM (Guitart et al., 2002; Soligo et al., 2003; Fijnheer et al., 2003).
- iii.)** Para LMA, Ruiz et al., 2004, mostraram resultados promissores para pacientes em remissão e com doador HLA-idêntico. Massenkeil et al., 2003, também mostraram bons resultados com transplante não-mieloablativo na LMA em progressão.
- iv.)** Para MM há forte evidência de sensibilidade ao efeito GVM (Maloney et al., 2003; Kroger et al., 2004; Peggs and Mackinnon, 2004; Nakashima et al., 2005).

2 – OBJETIVOS

1. Testar a hipótese de que pode ser estabelecido um estado de quimerismo misto linfo-hematopoiético utilizando-se regime de condicionamento não-mieloablativo (Nabl) pré-transplante de células progenitoras periféricas (CPP), com posterior conversão em quimerismo completo de células do doador, em pacientes com neoplasias hematológicas malignas.
2. Avaliação do grau de toxicidade e da morbi-mortalidade do transplante de CPP com condicionamento não-mieloablativo (Nabl-CPP), assim como seu potencial terapêutico para pacientes portadores de neoplasias hematológicas malignas.
3. Avaliação conjunta dos resultados de transplantes de CPP utilizando-se regime de condicionamento pré-transplante mieloablativo (Abl-CPP) e não-mieloablativo (Nabl-CPP).

3 – PACIENTES E MÉTODOS

Entre julho de 2001 e outubro de 2005 foram realizados na Unidade de Transplante de Medula Óssea (TMO) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, 26 transplantes de células progenitoras periféricas (CPP) após a utilização de um regime de condicionamento pré-transplante não-mieloablativo (Nabl-CPP), para pacientes portadores de neoplasias hematológicas malignas.

Neste mesmo período, e na mesma unidade, foram realizados 47 transplantes de CPP após a utilização de condicionamento pré-transplante convencional, mieloablativo (Abl-CPP), para pacientes portadores de neoplasias hematológicas malignas.

O objetivo primário deste estudo é a avaliação do Nabl-CPP como nova modalidade terapêutica de TMO em nossa unidade. O grupo que recebeu Abl-CPP será citado para ilustrar as diferenças entre os dois tipos de condicionamento e a toxicidade intrínseca de cada regime, porém sem qualquer finalidade comparativa, visto que os dois grupos não são comparáveis entre si, e este é um estudo de fase II, não-randômico.

Parte 1- Transplante não-mieloablativo (Nabl-CPP)

1- Pacientes candidatos a Nabl-CPP

As indicações para inclusão de pacientes candidatos ao Nabl-CPP foram divididas em quatro grupos:

- a) No primeiro grupo eram incluídos pacientes com mais de 55 e menos de 66 anos, que fossem portadores de leucemia mielóide crônica (LMC) com presença do cromossomo Philadelphia ou do rearranjo bcl/abr em primeira fase crônica, em fase acelerada ou em segunda fase crônica; portadores de leucemias mielóides agudas (LMA) em primeira remissão clínica, em primeira recidiva, ou em segunda remissão clínica; pacientes com leucemias linfóides agudas (LLA) em segunda remissão clínica ou em primeira remissão clínica nos portadores de doenças consideradas de alto risco; por último, pacientes com mielodisplasias (SMD) que tivessem indicação de TMO.

- b) O segundo grupo de indicações consistia de pacientes com menos de 55 anos com as mesmas doenças contempladas no primeiro grupo, porém com disfunções orgânicas (renal, hepática, cardíaca, pulmonar), ou baixa *performance status*, que os tornavam de alto risco de mortalidade se fossem submetidos a um TMO convencional, com regime de condicionamento mieloablativo.
- c) No terceiro grupo eram incluídos indivíduos com menos de 66 anos portadores de linfoma de Hodgkin ou linfoma não-Hodgkin (LH e LNH, respectivamente), que não apresentassem remissão completa após o transplante autólogo de CPP (A-CPP) ou que tivessem recidiva tumoral após a realização do A-CPP.
- d) O quarto grupo de indicações incluía os pacientes com menos de 66 anos portadores de mieloma múltiplo (MM) que já tivessem sido submetidos ao A-CPP.

2- Avaliação clínica e laboratorial dos pacientes e dos doadores de CPP encaminhados ao ambulatório de pré-TMO, e critérios de inelegibilidade para a realização do NAbI-CPP

Os pacientes que pertencessem a quaisquer dos grupos de indicações citados e que tivessem um doador relacionado com HLA genotipicamente idêntico (excluindo-se os gêmeos idênticos), eram atendidos inicialmente no ambulatório de pré-TMO por um médico da equipe.

Na primeira consulta o médico explicava ao paciente, ao doador e aos outros membros da família, de forma clara, sobre o NAbI-CPP, os procedimentos para sua realização, os riscos e as complicações possíveis, tanto imediatas quanto tardias desta modalidade terapêutica. Era também esclarecido que o NAbI-CPP, por ser uma modalidade de tratamento relativamente recente, ainda não apresentava resultados terapêuticos completamente estabelecidos.

O doador era informado sobre a administração da filgrastina (G-CSF) e sobre o procedimento de coleta de CPP, para a qual deveria ter acesso venoso periférico adequado, ou concordar com a colocação de cateter venoso central na veia femoral profunda ou subclávia para esta finalidade.

Tanto o doador como o paciente deveriam consentir com os procedimentos para a realização do NAbl-CPP através da assinatura de um “termo de consentimento pós-informado” . (Anexo, apêndice 2).

A avaliação clínica e laboratorial dos pacientes candidatos à realização do NAbl-CPP, assim como de seus respectivos doadores, seguiram a normatização do ambulatório pré-TMO. Para os pacientes foi solicitada a realização de exames laboratoriais como hemograma, ferritina, tempo de protrombina (TPAP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), bioquímica sanguínea para avaliação das funções renal e hepática, exames imuno-hematológicos, sorologias para hepatite B, hepatite C, HIV, doença de Chagas, citomegalovírus, sífilis, toxoplasmose e HTLV I; exames de imagem, como RX de tórax, ultra-sonografia abdominal e ecocardiograma, além de prova de função pulmonar e endoscopia digestiva alta. Os pacientes foram submetidos às avaliações odontológica, psiquiátrica e hemoterápica, esta última juntamente com seus doadores. Os doadores foram submetidos aos mesmos exames laboratoriais solicitados aos pacientes, além de RX de tórax e eletrocardiograma.

Foram considerados inelegíveis para a realização do NAbl-CPP pacientes soropositivos para o HIV, e portadores de disfunção ou disfunções orgânicas severas. Consideramos inelegíveis pacientes com fração de ejeção cardíaca menor que 40%; indivíduos com defeitos graves de função pulmonar (classificados como leve, moderado ou grave) ou aqueles recebendo oxigênio-terapia contínua; pacientes com *clearance* de creatinina menor que 40 ml/min, aqueles com níveis séricos da alanina-amino-transferase (ALT), da aspartato-amino-transferase (AST) e/ou da bilirrubina direta aumentados mais que três vezes, considerando-se o limite superior da normalidade para cada teste, a menos que se provasse que estas alterações estivessem relacionadas à malignidade. Os pacientes com Índice de Karnofsky (Anexo – apêndice 3) menor que 40, e aqueles com doença rapidamente progressiva também foram considerados inelegíveis para a realização do NAbl-CPP.

3- Regime de Condicionamento pré- NAbI-CPP, coleta e infusão de CPP

O regime de condicionamento utilizado consistia de irradiação corporal total e fludarabina, e era iniciado após a internação hospitalar e a colocação de catéter venoso central (Hickmann).

A fludarabina era administrada via endovenosa, em infusão de 1 hora, na dose de 30 mg/m² uma vez por dia, nos dias -4, -3 e -2; a irradiação corporal total com 2 Gy, 6 a 7 cGy/min, fonte 60 Co *dual* era realizada no dia -1. No dia zero, ou dia do transplante, o paciente recebia CPP não-modificadas logo após a coleta, através do catéter de Hickmann. A infusão era feita em aproximadamente 2 horas, sob supervisão médica, e com os cuidados universalmente utilizados nas transfusões de hemocomponentes.

O procedimento de leuco-aférese era realizado na manhã do dia zero, após o doador ter recebido cinco dias consecutivos (dias -4 ao dia zero) de G-CSF, na dose 10 ug/Kg. A aférese foi realizada por biólogos assessorados por médicos do Serviço de Hemoterapia do Hemocentro da UNICAMP, seguindo as recomendações de operação do fabricante do equipamento utilizado para este tipo de procedimento. As sessões eram realizadas até obter-se um número-alvo de células CD 34⁺ de 5 x 10⁶/kg de peso do paciente (mínimo de 2 x 10⁶/kg de células CD 34⁺). Do material coletado através da leuco-aférese, uma alíquota era enviada para a realização de hemocultura no Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP, para controle de possível contaminação. Também era enviada amostra para contagem de células e de plaquetas, realizadas por processador automático ABBOTT – Cell-Dyn^R, modelo 1600 (Unipath, Mountain View CA-USA), e para quantificação de células CD 34⁺, CD 3⁺, CD 4⁺ e CD 8⁺ por citometria de fluxo, em equipamento FACScalibur (Becton & Dickinson), seguindo padronização do Laboratório de Marcadores Celulares do Hemocentro da UNICAMP.

4- Imunossupressão

A imunossupressão foi realizada com ciclosporina-A (CSPA) e micofenolato-mofetil (MMF) para todos os pacientes.

A CSPA foi utilizada na dose de 12,5 mg/kg/dia, via oral, dividida em duas tomadas, do dia -1 ao dia +35, e a partir de então iniciado redução gradual da dose, 20% a cada 5 dias, até a interrupção no dia + 56, desde que o paciente não estivesse com manifestações da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH). O MMF foi utilizado na dose de 30 mg/kg/dia, via oral, da noite do dia zero até o dia +27, quando a droga era suspensa sem esquema de redução de dose.

Durante o tratamento com CSPA, a pressão arterial, testes bioquímicos de função renal e de dosagem de eletrólitos foram monitorizados três vezes por semana enquanto o paciente encontrava-se internado, e depois da alta hospitalar a monitorização passava a ser semanal, até a suspensão completa da droga. Os níveis de CSPA no sangue total foram avaliados no dia +3 inicialmente, e depois a cada 7 dias. As doses da CSPA eram ajustadas para mais ou para menos, objetivando-se manter níveis entre 500 e 700 ng/ml (ABBOTT TDX, ABBOTT Park, IL). A dose de CSPA era reduzida em 50% caso a dosagem da creatinina sérica atingisse duas vezes o valor máximo da normalidade, e seria suspensa se a dosagem atingisse três vezes o valor máximo da normalidade.

Com relação à dose do MMF, os ajustes de dose não eram feitos para toxicidade hematológica, a menos que ocorresse neutropenia grave (contagem de neutrófilos menor que 100 células por ml por mais de 5 dias), ou se houvesse persistência de neutropenia após o dia +21. Os casos de toxicidade gastro-intestinal, como vômitos persistentes ou diarreia, se relacionados ao MMF, indicariam redução de dose. Inicialmente seria feita uma redução de 20% e, se não houvesse melhora, uma nova redução adicional de 20% deveria ser realizada. A Figura 2 ilustra o regime de condicionamento pré-NAbI-CPP e o esquema de imunossupressão utilizado pós- transplante.

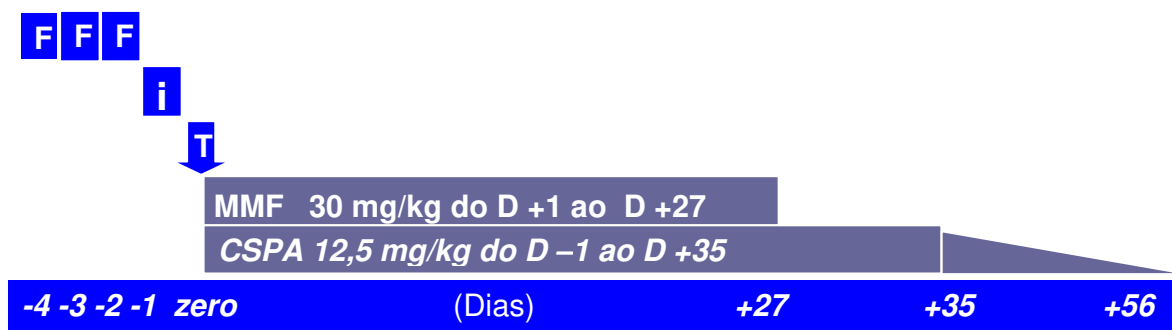


Figura 2- Regime de condicionamento pré-NAbI-CPP e esquema de imunossupressão pós-transplante (F = fludarabina, 30 mg/m²;

i = irradiação corporal total com 200 cGy, T = transplante de CPP;

MMF = micofenolato-mofetil; CSPA = ciclosporina A).

5- Profilaxia anti-infecciosa e suporte transfusional

A profilaxia contra infecção pelo *pneumocystis jirovesi* foi feita com sulfametaxazol e trimetoprim, 800 e 160 mg respectivamente, administrados por via oral a cada 12 horas, 2 vezes por semana, até seis meses após a retirada da imunossupressão, ou após 120 dias da última infusão de linfócitos do doador (ILD). Para o *herpes virus simplex* foi usado acyclovir, 400 mg por via oral a cada 12 horas, diariamente, até o término da imunossupressão, e para a *candida sp* foi usado fluconazol, 100 mg por via oral a cada 12 horas, diariamente, até o término da imunossupressão.

O monitoramento de infecção pelo citomegalovírus (CMV) era iniciado na internação do paciente para a realização do transplante, e continuada até três meses após o término da imunossupressão, ou até 80 dias após a última ILD. Todos os pacientes com sorologia positiva para CMV, e pacientes com sorologia negativa que receberam enxerto de doador com sorologia positiva para CMV, receberam profilaxia contra este agente. A droga utilizada foi o ganciclovir na dose de 5 mg/kg, via infusão endovenosa, 3 vezes por semana, até o dia +75. O início do ganciclovir somente seria feito se a contagem de granulócitos fosse maior que 750 células/ml de sangue, por pelo menos 2 dias consecutivos.

Transfusão de plaquetas era realizada com produto irradiado obtido por aférese, quando a contagem plaquetária estivesse abaixo de $20 \times 10^3/\text{ml}$, ou quando houvesse sinais de sangramento com contagem inferior a $50 \times 10^3/\text{ml}$.

Transfusão de concentrado de hemácias era realizada com produto irradiado, quando a hemoglobina estivesse abaixo de 8 mg/ml, ou quando os pacientes estivessem sintomáticos devido à baixa quantidade de hemoglobina.

6- Recuperação da hematopoiese

Dia de recuperação dos neutrófilos foi definido como o primeiro de 3 dias consecutivos no qual a contagem absoluta de neutrófilos estivesse maior que $0,5 \times 10^3/\text{ml}$. Dia de recuperação de plaquetas foi definido como o primeiro de 7 dias consecutivos de contagem plaquetária acima de $20 \times 10^3/\text{ml}$ sem suporte transfusional.

7- Monitorização do quimerismo linfo-hematopoiético

Nos pacientes e doadores HLA-idênticos, a análise dos minissatélites, através do número variável de repetições pareadas (VNTR) utilizados como marcadores, foi realizada nos leucócitos do sangue periférico dos pacientes e seus doadores previamente ao NAbI-CPP. Com a técnica de PCR para análise da sequência dos minissatélites com até 5 *primers* (33.6, YNZ-22, D1S80, ApoB, PAH) foram obtidas seqüências específicas do doador e do receptor.

Os métodos para análise do quimerismo linfo-hematopoiético doador-receptor também incluía a citogenética convencional quando doador e receptor fossem de sexo diferente, para detecção dos cromossomos X e Y.

A análise do quimerismo doador-receptor foi feita nos dias 28, 56, 84, 112 e 180 após o NAbI-CPP, e posteriormente a cada 180 dias. "Quimerismo misto" foi definido como a presença concomitante de células do doador e do receptor detectadas no sangue periférico do receptor.

8- Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH)

Os pacientes com DECH aguda graus II, III e IV (apêndice, item 1) eram tratados com predinisona via oral ou metil-prednisolona intravenosa, ambas na dose de 1 a 2 mg/kg/dia, reduzindo-se a dose assim que houvesse resposta terapêutica. Os casos refratários eram tratados com globulina anti-linfocítica ou anti-interleucina 2.

Os pacientes com DECH crônica extensa eram tratados com CSPA e predinisona.

9- Infusão de linfócitos do doador (ILD)

As ILD foram programadas para serem utilizadas em um esquema de escalonamento de dose, visando-se a minimização dos principais riscos da ILD que são a aplasia de medula óssea e a DECH aguda.

Cada paciente poderia receber até quatro infusões intravenosas de células T do doador, com aumentos progressivos de $\frac{1}{2}$ log de dose, nos intervalos e indicações especificados na Tabela 1.

Os doadores foram submetidos à leucaférese para coleta de células mononucleares do sangue periférico não mobilizadas no dia da primeira ILD. O produto era submetido à imunofenotipagem (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺), sendo o alvo de $3,5 \times 10^8$ células CD3⁺/kg de peso do receptor.

A primeira ILD era realizada no mesmo dia da coleta, com a infusão de 1×10^7 células CD3⁺/kg de peso do receptor. As células residuais eram criopreservadas para as próximas duas infusões, em alíquotas contendo $3,2 \times 10^7$ e 1×10^8 células CD3⁺/kg de peso do receptor, respectivamente. Aféreses adicionais só seriam realizadas após a confirmação da necessidade de doses maiores de células T.

Tabela 1 – Indicações da infusão de linfócitos do doador (ILD) após o NAbI-CPP
(**PD** = progressão de doença; **RP** = remissão parcial; **DECH** = doença do enxerto contra o hospedeiro; **QM** = quimerismo misto).

ILD	Dia após o NAbI-CPP	Quantidade de células
1 ^a .	65 Se QM, PD ou RP, sem sinais de DECH	1 x 10 ⁷ células CD3 ⁺ /kg (paciente)
2 ^a .	Se QM ou PD e sem sinais de DECH, 28 dias após a 1 ^a . ILD ou Se RP e sem sinais de DECH, 65 dias após a 1 ^a . ILD	3,2 x 10 ⁷ células CD3 ⁺ /kg
3 ^a .	Se QM ou PD e sem sinais de DECH, 28 dias após a 2 ^a . ILD ou Se RP e sem sinais de DECH, 65 dias após a 2 ^a . ILD	1 x 10 ⁸ células CD3 ⁺ /kg
4 ^a .	Se QM ou PD e sem sinais de DECH, 28 dias após a 3 ^a . ILD ou Se RP e sem sinais de DECH, 65 dias após a 3 ^a . ILD	3,2 x 10 ⁸ células CD3 ⁺ /kg

10- Avaliação da resposta terapêutica

Iniciando-se aproximadamente 60 dias após o NAbI-CPP, todos os pacientes iniciavam procedimentos de avaliação da resposta terapêutica, que incluía tomografias computadorizadas do tórax, abdome e pelve, aspirado e biópsia de medula óssea, e quando necessário eletroforese de proteínas no sangue e na urina. Os pacientes que não apresentavam evidência de doença baseado nos procedimentos realizados eram considerados em remissão completa (RC); os que apresentavam mais de 90% de redução da doença mensurável eram considerados em muito boa remissão parcial (MBRP); os que apresentavam mais de 50% de redução tumoral eram considerados em remissão parcial (RP); os que apresentavam menos de 50% de redução tumoral eram considerados não responsivos (NR), e os que apresentavam crescimento tumoral eram considerados em progressão de doença (PD). Os pacientes portadores de mieloma múltiplo eram considerados em remissão completa apenas se apresentassem imunofixação negativa no sangue e urina.

11- Análise estatística

Este estudo é um estudo de fase II, prospectivo, não sendo, portanto, randomizado, e nem exigido o cálculo do tamanho amostral, devendo-se apenas respeitar o limite de 20 a 30 pacientes para a análise final.

No primeiro momento procedeu-se a descrição dos dados e resultados obtidos. A análise estatística foi realizada utilizando-se o software SSPS (Statistical Package for Social Sciences) versão: 10.0. O valor de p deveria ser menor que 0,05 para ser considerado estatisticamente significativo. Os cálculos para probabilidade de sobrevida global (**SG**), de sobrevida livre de progressão (**SLP**) e do tempo até a progressão (**TPP**) foram feitos a partir da data do NAbI-CPP e utilizando-se a estimativa de Kaplan-Meier. No cálculo da probabilidade de mortalidade relacionada ao transplante (**MRT**) foram utilizadas as estimativas de incidência cumulativa. **SG** foi calculada da data do transplante até a data da morte por qualquer causa, e os pacientes vivos foram censurados na data da última avaliação. **SLP** foi calculada da data do transplante até a data da evidência de progressão, enquanto que a curva de **MRT** foi calculada da data do transplante até a data da morte relacionada ao procedimento, sendo que os pacientes que morreram devido à progressão de doença ou que se encontravam vivos foram censurados na curva de **MRT** na data do último seguimento. **TPP** foi calculada da data do NAbI-CPP até a data da evidência da progressão. As definições de **SLP** e **TPP** são as mesmas, a diferença considerada foi o evento: para **SLP** o evento é a progressão e o óbito, enquanto para **TPP** só se considera a progressão.

12- Aspectos éticos

O protocolo de NAbI-CPP foi aprovado pelo Comitê Institucional de Ética em Pesquisa. Com relação à segurança do tratamento imunossupressor e o estabelecimento do quimerismo misto, os pacientes foram monitorados, sobretudo, com vistas ao aparecimento da DECH, à mielossupressão e à ocorrência de infecções. Quanto à ILD, são desconhecidas outras complicações além da DECH e da aplasia de medula óssea, mas devido à idade mais avançada dos pacientes que participaram deste protocolo, as complicações da ILD

poderiam ser mais acentuadas do que as usualmente encontradas. Assim, os pacientes foram rigorosamente monitorados em relação às toxicidades não esperadas para receberem, prontamente, tratamento específico.

Parte 2- Transplante de Células Progenitoras Periféricas (CPP) com regime de condicionamento mieloablativo (Abl-CPP)

1- Pacientes candidatos ao Transplante de CPP com regime de condicionamento convencional ou mieloablativo (Abl-CPP)

Esta modalidade de tratamento foi oferecida apenas para pacientes com menos de 56 anos portadores de neoplasias hematológicas consideradas avançadas. As indicações incluíam pacientes com LMC em fase crônica com mais de 1 ano de diagnóstico, em segunda fase crônica ou em fase acelerada da doença; pacientes com LMA em segunda ou terceira RC ou em primeira recidiva; todos os pacientes com LLA; nos portadores de mielodisplasias classificadas como anemia refratária com excesso de blastos (AREB) ou anemia refratária com excesso de blastos em transformação (AREB-t).

2- Avaliação clínica e laboratorial dos pacientes e doadores pré-Abl-CPP, e critérios de inelegibilidade

Os pacientes portadores de quaisquer das indicações citadas acima, e que tivessem um doador relacionado com HLA genotipicamente idêntico eram atendidos inicialmente no ambulatório pré-TMO, por um médico da equipe do serviço de TMO, seguindo os mesmos procedimentos tomados no pré-NAbl-CPP.

Eram considerados inelegíveis pacientes com fração de ejeção cardíaca menor que 45%; indivíduos com defeitos moderados da função pulmonar (classificados como leve, moderado ou grave); pacientes com *clearance* de creatinina menor que 50 ml/min; indivíduos com níveis séricos da alanina-amino-transferase (ALT), da aspartato-amino-transferase (AST) e/ou da bilirrubina direta aumentados mais que três

vezes, considerando-se o limite superior da normalidade para cada teste, a menos que se provasse que estas alterações estivessem relacionadas à malignidade. Os pacientes com Índice de Karnofsky (anexo, apêndice 3) menor que 50, soropositivos para o HIV e que estivessem gestantes eram considerados inelegíveis para a realização do Abl-CPP.

3- Regime de Condicionamento pré- Abl-CPP, coleta e infusão de CPP

O regime de condicionamento utilizado consistia ciclosfosfamida, 120 mg/kg, com bussulfan 16 mg/kg ou com irradiação corporal total com 12 Gy hiperfracionada, e era iniciado após internação hospitalar e implantação de catéter venoso central (Hickmann).

Do dia -7 ao dia -4 os pacientes recebiam bussulfan, 4 mg/kg/dia ou irradiação corporal total, 3 Gy por dia, e nos dias -3 e -2, ciclofosfamida, 60 mg/kg/dia via endovenosa. Os pacientes com LLA recebiam juntamente com a ciclofosfamida, 20 mg/kg/dia de etoposide, por via endovenosa. No dia zero, ou dia do transplante, os pacientes recebiam CPP não-modificadas logo após a coleta, seguindo o mesmo procedimento descrito para o NAbl-CPP.

A execução do procedimento de leuco-aférese seguia o mesmo protocolo descrito para o NAbl-CPP.

4- Imunossupressão

A imunossupressão foi realizada com CSPA e metotrexato (MTX) para todos os pacientes.

A CSPA foi utilizada inicialmente na dose de 12,5 mg/kg/dia, via oral, dividida em duas tomadas, do dia -1 ao dia +50 e a partir de então iniciada a redução gradual da dose, 5% a cada 7 dias, até a interrupção no dia + 180, desde que o paciente não estivesse com manifestações de DECH. O MTX foi utilizado via endovenosa na dose de 15 mg/m², no dia +1, e 10 mg/m², nos dias +3, +6 e +11, sempre seguido da infusão de ácido folínico. Os cuidados durante o tratamento com CSPA foram os mesmos descritos para o NAbl-CPP.

Na Tabela 2 encontramos os regimes de condicionamento pré-transplante e os esquemas de imunossupressão pós-transplante utilizados no Abl-CPP e no NAbl-CPP.

Tabela 2 – Regimes de condicionamento pré-transplante e esquemas de imunossupressão pós-transplante nos NAbl-CPP e Abl-CPP.

(**ICT** = irradiação corporal total; **CSPA** = ciclosporina; **MTX** = metotrexato; **MMF** = micofenolato-mofetil).

	Condicionamento pré-transplante		Imunossupressão pós-transplante		
	ICT	Drogas	CSPA	MTX	MMF
NAbl-CPP	2 Gy	Fludarabina	56 dias	0	27 dias
Abl-CPP	12 Gy	Ciclofosfamida	180 dias	4 doses	0
	0	Ciclofosfamida e Bussulfan			

5- Profilaxia anti-infecciosa e suporte transfusional

A profilaxia anti-infecciosa e o suporte transfusional seguiram os mesmos procedimentos descritos para o NAbl-CPP.

6- Pega do enxerto

O dia de pega dos neutrófilos foi definido como o primeiro de 3 dias consecutivos nos quais a contagem absoluta de neutrófilos estivesse maior que $0,5 \times 10^3/\text{ml}$. O dia de pega de plaquetas foi definido como o primeiro de 7 dias consecutivos com contagem plaquetária acima de $20 \times 10^3/\text{ml}$ sem suporte transfusional.

Falência do enxerto foi definida como número de neutrófilos inferior a $0,5 \times 10^3/\text{ml}$ no dia +28, ou se ocorresse queda do número de neutrófilos abaixo de $0,5 \times 10^3/\text{ml}$, mantido por pelo menos 7 dias, após já ter havido critério de pega previamente.

7- Doença do enxerto contro o hospedeiro (DECH)

Os critérios para classificação da DECH aguda e da DECH crônica, assim como os protocolos de tratamento são os mesmos utilizados no NAbI-CPP. (apêndice, item 1).

8- Avaliação da resposta terapêutica

Iniciando-se aproximadamente 60 dias após o Abl-CPP, todos os pacientes iniciavam procedimentos de avaliação de resposta terapêutica, que incluía mielograma, biópsia de medula óssea, e quando necessária análise do cariótipo.

9- Análise estatística conjunta dos resultados do NAbI-CPP e do Abl-CPP

A análise estatística conjunta dos resultados do NAbI-CPP e do Abl-CPP não teve por finalidade cotejar os grupos, que são bastante distintos para serem comparados. Esta análise teve por objetivo ilustrar, sobretudo, a toxicidade do NAbI-CPP nos pacientes submetidos a este procedimento. As diferenças nos resultados dos grupos foram analisadas utilizando-se os testes Chi-quadrado ou Fisher, e o teste de Mann-Whitney, quando indicados. Sobrevida global, mortalidade relacionada ao transplante, sobrevida livre de progressão e tempo para progressão seguem as definições citadas na parte 1 (NAbI-CPP).

4 – RESULTADOS

Todos os dados descritos encontram-se nos itens 4 e 5 do apêndice.

1- Tempo de seguimento dos pacientes submetidos aos transplantes com CPP, NAbI-CPP e Abl-CPP

Os pacientes submetidos ao NAbI-CPP tiveram globalmente um seguimento mediano de 436 dias (3-1397 dias). O seguimento mediano dos pacientes vivos ao término deste estudo foi de 640 dias (135-1397 dias).

Os pacientes submetidos ao Abl-CPP tiveram globalmente um seguimento mediano de 105 dias (2-1442 dias). O seguimento mediano dos pacientes vivos ao término deste estudo foi de 730 dias (63-1442 dias).

2- Frequência observada de indivíduos segundo sexo, idade, doença e situação da doença

Dos 26 pacientes submetidos ao NAbI-CPP, 22 (84,6%) eram do sexo masculino e 4 (15,4%) do sexo feminino. A idade mediana destes indivíduos foi de 47 anos, variando de 20 a 63.

Na distribuição por doença temos dois indivíduos pertencentes ao grupo 2 de indicações (7,6%) , sendo 1 deles com LMA em primeira remissão clínica e portador de insuficiência renal crônica, e 1 com LMC em segunda fase acelerada, com índice de Karnofsky de 40); 10 pacientes pertencentes ao grupo 3 (38,4%), sendo 4 deles com LH e 6 com LNH, todos com doença recidivada após terem sido submetidos ao A-CPP, e finalmente 14 indivíduos pertencentes ao grupo 4 de indicações (54%), ou seja, pacientes com MM, todos previamente submetidos ao A-CPP. Entre os 14 pacientes com MM, 2 encontravam-se em RP e 12 em PD. A Figura 3-A ilustra a distribuição por doença dos pacientes submetidos ao NAbI-CPP.

A distribuição dos pacientes por idade, considerando-se a doença foi a seguinte: com LMA, 1 paciente com 43 anos; com LMC, 1 paciente com 27 anos; os portadores de LH tinham idade mediana de 35, variando de 28 a 36 anos; os pacientes com LNH tinham idade mediana de 50, variando de 20 a 54 anos, e nos portadores de MM a idade mediana foi de 50 anos, com variação de 37 a 63 anos.

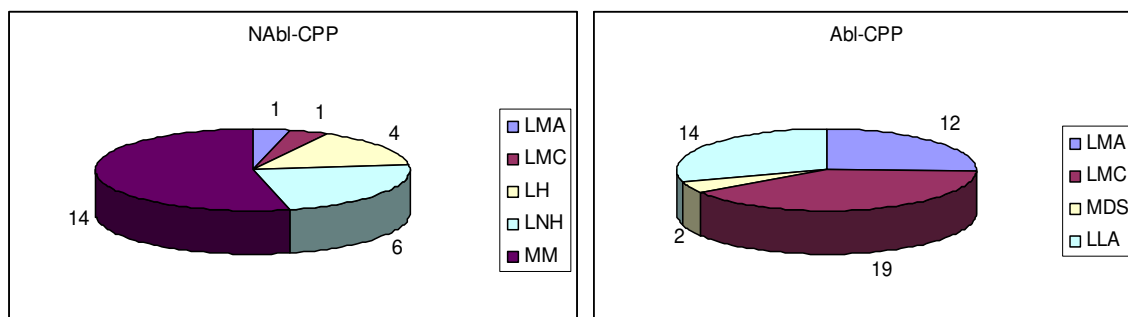


Figura 3-A e 3-B- Distribuição dos pacientes por doença nos indivíduos submetidos ao NAbI-CPP e ao AbI-CPP.

Dos 47 pacientes submetidos ao AbI-CPP, 27 (57,4 %) eram do sexo masculino e 20 (42,6 %) do sexo feminino. A idade mediana destes indivíduos foi de 38 anos, variando de 14 a 60.

Na distribuição por doença temos, 2 indivíduos com SMD (4,3%), 12 com LMA (25,5%), 14 com LLA (29,8%) e 19 pacientes com LMC (40,4%). A Figura 3-B ilustra a distribuição por doença dos pacientes submetidos ao AbI-CPP. Na Tabela 3 é mostrada a distribuição dos indivíduos da amostra com relação a sexo, idade, doença e situação da doença.

A diferença de idades entre os pacientes submetidos ao NAbI-CPP e ao AbI-CPP foi considerada estatisticamente significativa ($p = 0,016$).

Tabela 3- Distribuição dos pacientes por sexo, idade, doença e situação da doença nos 2 grupos.

	NAbl-CPP	Abl-CPP
Sexo (Masculino/Feminino)	22 / 04	27 / 20
Idade Mediana em anos (variação)	47,5 (20-63)	38,8 (14-60)
Doenças		
LMA	01 (3,8%)	12 (25,5%)
LMC	01 (3,8%)	19 (40,4%)
LH	04 (15,4%)	--
LNH	06 (23,1%)	--
MM	14 (53,8%)	--
SMD	--	02 (4,3%)
LLA	--	14 (29,8%)
Situação da doença		
PD	23 (88,5%)	18 (38,3%)
RC	01 (3,8%)	29 (61,7%)
RP	02 (7,7%)	--

3- Enxerto utilizado para os transplantes com CPP

Nos 26 pacientes submetidos ao NAbl-CPP, a quantidade mediana de células CD 34⁺ infundidas foi de 5,4 x 10⁶, com variação de 1,4 a 10,2 x 10⁶; de células CD 3⁺ foi 240 x 10⁶, com variação de 85 a 518 x 10⁶, e de células CD 8⁺ foi de 95 x 10⁶, com variação de 25 a 278 x 10⁶.

Nos 47 pacientes submetidos ao Abl-CPP, a quantidade mediana de células CD 34⁺, CD 3⁺ e CD 8⁺ infundidas foi muito semelhante ao grupo que recebeu NAbl-CPP.

4- Toxicidade dos regimes de condicionamento utilizado para a realização do NAbl-CPP e do Abl-CPP

Dos 26 pacientes submetidos ao NAbl-CPP, tivemos 1 óbito por progressão de doença no terceiro dia após o transplante, assim temos para avaliação da toxicidade 25 pacientes.

Dos 47 pacientes submetidos ao Abl-CPP, tivemos 1 óbito por progressão de doença no sexto dia após o transplante, assim temos para avaliação da toxicidade neste grupo 46 pacientes.

Toxicidade hematológica

A Tabela 4 mostra os principais dados da toxicidade hematológica relacionada ao regime de condicionamento pré-transplante observada nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP, assim como a incidência de infecções nos dois grupos.

a-) Neutrófilos

Nos 25 pacientes avaliáveis submetidos ao NAbl-CPP, o nadir de neutrófilos foi observado no dia +8, (mediana, variação do dia +3 ao dia +14), com duração mediana de 6 dias com menos de 500 neutrófilos por ml e variação de 0 a 18 dias. O nadir variou de 30 a 1720 neutrófilos por ml com mediana de 210 células. Observamos ainda que 6 indivíduos (24%) não apresentaram contagem de neutrófilos menor que 500 células por ml.

Nos 46 pacientes avaliáveis submetidos ao Abl-CPP o nadir de neutrófilos foi observado no dia +4, (mediana, variação do dia +1 ao dia +7), com duração mediana de 14 dias com menos de 500 neutrófilos por ml e variação de 5 a 25 dias. O nadir variou de 10 a 60 neutrófilos por ml com mediana de 40 células.

As diferenças no dia do nadir dos neutrófilos, no número mínimo de neutrófilos alcançados e na duração de dias com menos de 500 neutrófilos por ml entre os pacientes que receberam NAbl-CPP e Abl-CPP são estatisticamente significativas, com $p < 0,01$.

b-) Plaquetas

Nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP, o nadir de plaquetas foi observado no dia +9 (mediana, variação do dia +3 ao dia +14), e a duração mediana do número de dias com menos de 20.000 plaquetas por ml foi de 1 dia, variação de 0 a 10 dias. O nadir variou de 7.000 a 194.000 plaquetas por ml, mediana de 51.000 plaquetas por ml. Apenas 3 indivíduos (12%) apresentaram contagem plaquetária menor que 20.000 por ml e foram os únicos pacientes deste grupo que necessitaram receber transfusão de plaquetas, todos profilaticamente.

Nos pacientes submetidos ao Abl-CPP, o nadir de plaquetas foi observado no dia +7 (mediana, variação do dia +2 ao dia +11), e a duração mediana do número de dias com menos de 20.000 plaquetas por ml foi de 7 dias, variação de 3 a 32 dias. O nadir variou de 2.000 a 11.000 plaquetas por ml, com mediana de 7.000 plaquetas por ml. Todos os pacientes deste grupo receberam transfusão de concentrado de plaquetas.

As diferenças entre os pacientes que foram submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP com relação ao dia do nadir das plaquetas, ao número mínimo de plaquetas alcançadas, à duração de dias com menos de 20.000 plaquetas por ml, e ao número de indivíduos que receberam transfusão de concentrado de plaquetas, são todas estatisticamente significativas, com $p < 0,01$.

c-) Hemácias

No período de até 30 dias após o NAbl-CPP, níveis de hemoglobina menor que 8 mg/ml foram observados em 9 pacientes (36%), sendo estes os únicos do grupo a receberem transfusão de concentrado de hemácias.

No período de até 30 dias após o Abl-CPP, níveis de hemoglobina menor que 8 mg/ml foram observados em 40 pacientes (86%), sendo estes os pacientes que receberam transfusão de concentrado de hemácias neste grupo.

As diferenças no número de concentrado de hemácias transfundidos entre os pacientes que foram submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP são estatisticamente significativas, com $p < 0,01$.

Infecções

Entre os pacientes submetidos ao NAbl-CPP, 11 (44%) apresentaram infecção bacteriana, tendo como foco pulmão em 3 indivíduos, e o catéter central em 7 deles. Hemocultura positiva apenas, sem foco definido, foi visto em 1 paciente. Tivemos 1 paciente que faleceu de infecção bacteriana no dia +17, tendo sido esta a única ocorrência de mortalidade relacionada ao regime de condicionamento. Não houve necessidade do uso de anti-fúngico terapêutico em nenhum dos pacientes deste grupo.

Entre os pacientes submetidos ao Abl-CPP, todos (100%) apresentaram infecção bacteriana, sendo esta a causa primária de morte em 5 pacientes. Houve necessidade do uso de anti-fúngico terapêutico (Anfotericina B) em 15 (32%) pacientes deste grupo.

As diferenças na incidência de infecções bacterianas e fúngicas entre os pacientes que foram submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP são estatisticamente significativas, com $p < 0,01$.

Tabela 4 – Toxicidade hematológica e incidência de infecções relacionadas ao regime de condicionamento pré-transplante nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP e Abl-CPP (N=neutrófilos; P=plaquetas; CP=concentrado de plaquetas; CH=concentrado de hemácias).

Toxicidade hematológica relacionada ao regime de condicionamento		
	NAbl-CPP	Abl-CPP
Dias com N < 500 (mediana)	6 dias	14 dias
Dias com P < 20.000 (mediana)	1 dia	7 dias
Transfusão CP (n e %)	3 (12%)	46 (100%)
Transfusão CH (n e %)	9 (36%)	40 (86%)
Infecção Bacteriana	11 (44%)	46 (100%)
Infecção Fúngica	0 (0%)	15 (32%)

Toxicidade não-hematológica

A tabela 5 mostra os principais dados da toxicidade não-hematológica relacionada ao regime de condicionamento pré-transplante observada nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP.

Nenhum dos pacientes submetidos ao NAbl-CPP apresentou mucosite, diarreia, ou elevação de transaminases, fosfatase alcalina e bilirrubinas.

Não houve necessidade de nutrição parenteral em nenhum dos pacientes deste grupo. Toxicidade cardíaca, pulmonar, renal e neurológica não foi observada em nenhum dos pacientes deste grupo.

Nos pacientes submetido ao Abl-CPP, mucosite severa (graus III e IV – classificação das mucosites encontra-se no apêndice, item 6) foi observada em 35 (76%) dos 46 pacientes submetidos ao Abl-CPP, sendo que houve necessidade do uso de nutrição parenteral (NPP) em 36 pacientes (78%).

A doença veno-oclusiva hepática (VOD) grave foi observada em 7 pacientes (15%), sendo a causa primária de óbito em 7 deles.

As diferenças nas incidências de VOD, mucosite, e necessidade de NPP entre os pacientes que receberam NAbl-CPP e Abl-CPP são estatisticamente significativas, com $p < 0,01$.

Tabela 5 – Toxicidade não-hematológica relacionada ao regime de condicionamento pré-transplante nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP e Abl-CPP

(NPP=nutrição parenteral); VOD=doença veno-oclusiva hepática).

Toxicidade não-hematológica relacionada ao regime de condicionamento		
	NAbl-CPP	Abl-CPP
Mucosite severa (n e %)	0	35 (76%)
Uso de NPP (n e %)	0	36 (78%)
VOD grave (n e %)	0	7 (15%)

Dias de hospitalização

A mediana dos dias de internação hospitalar dos 26 pacientes submetido ao NAbl-CPP foi de 15 dias, (variação de 3 a 57 dias), enquanto que para os 47 pacientes submetidos ao Abl-CPP mediana dos dias de internação hospitalar foi de 20 dias (variação de 2 a 88 dias)

As diferenças no total de dias de internação hospitalar entre os pacientes que foram submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP são estatisticamente significativas, com $p < 0,01$.

5- Avaliação do quimerismo hematopoiético nos pacientes submetidos ao NAbI-CPP

A avaliação seqüencial do quimerismo linfo-hematopoiético dos pacientes submetidos ao NAbI-CPP mostrou-nos os seguintes resultados:

- No dia +28 temos 24 pacientes avaliáveis, sendo que a análise do quimerismo hematopoiético mostrou quimerismo completo em 20 deles (83%), e quimerismo misto em 4 (17%);
- No dia +56, dos 23 pacientes avaliáveis, tínhamos 20 com quimerismo completo (87%) e 3 com quimerismo misto (13%). Dos 24 pacientes avaliáveis no dia +28, tivemos 1 paciente com quimerismo completo que foi a óbito no dia +47. Dos 4 que apresentavam quimerismo misto no dia +28, um deles converteu para quimerismo completo após a primeira ILD realizada no dia +47, considerando o estado de quimerismo misto, ausência de DECH aguda, e estado de progressão de doença.
- Na avaliação do dia +84, dos 23 pacientes avaliáveis tínhamos 22 com quimerismo completo (95%), e 1 com recuperação da hematopoiese autóloga (5%), mesmo após ILD realizada no dia +77. Nos outros 2 pacientes que apresentavam quimerismo misto no dia +56, houve a conversão para quimerismo completo. A conversão para quimerismo completo foi espontânea em um deles, pois devido diagnóstico de DECH aguda grau II no dia +69 não havia indicação de ILD. O outro paciente recebeu ILD no dia +65, resultando em conversão para quimerismo completo.
- Nos dias +180, +360, +730 e +1095 tínhamos, respectivamente 17, 13, 6 e 3 pacientes avaliáveis, todos com quimerismo completo.

6- Infusão de linfócitos do doador (ILD) nos pacientes submetidos ao NAbI- CPP

Infusão de linfócitos do doador foi realizada em 6 (23%) pacientes. Em 3 deles a ILD foi realizada devido ao estado de quimerismo misto nos dias +47, +65 e +77. A conversão para o estado de quimerismo completo foi observada em 2 pacientes com uma única ILD na dose de 1×10^7 células CD3⁺/kg. O terceiro paciente apresentou recuperação da hematopoiese autóloga a despeito da primeira ILD realizada no dia +77, e de uma segunda ILD na dose de $3,2 \times 10^7$ células CD3⁺/kg realizada quatro semanas mais tarde.

O paciente que recebeu ILD no dia +47 apresentava quimerismo misto no dia +28 e encontrava-se em PD de MM. Após a primeira ILD houve, além da conversão para quimerismo completo, regressão da doença que passou para o estado de MBRP, e assim se manteve até o final do seguimento, no dia +839.

Outros 3 pacientes receberam ILD devido à progressão de doença. Entre eles, um paciente com MM recebeu uma única dose de 1×10^7 células CD3⁺/kg no dia +115, evoluindo para o estado de MBRP que se manteve estável até o final do seguimento no dia +682. Os outros 2 pacientes, um com MM e um com LNH receberam as quatro doses programadas de ILD, mas ambos faleceram por PD.

7- DECH aguda

Dos 26 pacientes submetidos ao NAbI-CPP, 24 são avaliáveis para a incidência de DECH aguda. Os pacientes que faleceram nos dias +3 e +17 foram considerados não avaliáveis para esta ocorrência. DECH aguda (graus II e III) ocorreu em 9 pacientes (37,5%), sendo 5 pacientes com grau II e 4 com grau III. O dia mediano de ocorrência da DECH aguda neste grupo foi o dia +72, variando do dia +31 ao dia +83.

Dos 47 pacientes submetidos ao Abl-CPP, 38 são avaliáveis para a incidência de DECH aguda. DECH aguda (grau II ou maior) ocorreu em 14 pacientes (36%), sendo 10 pacientes com grau II, 2 com grau III, e 2 com grau IV. O dia mediano de ocorrência da DECH aguda neste grupo foi o dia +46, variando do dia +24 ao dia +90.

Não houve diferença estatisticamente significativa na incidência de DECH aguda nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP.

8- DECH crônica

Dos 26 pacientes submetidos ao NAbl-CPP, 22 são avaliáveis para a incidência de DECH crônica extensa. Os pacientes que faleceram nos dias +3, +17 e +47 foram considerados não avaliáveis para esta ocorrência, assim como o paciente que apresentou recuperação da hematopoiese autóloga.

Destes 22 pacientes, DECH crônica extensa foi observada em 14 (64%). Dos 14 pacientes, 9 pacientes chegaram ao dia +100 em tratamento de DECH aguda e 5 pacientes desenvolveram DECH crônica extensa após o dia +101, sendo o dia +132 o dia mediano de aparecimento da DECH crônica extensa.

Dos 47 pacientes submetidos ao Abl-CPP, 23 são avaliáveis para a incidência de DECH crônica extensa, que foi observada em 17 pacientes (74%). O dia +208 foi o dia mediano de aparecimento da DECH crônica extensa neste grupo.

Não houve diferença estatisticamente significativa na incidência de DECH crônica extensa nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP.

9- Sobrevida global e causas de mortalidade

Entre os 26 pacientes submetidos ao NAbl-CPP a estimativa de sobrevida global foi de 39% (95% IC, 15-63%), enquanto que entre os 47 indivíduos submetidos ao Abl-CPP a estimativa de sobrevida global foi de 31% (95% IC, 17-45%). A Figura 4 ilustra esses dados.

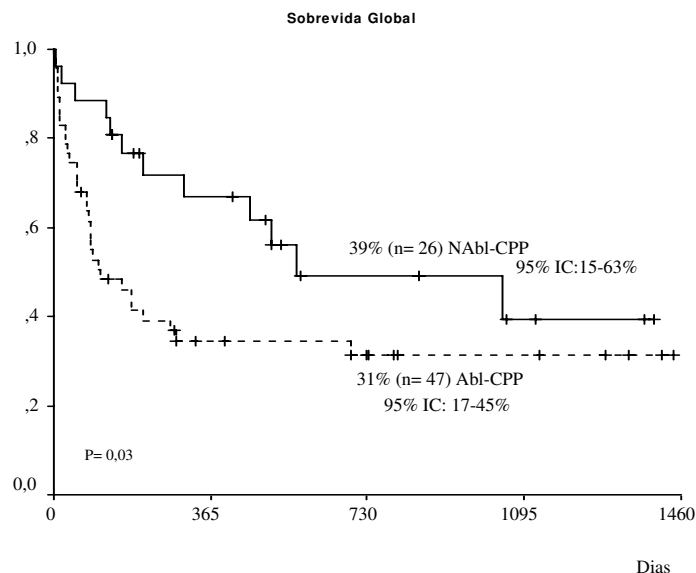


Figura 4- Estimativa de sobrevivida global (SG) nos pacientes submetidos ao NAbI-CPP e ao Abl-CPP.

Entre os 26 pacientes submetidos ao NAbI-CPP houve 12 mortes (46%), sendo 7 (27%) relacionadas ao transplante (MRT), todos de infecção (5 bacterianas, 1 viral e 1 neurocriptococose). A mediana de ocorrência da MRT foi o dia +209 (19-504). Progressão de doença foi a causa de morte nos outros 5 pacientes (3 com LNH agressivo e 2 com MM). A incidência cumulativa de MRT foi de 36% (95% IC, 14-58%) neste grupo.

Entre os 47 pacientes submetidos ao Abl-CPP houve 31 mortes (66%), com 28 (59%) relacionadas ao transplante (MRT), sendo 18 por infecção, 3 por VOD, 3 devido a complicações hemorrágicas, 2 devido à DECH aguda e 2 devido à DECH crônica. Progressão de doença foi a causa de morte nos outros 3 pacientes (7%). A incidência cumulativa de MRT neste grupo foi de 63% (95% IC, 49-77%).

As diferenças na incidência de MRT nos pacientes submetidos ao NAbI-CPP e ao Abl-CPP são estatisticamente significativas com $p < 0,01$.

A incidência cumulativa de MRT nos pacientes submetidos ao NAbI-CPP e ao Abl-CPP é mostrada na Figura 5.

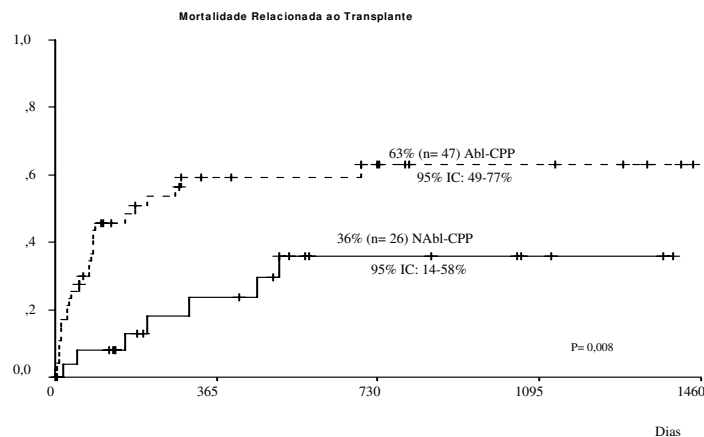


Figura 5- Estimativa de mortalidade relacionada ao transplante (MRT) nos pacientes submetidos ao NAbI- CPP e ao Abl-CPP.

10- Avaliação da resposta terapêutica

a. Pacientes submetidos ao NAbI-CPP

Para a realização do NAbI-CPP tínhamos um paciente (4%) com LMA em remissão completa e 2 pacientes (8%) com MM em remissão parcial, enquanto 88% dos pacientes encontravam-se em progressão de doença. Os pacientes com LNH e o paciente com MM que morreram respectivamente nos dias 3 e 17 após o NAbI-CPP não foram considerados para avaliação de resposta terapêutica.

A paciente com LMC apresentou rejeição do enxerto, mantendo-se em PD, enquanto o paciente com LMA continuava em remissão completa até o término do seguimento de 1397 dias.

Os 4 pacientes com LH tiveram um tempo de seguimento mediano de 368 dias (183-1052), todos atingiram RC após o NAbI-CPP, porém tivemos 1 MRT e 2 recidivaram.

Entre os 5 indivíduos com LNH avaliáveis, o tempo de seguimento mediano foi de 285 dias (133-1373); todos obtiveram RC, sendo que 1 manteve-se em RC até o final do seguimento de 1373 dias, 2 evoluíram com PD e 2 apresentaram MRT.

Entre os 13 pacientes com MM avaliáveis, o tempo mediano de seguimento foi de 457 dias (47-1115), com 8 pacientes em MBRP até o final do seguimento. O tempo mediano de seguimento destes 8 pacientes foi de 453 dias (128-1115). Entre os 5 restantes, 3 apresentaram MRT e 2 foram a óbito por PD.

Nas Figuras 6-A e 6-B temos as estimativas de SLP dos pacientes submetidos ao NAbI-CPP. A figura 6-A mostra a estimativa de SLP considerando-se todo o grupo (33%, 95% IC, 11-55%), enquanto a figura 6-B mostra a estratificação da curva de SLP para os pacientes com MM (42%, 95% IC, 8-76%) e para os outros pacientes submetidos ao NAbI-CPP (25%, 95% IC, 0-53%).

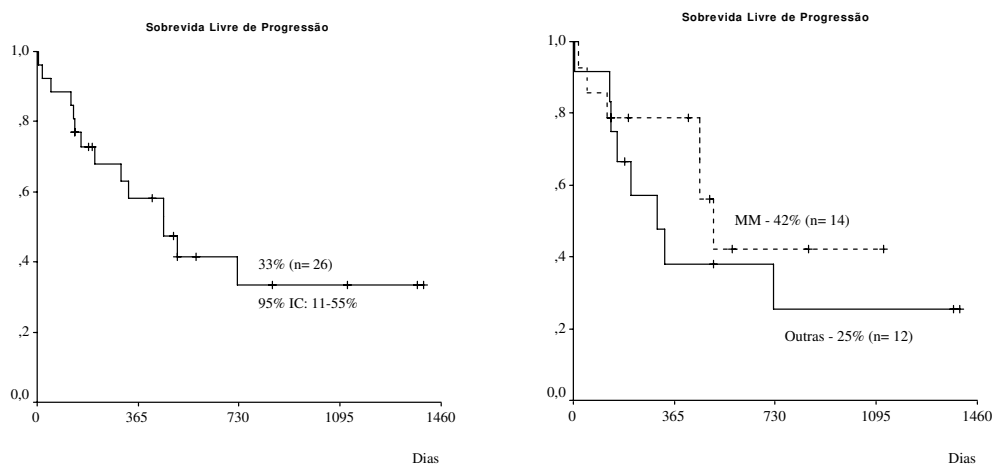


Figura 6- Na figura 6-A, à esquerda, temos a estimativa de SLP para todos os pacientes submetidos ao NAbI-CPP, enquanto na figura 6-B temos a estimativa de SLP estratificada para os pacientes com MM e para os outros pacientes submetidos ao NAbI-CPP.

Nas figuras 7-A e 7-B temos as estimativas de TPP dos pacientes submetidos ao NAbI-CPP. A Figura 7-A mostra a estimativa de TPP considerando-se todo o grupo (64%, 95% IC, 32-96%), enquanto a figura 7-B mostra a estratificação da curva de TPP para os pacientes com MM (86%, 95% IC, 60-100%) e para os outros pacientes submetidos ao NAbI-CPP (48%, 95% IC, 2-94%).

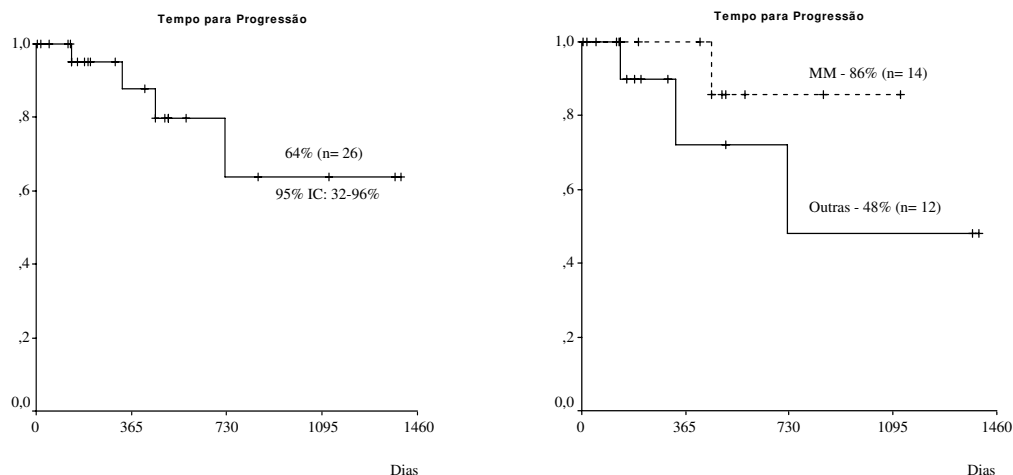


Figura 7- Na Figura 7-A, à esquerda, temos a estimativa de TPP para todos os pacientes submetidos ao NAbl-CPP, enquanto na Figura 7-B temos a estimativa de TPP estratificada para os pacientes com MM e para os outros pacientes submetidos ao NAbl-CPP.

b. Pacientes submetidos ao Abl-CPP

Ao término de um seguimento mediano de 730 dias (63-1442 dias) tínhamos 16 pacientes (34%) que haviam sido submetidos ao Abl-CPP vivos e em remissão completa. Dos 16 pacientes, 7 apresentavam LMA, 6 LMC e 2 LLA.

A Figura 8-A mostra a estimativa de SLP nos pacientes submetidos ao Abl-CPP (31%, 95% IC, 17-45%), enquanto a Figura 8-B mostra a estimativa de TPP para os pacientes submetidos ao Abl-CPP (82%, 95% IC, 68-96%).

Não houve diferença estatisticamente significativa nas estimativas de sobrevida livre de progressão e de tempo para progressão nos indivíduos submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP.

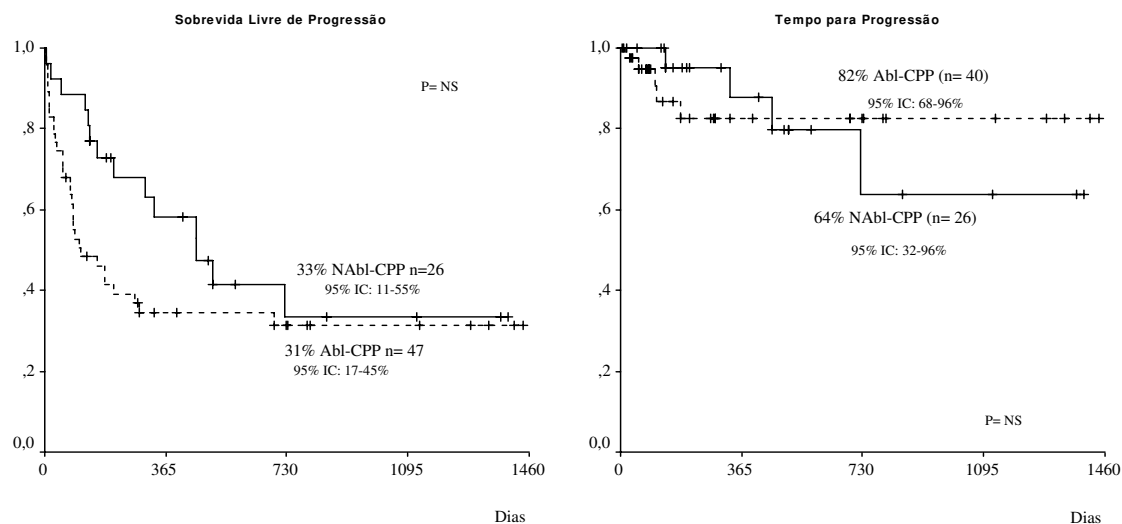


Figura 8- Na figura 8-A, à esquerda, temos a estimativa de SLP para os pacientes submetidos ao Abl-CPP e ao NAbI-CPP, enquanto na figura 8-B temos a estimativa de TPP para os pacientes submetidos ao Abl-CPP e ao NAbI-CPP.

5 – DISCUSSÃO

Conforme apresentado na introdução deste trabalho, o transplante alogênico de medula óssea (TMO) como modalidade terapêutica segura que possa ser indicada eletivamente no curso de uma doença hematológica maligna em remissão clínica, com finalidades curativas, tem menos de 30 anos. Mesmo com a melhoria do suporte pós-TMO, seja clínico, hemoterápico, de cuidados intensivos, e do desenvolvimento de novos antimicrobianos, as taxas de mortalidade relacionadas ao transplante (MRT) ainda são altas, sobretudo nos indivíduos com mais de 55 anos, nos portadores de co-morbidades, e naqueles que estão sendo submetidos ao segundo transplante de medula óssea. Novamente colocando que este estudo não tem finalidades comparativas entre o TMO feito com condicionamento não-mieloablativo e mieloablativo, temos que a MRT nos 47 pacientes submetidos ao transplante com CPP após regime de condicionamento mieloablativo foi de 59%, dentro de um grupo de pacientes com doenças consideradas avançadas, porém sem comorbidades, com idade mais jovem, todos sendo submetidos ao primeiro transplante de medula óssea, e a maioria em estado de remissão completa da doença, conforme mostra a Tabela 3. Estes dados são consideráveis, visto que a idade de aparecimento de várias doenças hematológicas malignas ocorre mais frequentemente após os 60 anos, as co-morbidades, em especial a disfunção renal nos pacientes com mieloma múltiplo e disfunções cardíacas que são mais frequentemente encontradas após essa idade, e ainda mais, que a indicação de TMO para pacientes com linfomas e mieloma múltiplo só deve ser feita após a realização do transplante autólogo, temos uma restrição muito grande da aplicabilidade do TMO para uma população que teria potencial benefício desta modalidade terapêutica. Impulsionado por estas discrepâncias, e baseando-se no fato de que a infusão de linfócitos do doador (ILD) pode levar por si só ao estado de remissão completa indivíduos com recidiva de doença após a realização do TMO, desde 1999 têm-se estudado a possibilidade da realização de TMO utilizando-se regimes de condicionamento não-mieloablativos. O esquema de condicionamento pré-TMO desenvolvido no *Fred Hutchinson Cancer Research*, Seattle, e utilizado neste protocolo, usa condicionamento mínimo, com ICT com 1/6 da dose utilizada nos condicionamentos tradicionais, e fludarabina em doses rotineiramente utilizadas em esquemas de quimioterapia convencional, inclusive para pacientes mais idosos.

Quando se considera a possibilidade da aplicação de um protocolo de TMO como este, é muito importante a resposta a três questionamentos fundamentais: se é possível o estabelecimento de pega, ou seja, se é possível o controle da rejeição do enxerto, se há diminuição das taxas de mortalidade relacionadas ao transplante, e se o estabelecimento do enxerto no doador é capaz de controlar a doença de base. Se um estudo de fase II como este traz respostas favoráveis aos questionamentos colocados, seria então possível a delineação de um estudo comparativo, randomizado, entre transplante de CPP com condicionamento mieloablativo (Abl-CPP) e não-mieloablativo (NAbl-CPP).

Assim, a primeira resposta que temos que fornecer é se este regime de condicionamento permite a pega do enxerto. Como também já colocado, por ser um condicionamento não-mieloablativo, que não erradica a hematopoiese do receptor, primeiramente deve ser estabelecido um estado de quimerismo misto doador-receptor, para depois haver consolidação da pega, que é a transformação do quimerismo misto em quimerismo completo. Nossos resultados mostraram alta eficácia deste regime para permitir a pega, que ocorreu em 95% dos pacientes, já com elevadas taxas de pega no dia +28. Apesar de previsto no protocolo, a infusão adicional de linfócitos do doador para transformação do quimerismo misto em quimerismo completo foi necessária em apenas 3 dos 24 pacientes onde ela poderia ter sido aplicada. A estabilidade do enxerto também foi observada, já que a análise do quimerismo hematopoiético doador-receptor foi feita regularmente. Nossos resultados estão em conformidade com os estudos de fase II publicados onde este protocolo foi utilizado.

O segundo questionamento na utilização de um protocolo de TMO com regime de condicionamento não-mieloablativo é se há diminuição das taxas de MRT. De forma simplista podemos dizer que MRT são os óbitos não causados por progressão de doença após o TMO. Os grandes contribuintes para as elevadas taxas de MRT após TMO com regime de condicionamento tradicional são as infecções, bacterianas e fúngicas mais precocemente, e virais mais tardiamente. Depois temos a DECH aguda, sangramentos, a doença veno-oclusiva hepática, e a DECH crônica, entre algumas outras. A primeira estratégia visando então diminuir a taxa de MRT seria diminuir o risco das infecções decorrentes do regime de condicionamento. Como as infecções bacterianas e fúngicas estão

diretamente relacionadas ao tempo e à intensidade da neutropenia, e também à ocorrência de mucosites severas e do uso de nutrição parenteral, a utilização de um regime pré-transplante não-mieloablativo deveria reduzir estas ocorrências, o que realmente foi observado nos pacientes deste estudo submetidos ao NAbl-CPP. Vendo conjuntamente com os pacientes submetidos ao Abl-CPP, o tempo de neutropenia dos pacientes submetidos ao NAbl-CPP foi bastante reduzido, e o nadir de neutrófilos não foi tão acentuado. Também, mucosite severa e necessidade de nutrição parenteral não foram observadas em nenhum dos pacientes submetidos ao NAbl-CPP, o que possivelmente explique a incidência de infecções bacterianas em 46% e a ausência de infecções fúngicas, observadas respectivamente em 100% e 32% dos pacientes submetidos ao Abl-CPP. De outro lado, a rápida recuperação da contagem plaquetária, e mesmo a quase ausência de plaquetopenia severa após o NAbl-CPP, reduziu o risco de mortalidade por sangramento neste grupo, como mostram nossos resultados.

Considerando a fisiopatologia da DECH aguda, seria esperado uma redução na sua incidência quando se utiliza regimes de condicionamento não-mieloablativos, e a diminuição na incidência da DECH aguda seria outra estratégia importante visando-se também a diminuição da taxa de MRT. Não só a diminuição na incidência da DECH, como também sua ocorrência mais tardia, além da menor ocorrência das formas mais graves, é observada pela maioria dos autores, como citado na introdução deste trabalho. Nos nossos pacientes não observamos diferença na ocorrência da DECH aguda entre aqueles submetidos ao NAbl-CPP e ao Abl-CPP, porém de fato não foram observadas formas mais graves nos pacientes submetidos ao NAbl-CPP, e a DECH aguda ocorreu mais tardiamente nestes pacientes do que nos submetidos ao Abl-CPP. Esta ocorrência mais tardia é importante para que não haja interposição entre o período de aplasia pós-TMO e conseqüentemente maior incidência de infecções, e a DECH aguda, o que torna o manejo tanto da DECH como das infecções, muito mais complicado. Diminuição na incidência da DECH aguda é um dos principais pontos a serem considerados, visto que a DECH aguda predispõe a ocorrência da DECH crônica, e a DECH crônica extensa pode levar ao uso prolongado de imunossupressores, que predispõem a ocorrência das complicações infecciosas mais tardias e possivelmente dificulte o estabelecimento do efeito

enxerto-contramalignidade. Como observado pela maioria dos autores, também não tivemos diminuição na incidência de DECH crônica extensa nos pacientes submetidos ao NAbI-CPP.

O terceiro questionamento na utilização de um protocolo de TMO com regime de condicionamento não-mieloablativo é se o estabelecimento do enxerto no receptor é capaz de controlar a doença de base. Esquema de condicionamento com doses baixas, como o utilizado neste protocolo, não controla proliferação neoplásica por muito tempo, e assim o controle da malignidade, ou mesmo sua erradicação, fica a cargo do desenvolvimento do efeito enxerto-contramalignidade (ECM). Este efeito pode ocorrer sem a necessidade de novas intervenções, ou pode ser induzido ou amplificado através da infusão adicional de células CD 3⁺ do doador.

Diferentes neoplasias têm diferentes sensibilidades ao efeito ECM, mas parece claro que para o pleno estabelecimento do efeito ECM é importante que a neoplasia esteja controlada, principalmente nas doenças onde a proliferação celular é mais rápida. Assim, como já citado na introdução deste trabalho, os resultados terapêuticos da utilização do NAbI-CPP variam com as diferentes doenças, mas estar com a doença controlada no momento da transplante, e a doença ainda ser quimiossensível, são os principais fatores que podem estar relacionados ao sucesso do tratamento.

Para os linfomas Hodgkin e não-Hodgkin a indicação do NAbI-CPP fica para os pacientes que apresentarem recidiva da doença após o transplante autólogo com CPP (A-CPP). Nas neoplasias mielóides o NAbI-CPP tem sido indicado para os pacientes onde há critérios de inelegibilidade para uso do Abl-CPP. Já para os portadores de mieloma múltiplo parece haver melhores resultados quando o NAbI-CPP é oferecido após o A-CPP, porém não há consenso de quanto tempo após o A-CPP o NAbI-CPP deva ser realizado, ou mesmo se todos os pacientes devam ser submetidos ao transplante alogênico. Nos nossos pacientes que foram submetidos ao NAbI-CPP e incluídos nesse estudo, a maioria encontrava-se em progressão de doença, mas mesmo assim os resultados, sobretudo nos pacientes com mieloma múltiplo, foram satisfatórios, sugerindo sensibilidade desta doença ao efeito ECM. Mesmo que somente para ilustração, vale a pena citar o paciente com MM avançado, em franca PD, e já com terapia de suporte dialítico, que recebeu uma única ILD no dia + 47 e evoluiu para o estado de MBRP duradoura.

A avaliação da resposta terapêutica dos NAbI-CPP ainda é difícil de ser avaliada globalmente, pois há muita variação nos regimes de condicionamento utilizados, e os grupos onde estes protocolos são propostos, via de regra são bastante heterogêneos, dificultando a interpretação dos resultados publicados.

Também, como não há nenhum estudo de fase III randomizado sobre o NAbI-CPP, não está estabelecido se a utilização desta modalidade de tratamento nos portadores de neoplasias mielóides em remissão clínica, por exemplo, poderia substituir o Abl-CPP tradicionalmente utilizado.

Dentro desta nova visão do TMO, muitos pontos devem ser melhor elucidados, como se a intensidade de condicionamento, e sobretudo de imunossupressão, não deveriam ser diferentes para diferentes doenças e estado clínico das mesmas.

O melhor entendimento desta nova modalidade de TMO pode iniciar estratégias específicas para sua utilização em doenças não malignas, onde a manutenção de um estado de tolerância bidirecional permitindo a manutenção de um estado de quimerismo misto estável seria suficiente para permitir o efeito terapêutico desejado nos pacientes com as formas graves da anemia falciforme, das beta-talassemias maiores, portadores de imunodeficiências congênitas, defeitos enzimáticos, e plaquetopatias congênitas, entre outras.

O início dos estudos de fase III com NAbI-CPP, a continuação das pesquisas de base visando a intensificação do efeito ECM nos diferentes tumores, assim como as tentativas de separação do efeito ECM da DECH estão sendo esperadas para que haja uma maior aplicabilidade desta forma de TMO.

6 – CONCLUSÕES

1. O regime de condicionamento não-mieloablativo utilizado mostrou-se eficaz para permitir o estabelecimento de um estado de quimerismo misto linfo-hematopoiético, e posterior conversão para quimerismo completo.
2. As toxicidades hematológica e não-hematológica associadas ao regime de condicionamento não-mieloablativo utilizado foram leves e de restabelecimento rápido, e a taxa de mortalidade relacionada ao transplante foi aceitável, mesmo para os pacientes de alto risco nos quais esta modalidade de tratamento foi utilizada.
3. As taxas de 'remissão completa' e de 'muito boa remissão parcial' após o transplante não-mieloablativo sugerem o potencial terapêutico do transplante alogênico de medula óssea, independentemente de altas doses de quimio e/ou radioterapia.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antin JH, Childs R, Filipovich AH, Giralt S, Mackinnon S, Spitzer T, Weisdorf D. Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: recommendations from a workshop at the 2001 Tandem Meetings of the International Bone Marrow Transplant Registry and the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow*

Transplant. 2001;7(9):473-85. Review. Arnold R, Massenkeil G, Bornhauser M, Ehninger G, Beelen DW, Fauser AA, Hegenbart U, Hertenstein B, Ho AD, Knauf W, Kolb HJ, Kolbe K, Sayer HG, Schwerdtfeger R, Wandt H, Hoelzer D. Nonmyeloablative stem cell transplantation in adults with high-risk ALL may be effective in early but not in advanced disease. *Leukemia.* 2002 Dec;16(12):2423-8.

Baron F, Storb R. Allogeneic hematopoietic cell transplantation as treatment for hematological malignancies: a review. *Springer Semin Immunopathol.* 2004 Nov;26(1-2):71-94.

Baron F, Maris MB, Sandmaier BM, Storer BE, Sorrow M, Diaconescu R, Woolfrey AE, Chauncey TR, Flowers ME, Mielcarek M, Maloney DG, Storb R. Graft-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *J Clin Oncol.* 2005 Mar 20;23(9):1993-2003.

Baron F, Little MT, Storb R. Kinetics of engraftment following allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity or nonmyeloablative conditioning. *Blood Rev.* 2005 May;19(3):153-64.

Barrett J, Childs R. Non-myeloablative stem cell transplants. *Br J Haematol.* 2000 Oct;111(1):6-17.

Champlin R, Khouri I, Anderlini P, Gajewski J, Kornblau S, Molldrem J, Shimoni A, Ueno N, Giralt S. Nonmyeloablative preparative regimens for allogeneic hematopoietic transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2001 May;27 Suppl 2:S13-22.

Dazzi F, Szydlo RM, Cross NC, Craddock C, Kaeda J, Kanfer E, Cwynarski K, Olavarria E, Yong A, Apperley JF, Goldman JM. Durability of responses following donor lymphocyte infusions for patients who relapse after allogeneic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2000 Oct 15;96(8):2712-6.

Dazzi F, Szydlo RM, Craddock C, Cross NC, Kaeda J, Chase A, Olavarria E, van Rhee F, Kanfer E, Apperley JF, Goldman JM. Comparison of single-dose and escalating-dose regimens of donor lymphocyte infusion for relapse after allografting for chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2000 Jan 1;95(1):67-71.

Diaconescu R, Flowers CR, Storer B, Sorror ML, Maris MB, Maloney DG, Sandmaier BM, Storb R. Morbidity and mortality with nonmyeloablative compared with myeloablative conditioning before hematopoietic cell transplantation from HLA-matched related donors. *Blood*. 2004 Sep 1;104(5):1550-8.

Diaconescu R, Storb R. Allogeneic hematopoietic cell transplantation: from experimental biology to clinical care. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2005 Jan;131(1):1-13.

Dreger P. Allogeneic stem cell transplantation for patients with resistant high-grade lymphoma: what is the potential of reduced-intensity conditioning? *Ann Oncol*. 2002 Sep;13(9):1507.

Dreger P, Montserrat E. Autologous and allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2002 Jun;16(6):985-92. Review.

Fijnheer R, Sanders CJ, Canninga MR, de Weger RA, Verdonck LF. Complete remission of a radiochemotherapy-resistant cutaneous T-cell lymphoma with allogeneic non-myeloablative stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Aug;32(3):345-7.

Flowers ME, Martin PJ. Evaluation of thalidomide for treatment or prevention of chronic graft-versus-host disease. *Leuk Lymphoma*. 2003 Jul;44(7):1141-6. Review.

Giralt S, Thall PF, Khouri I, Wang X, Braunschweig I, Ippolitti C, Claxton D, Donato M, Bruton J, Cohen A, Davis M, Andersson BS, Anderlini P, Gajewski J, Kornblau S, Andreeff M, Przepiorka D, Ueno NT, Molldrem J, Champlin R. Melphalan and purine analog-containing preparative regimens: reduced-intensity conditioning for patients with hematologic malignancies undergoing allogeneic progenitor cell transplantation. *Blood*. 2001 Feb 1;97(3):631-7.

Goldman JM. Management of chronic myeloid leukaemia. *Scand J Haematol*. 1986 Oct;37(4):269-79. Review.

Grigg A, & Ritchie D. Graft-versus-lymphoma effects: clinical review, policy proposals, and immunobiology. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004 Sep;10(9):579-90.

Guitart J, Wickless SC, Oyama Y, Kuzel TM, Rosen ST, Traynor A, Burt R. Long-term remission after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for refractory cutaneous T-cell lymphoma. *Arch Dermatol*. 2002 Oct;138(10):1359-65. Review.

Hogan WJ, Storb R. Therapeutic applications of non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation in malignant disease. *Immunol Res*. 2003;28(1):1-11.

Junghanss C, Marr KA, Carter RA, Sandmaier BM, Maris MB, Maloney DG, Chauncey T, McSweeney PA, Storb R. Incidence and outcome of bacterial and fungal infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a matched control study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2002;8(9):512-20.

Khouri IF, Saliba RM, Giralt SA, Lee MS, Okoroji GJ, Hagemaster FB, Korbiling M, Younes A, Ippoliti C, Gajewski JL, McLaughlin P, Anderlini P, Donato ML, Cabanillas FF, Champlin RE. Nonablative allogeneic hematopoietic transplantation as adoptive immunotherapy for indolent lymphoma: low incidence of toxicity, acute graft-versus-host disease, and treatment-related mortality. *Blood*. 2001 Dec 15;98(13):3595-9.

Khouri IF, Lee MS, Saliba RM, Jun G, Fayad L, Younes A, Pro B, Acholonu S, McLaughlin P, Katz RL, Champlin RE. Nonablative allogeneic stem-cell transplantation for advanced/recurrent mantle-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2003 Dec 1;21(23):4407-12.

Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese W, Ljungman P, Ferrant A, Verdonck L, Niederwieser D, van Rhee F, Mittermueller J, de Witte T, Holler E, Ansari H; European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party Chronic Leukemia. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood*. 1995 Sep 1;86(5):2041-50.

Kolb HJ, Simoes B, Schmid C. Cellular immunotherapy after allogeneic stem cell transplantation in hematologic malignancies. *Curr Opin Oncol*. 2004 Mar;16(2):167-73.

Kroger N, Perez-Simon JA, Myint H, Klingemann H, Shimoni A, Nagler A, Martino R, Alegre A, Tomas JF, Schwerdtfeger R, Kiehl M, Fauser A, Sayer HG, Leon A, Beyer J, Zabelina T, Ayuk F, San Miguel JF, Brand R, Zander AR. Relapse to prior autograft and chronic graft-versus-host disease are the strongest prognostic factors for outcome of melphalan/fludarabine-based dose-reduced allogeneic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004 Oct;10(10):698-708.

Lee SJ, Vogelsang G, Flowers MED. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003 9: 215.

McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, Sandmaier BM, Molina AJ, Maloney DG, Chauncey TR, Gooley TA, Hegenbart U, Nash RA, Radich J, Wagner JL, Minor S, Appelbaum FR, Bensinger WI, Bryant E, Flowers ME, Georges GE, Grumet FC, Kiem HP, Torok-Storb B, Yu C, Blume KG, Storb RF. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood*. 2001 Jun 1;97(11):3390-400.

Maloney DG, Molina AJ, Sahebi F, Stockerl-Goldstein KE, Sandmaier BM, Bensinger W, Storer B, Hegenbart U, Somlo G, Chauncey T, Bruno B, Appelbaum FR, Blume KG, Forman SJ, McSweeney P, Storb R. Allografting with nonmyeloablative conditioning following cytoreductive autografts for the treatment of patients with multiple myeloma. *Blood*. 2003 Nov 1;102(9):3447-54.

Maloney DG. Graft-vs.-lymphoma effect in various histologies of non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2003;44 Suppl 3:S99-105.

Maris M, Storb R. The transplantation of hematopoietic stem cells after non-myeloablative conditioning: a cellular therapeutic approach to hematologic and genetic diseases. *Immunol Res*. 2003;28(1):13-24.

Marks DI, Lush R, Cavenagh J, Milligan DW, Schey S, Parker A, Clark FJ, Hunt L, Yin J, Fuller S, Vandenberghe E, Marsh J, Littlewood T, Smith GM, Culligan D, Hunter A, Chopra R, Davies A, Towlson K, Williams CD. The toxicity and efficacy of donor lymphocyte infusions given after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2002 Nov 1;100(9):3108-14.

Massenkeil G, Nagy M, Lawang M, Rosen O, Genvresse I, Geserick G, Dorken B, Arnold R. Reduced intensity conditioning and prophylactic DLI can cure patients with high-risk acute leukaemias if complete donor chimerism can be achieved. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Mar;31(5):339-45.

Michallet M, Bilger K, Garban F, Attal M, Huyn A, Blaise D, Milpied N, Moreau P, Bordigoni P, Kuentz M, Sadoun A, Cahn JY, Socie G, Thomas X, Arnaud P, Raus N, Lheritier V, Pigneux A, Boiron JM. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation after nonmyeloablative preparative regimens: impact of pretransplantation and posttransplantation factors on outcome. *J Clin Oncol*. 2001 Jul 15;19(14):3340-9.

Mielcarek M, Storb R. Non-myeloablative hematopoietic cell transplantation as immunotherapy for hematologic malignancies. *Cancer Treat Rev*. 2003 Aug;29(4):283-90.

Mielcarek M, Martin PJ, Leisenring W, Flowers ME, Maloney DG, Sandmaier BM, Maris MB, Storb R. Graft-versus-host disease after nonmyeloablative versus conventional hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2003 Jul 15;102(2):756-62.

Nakamae H, Yamane T, Aoyama Y, Yamamura R, Ohta K, Hino M. Conditioning regimens including high-dose busulfan cause a high incidence of transplant-related mortality after myeloablative stem cell transplantation. *Chemotherapy*. 2004 Oct;50(4):178-83.

Nakashima Y, Shiratsuchi M, Abe Y, Muta K, Tani K, Shiokawa S, Nishimura J. Sustained molecular remission by non-myeloablative stem cell transplantation after autologous hematopoietic stem cell transplantation in a patient with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2005 Aug;46(8):1217-22.

Peggs K, Mackinnon S. Graft-versus-myeloma: are durable responses a clinical reality following donor lymphocyte infusion? *Leukemia*. 2004 Sep;18(9):1541-2.

Peggs KS. Immune reconstitution following stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*. 2004 Jun;45(6):1093-101. Review. Peggs KS, Thomson K, Hart DP, Geary J, Morris EC, Yong K, Goldstone AH, Linch DC, Mackinnon S. Dose-escalated donor lymphocyte infusions following reduced intensity transplantation: toxicity, chimerism, and disease responses. *Blood*. 2004 Feb 15;103(4):1548-56.

Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P. 1994 Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant* 1995 15: 825.

Randolph SS, Gooley TA, Warren EH, Appelbaum FR, Riddell SR. Female donors contribute to a selective graft-versus-leukemia effect in male recipients of HLA-matched, related hematopoietic stem cell transplants. *Blood*. 2004 Jan 1;103(1):347-52.

Reddy P, Ferrara JL. Immunobiology of acute graft-versus-host disease. *Blood Rev*. 2003 Dec;17(4):187-94. Review.

Riddell SR, Berger C, Murata M, Randolph S, Warren EH. The graft versus leukemia response after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Rev*. 2003 Sep;17(3):153-62

Ruiz-Arguelles GJ, Gomez-Almaguer D, David-Gomez-Rangel J, Vela-Ojeda J, Cantu-Rodriguez OG, Jaime-Perez JC, Gonzalez-Llano O, Herrera-Garza JL. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with non-myeloablative conditioning in patients with acute myelogenous leukemia eligible for conventional allografting: a prospective study. *Leuk Lymphoma*. 2004 Jun;45(6):1191-5.

Sandmaier BM, McSweeney P, Yu C, Storb R. Nonmyeloablative transplants: preclinical and clinical results. *Semin Oncol*. 2002 Apr;27(2 Suppl 5):78-81.

Schmitz N, Sureda A, Robinson S. Allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells after nonmyeloablative conditioning for Hodgkin's disease: indications and results. *Semin Oncol*. 2004 Feb;31(1):27-32. Review

Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G, Varadi G, Kirschbaum M, Ackerstein A, Samuel S, Amar A, Brautbar C, Ben-Tal O, Eldor A, Or R. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood*. 1998 Feb 1;91(3):756-63.

Soligo D, Ibatizi A, Berti E, Morandi P, Longhi E, Venegoni L, Corbellino M, Annaloro C, Robbiolo L, Della Volpe A, Alessi E, Lambertenghi Delilieri G. Treatment of advanced mycosis fungoides by allogeneic stem-cell transplantation with a nonmyeloablative regimen. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Apr;31(8):663-6.

Sorrer ML, Maris MB, Storer B, Sandmaier BM, Diaconescu R, Flowers C, Maloney DG, Storb R. Comparing morbidity and mortality of HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative and myeloablative conditioning: influence of pretransplantation comorbidities. *Blood*. 2004 Aug 15;104(4):961-8.

Sweetenham JW. Stem cell transplantation for mantle cell lymphoma: should it ever be used outside clinical trials? *Bone Marrow Transplant*. 2001 Nov;28(9):813-20.

Sykes M, Preffer F, McAfee S, Saidman SL, Weymouth D, Andrews DM, Colby C, Sackstein R, Sachs DH, Spitzer TR. Mixed lymphohaemopoietic chimerism and graft-versus-lymphoma effects after non-myeloablative therapy and HLA- mismatched bone-marrow transplantation. *Lancet*. 1999 May 22;353(9166):1755-9.

Valcarcel D, Martino R, Caballero D, Mateos MV, Perez-Simon JA, Canals C, Fernandez F, Bargay J, Muniz-Diaz E, Gonzalez M, San Miguel JF, Sierra J. Chimerism analysis following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Mar;31(5):387-92.

Valcarcel D, Martino R, Sureda A, Canals C, Altes A, Briones J, Sanz MA, Parody R, Constans M, Villela SL, Brunet S, Sierra J. Conventional versus reduced-intensity conditioning regimen for allogeneic stem cell transplantation in patients with hematological malignancies. *Eur J Haematol*. 2005 Feb;74(2):144-51.

Vela-Ojeda J, Garcia-Ruiz Esparza MA, Tripp-Villanueva F, Ayala-Sanchez M, Delgado-Lamas JL, Garces-Ruiz O, Rubio-Jurado B, Montiel-Cervantes L, Sanchez-Cortes E, Garcia-Chavez J, Xolotl-Castillo M, Rosas-Cabral A, Salazar-Exaire D, Galindo-Rodriguez G, Avina-Zubieta A. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation using reduced intensity versus myeloablative conditioning regimens for the treatment of leukemia. *Stem Cells Dev*. 2004 Oct;13(5):571-9.

8 – APÊNDICE

1- DECH

a.) DECH aguda

Grau	Pele	Fígado	Intestino
1+	Erupção máculo-papular envolvendo menos que 25% da superfície corporal	Bilirrubina direta entre 2-3 mg/dl	Diarréia < 1000 ml por dia
2+	Erupção máculo-papular envolvendo mais que 25% da superfície corporal	Bilirrubina direta entre 3-6 mg/dl	Diarréia > 1000 ml por dia
3+	Eritroderma generalizado	Bilirrubina direta entre 6-15 mg/dl	Diarréia > 1500 ml por dia
4+	Formações bolhosas	Bilirrubina direta maior que 15 mg/dl	Diarréia > 2000 ml por dia

Classificação geral (graus)	Pele	Fígado	Intestino
0	0	0	0
1	1 ou 2 +	0	0
2	1 ou 3 +	1 +	1 +
3	2 ou 3 +	2 ou 3+	2 ou 3 +
4	2 a 4 +	2 a 4 +	2 a 4 +

b.) DECH crônica

1	Envolvimento de 2 ou mais órgãos, sendo pelo menos 1 documentado com biópsia
2	Karnofsky < 60 ou perda de peso > 15% ou infecções recorrentes excluídas outras causas
3	Erupção máculo-papular ou liquenóide em mais de 20% da superfície corpórea
4	Escleroderma
5	Onicólise
6	Fasceíte levando à diminuição de movimentação dos punhos ou tornozelos
7	Bronquiolite obliterante
8	Biópsia hepática + ou transaminases > 3 vezes o valor da normalidade ou bilirrubina > 1,6
	com documentação de DECH crônica em outros órgãos
9	Biópsia + no trato gastro intestinal
10	Serosites

2- Termos de consentimento

a.) Doador

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA INDUÇÃO DO QUIMERISMO MISTO APÓS TRANSPLANTE ALOGÊNICO COM CÉLULAS PRECURSORAS PERIFÉRICAS UTILIZANDO CONDICIONAMENTO COM QUIMIOTERAPIA NÃO MIELOABLATIVA E INFUSÃO DE LINFÓCITOS DO DOADOR EM PACIENTES COM NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Doador

Eu, _____ estou ciente das condições clínicas atuais do meu irmão, _____, das chances de cura e da necessidade de coleta de células precursoras periféricas (o próprio transplante obtido a partir do sangue periférico), para a realização do transplante, e posteriormente de linfócitos (tipo de glóbulo branco responsável pelo ataque às células tumorais), para tratamento adjuvante à quimioterapia inicial.

Os detalhes do procedimento foram discutidos comigo e foram salientados :

1. Necessidade de coleta de células precursoras periféricas, estimuladas com G-CSF, e de linfócitos, sem estímulo, através da leucaférese.
2. Necessidade da utilização de fator de crescimento, G-CSF (remédio especial utilizado para aumentar o número de glóbulos brancos), para a coleta de células precursoras periféricas
3. Necessidade, após a coleta de células precursoras, da coleta de linfócitos, que faz parte do tratamento.
4. Necessidade de mais coletas de linfócitos, quantas forem necessárias.

5. Possíveis reações com a utilização do G-CSF, como dor óssea, mialgia, cefaléia, etc. Quando ocorrer serão tratadas com antiinflamatórios.

Sendo assim, autorizo a equipe do TMO, Hemocentro/Unicamp, a realizar a coleta de células precursoras periféricas e linfócitos

Doador

Médico

Testemunha

Campinas, / /

b.) Receptor

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA INDUÇÃO DO QUIMERISMO MISTO APÓS TRANSPLANTE ALOGÊNICO COM CÉLULAS PRECURSORAS PERIFÉRICAS UTILIZANDO CONDICIONAMENTO COM QUIMIOTERAPIA NÃO MIELOABLATIVA E INFUSÃO DE LINFÓCITOS DO DOADOR EM PACIENTES COM NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Receptor

Eu, _____, _____,
anos, documento RG nº _____, HC _____, residente à
_____, estou plenamente informado das minhas
condições clínicas atuais, da impossibilidade de se utilizar um transplante alogênico
convencional, dos tratamentos alternativos, do prognóstico da minha doença, das chances
de cura, enfim, dos riscos inerentes a tal procedimento.

Os detalhes, e as possíveis complicações, foram discutidos comigo,
ênfatizando:

1. A necessidade de utilizar quimioterapia e radioterapia, não mieloablativas (não destrói completamente a medula óssea), seguido de infusão de células precursoras periféricas (o próprio transplante obtido a partir do sangue periférico) provenientes de um doador irmão compatível
2. Necessidade de utilização de imunossuppressores (remédios utilizados para diminuir a rejeição da medula) após o transplante
3. Necessidade de infusão de linfócitos (tipo de glóbulo branco responsável pelo ataque às células tumorais), do mesmo doador original, como tratamento adjuvante à quimioterapia realizada inicialmente

4. Baixo risco de complicações precoces do procedimento, porém, um risco potencial de doença do enxerto contra o hospedeiro (a medula reage contra o paciente) e mielossupressão (falência de produção dos glóbulos do sangue), após a infusão de linfócitos do doador

Portanto, autorizo a equipe médica do TMO, hemocentro/HC Unicamp, a realizar em mim um transplante alogênico utilizando um condicionamento não mieloablativo

Paciente

Médico

Testemunha

Campinas / /

3- Índice de Karnofsky

Geral	Índice	Critério específico
Atividades normais; Não precisa de cuidados Especiais	100	Normal, sem queixas, Sem evidências de doença
	90	Capaz de desenvolver Atividades normais, Poucos sintomas ou sinais da doença
	80	Atividade normal com esforço, alguns sinais ou sintomas da doença
Incapaz de trabalhar, Permanece em casa e Necessita de muitos cuidados pessoais	70	Cuida-se de si mesmo, incapaz de realizar atividades normais ou de trabalhar
	60	Necessita de assistência ocasional, capaz de cuidar da maioria das necessidades
	50	Necessita de assistência considerável dos outros e cuidados médicos frequentes
Incapaz de se cuidar, Necessita de cuidado hospitalar Doença pode estar progredindo rapidamente	40	Incapaz, necessita De cuidado especial
	30	Incapacidade acentuada Indicado hospitalização Morte não eminente
	20	Muito doente Hospitalização necessária Tratamento de suporte
	10	Moribundo
	0	Morte

4- Tabela de dados do NAbI-CPP

ordem	HC	S	Ida	Diag	St pré	Tmo pré	TP entre TMOs	TMO	SxD	Cd 34+	Cd 3+	Cd8+	Nadir N	Dia NN	N<500	Nadir P	Dia NP	P<20
1	7632236	M	43	LMA	RC	0	0	12/07/01	F	5,26	218	89	170	10	7	51	9	0
2	6661369	M	37	MM	PD	1	517	16/08/01	M	5,44	85	25	160	14	10	29	12	0
3	6352805	M	51	LNH	PD	1	342	13/11/01	M	5,12	185	68	90	6	13	7	9	9
4	6925882	M	20	LNH	PD	1	911	09/01/02	F	5,25	237	110	580	8	0	46	12	0
5	7448538	M	61	MM	RP	1	128	27/08/02	M	6,95	173	59	200	8	8	43	10	0
6	7271468	M	46	MM	PD	1	480	12/09/02	M	6,85	191	43	370	6	3	33	9	0
7	6674273	M	50	LNH	PD	1	976	08/10/02	M	5,6	222	108	160	8	6	21	11	0
8	5229940	M	33	LH	PD	1	1145	19/11/02	M	7,31	147	52	300	10	4	59	13	0
9	8180947	M	36	LH	PD	1	558	20/11/02	F	4,52	168	67	1700	13	0	111	9	0
10	7473466	M	48	MM	PD	1	279	04/02/03	M	6,67	260	110	280	13	1	8	5	6
11	8034352	M	24	LNH	PD	1	244	02/04/03	M	2,52	345	151	510	5	0	53	8	0
12	7965875	M	43	MM	PD	1	186	17/06/03	F	4,07	254	76	100	6	9	37	10	0
13	8451146	M	50	LNH	PD	1	97	22/07/03	M	3,64	135	67	NA	NA	NA	NA	NA	NA
14	8476136	M	57	MM	PD	1	960	19/09/03	F	5,59	328	126	30	3	18	8	2	10
15	8256631	M	49	MM	PD	1	220	18/11/03	M	6,78	103	31	1200	9	0	108	10	0
16	6596758	M	54	LNH	PD	1	1552	17/02/04	M	6,26	399	162	100	10	10	21	11	0
17	7757492	M	47	MM	PD	1	340	23/03/04	F	4,14	404	278	180	6	7	94	8	0
18	7678058	M	28	LH	PD	1	488	23/04/04	M	5,6	200	73	300	11	2	33	11	0
19	6091962	F	27	LMC	PD	0	0	18/05/04	F	6,51	256	102	80	8	6	59	7	0
20	6625842	M	51	MM	PD	1	1509	08/06/04	M	4,29	512	223	580	5	0	194	9	0
21	8512651	F	58	MM	PD	1	192	25/08/04	M	5,2	415	142	210	4	11	69	9	0
22	5930503	M	53	MM	PD	1	1435	18/02/05	M	4,87	272	139	80	3	9	31	9	0
23	7731688	F		MM	PD	1	555	22/03/05	M	6,1	243	76	760	8	0	51	8	0
24	7843908	M	36	LH	PD	1	507	12/04/05	M	7,6	307	100	260	8	3	76	12	0
25	8052122	F	52	MM	PD	1	566	24/05/05	F	10,2	204	58	170	11	12	80	9	0
26	9110874	M	40	MM	RP	1	97	31/05/05	F	1,4	518	204	310	7	2	65	14	0

Mucosite	NPP	Infeção	Foco	Anti-F	Tx CH	Tx CP	DiaH	Q30	Q60	Q90	Q180	Q 360
0	0	0	0	0	0	0	16	C	C	C	C	C
0	0	Bact	cat	0	0	0	19	C	C	C	NA	NA
0	0	Bact	cat	0	6	8	14	C	C	C	NA	NA
0	0	Bact	cat	0	0	0	17	C	C	C	C	C
0	0	Bact	pulmão	0	0	0	17	C	C	C	C	C
0	0	Bact	cat	0	1	0	11	C	C	C	C	C
0	0	Bact	cat	0	1	0	17	C	C	C	C	NA
0	0	0	0	0	0	0	13	C	C	C	C	C
0	0	Bact	cat	0	0	0	17	C	C	C	C	NA
0	0	Bact	cat	0	1	2	15	M	M	C	C	C
0	0	0	0	0	0	0	10	C	C	C	C	C
0	0	Bact	pulmão	0	9	0	57	M	C	C	C	C
NA	NA	NA	0	NA	0	0	3	NA	NA	NA	NA	NA
0	0	Bact	sangue	0	4	6	19	NA	NA	NA	NA	NA
0	0	0	0	0	0	0	10	C	C	C	C	C
0	0	0	0	0	2	0	19	C	C	C	NA	NA
0	0	0	0	0	0	0	13	C	C	C	C	C
0	0	0	0	0	0	0	14	C	C	C	C	C
0	0	0	0	0	1	0	13	M	M	R	NA	NA
0	0	0	0	0	0	0	11	C	C	C	C	C
0	0	0	0	0	0	0	14	C	C	C	C	C
0	0	Bact	pulmão	0	0	0	14	C	NA	NA	NA	NA
0	0	0	0	0	0	0	10	C	C	C	NA	NA
0	0	0	0	0	0	0	13	NA	NA	NA	NA	NA
0	0	0	0	0	2	0	17	M	M	C	NA	NA
0	0	0	0	0	0	0	9	C	C	C	NA	NA

Q 2 anos	GVa	DiaGVa	GVc	DiaGVc	T-DLI	1a. DLI	Causa	Situação	DtFup	Dias seg	Causa do óbito	Causa 2	StatusDi
C	3	83	2	422	0	0	0	1		1397			RC
NA	4	81	NA	NA	0	0	0	1		122	GV a		PD
NA	3	31	NA	NA	0	0	0	1		133	GV a		PD
C	0	0	0	0	0	0	0	0	13/10/2005	1373			RC
C	0	0	2	135	4	455	PR	1		1043	PD		PD
C	0	0	1	167	0	0	0	0	6/10/2005	1115			MBRP
NA	0	0	0	0	0	0	0	1		285	Inf. Bact.		RC
C	2	72	1	352	0	0	0	0	6/10/2005	1052			PD
NA	1	63	0	0	0	0	0	1		205	Inf. Bact.		RC
NA	3	81	2	420	1	65	QM	1		512	GVHD cr	Inf. Bact.	MBRP
NA	0	0	0	0	4	134	PR	1		566	PD		PD
C	0	0	2	114	1	47	QM	0	13/10/2005	839			MBRP
NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1		3	PD		NA
NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1		19	Inf. Bact.		NA
NA	0	0	2	132	1	115	PR	0	13/6/2005	682			MBRP
NA	2	48	2	106	0	0	0	1		156	Inf. Viral CMV		RC
NA	2	75	2	159	0	0	0	1		457	GVHD cr	Inf. Bact.	MBRP
NA	0	0	0	0	0	0	0	0	6/10/2005	531			PD
NA	0	0	0	0	2	77	QM	0		156	PD		PD
NA	0	0	0	0	0	0	0	0	13/10/2005	492			MBRP
NA	0	0	2	134	0	0	0	0	13/10/2005	414			MBRP
NA	0	0	NA	NA	NA	0	0	1		47	Inf. Fung CRIPTO		MBRP
NA	0	0	2	114	0	0	0	0	6/10/2005	198			MBRP
NA	0	0	0	0	0	0	0	0	13/10/2005	183			RC
NA	2	69	100	100	0	0	0	0	6/10/2005	135			MBRP
NA	2	71	100	100	0	0	0	0	13/10/2005	128			MBRP

5- Tabela de dados do Abl-CPP

HC	S	SxD	Diag	Dx	FasDx	Ida	TMO	Pe1	NN	DiaN	D<500	Pe2	NP	DiaN	D<20
7623530	2	1	LMC	43	31	41	26/jul/01	15	10	5	13	13	5	9	5
7605342	1	2	LMA	10	3	43	24/set/01	14	10	6	10	11	10	7	7
7744047	1	2	LMA	11	4	14	19/nov/01	12	10	5	5	14	3	7	7
7183746	1	2	LMC	43	31	43	24/jan/02	20	40	5	13	13	12	8	3
7826625	1	1	LMC	43	31	42	18/fev/02	17	60	5	14	13	5	8	5
7718331	1	2	LMA	12	3	30	11/mar/02	13	30	2	13	14	9	8	10
7908071	1	2	LLA	20	4	19	22/abr/02	22	30	4	21	36	8	4	14
4853849	2	1	LLA	22	4	44	23/mai/02	15	30	4	15	13	8	7	5
7468291	2	2	SMD	52	1	42	14/jun/02	14	20	4	15	14	3	8	8
7599064	1	2	LLA	23	7	20	26/ago/02		NA	NA	NA		NA	NA	NA
7808332	1	1	LMC	43	36/FA	56	30/ago/02	28	40	4	20	20	9	6	8
7848726	1	2	LLA	22	3	37	12/set/02	16	10	3	13	16	14	6	6
7646687	2	2	LMC	43	31	43	15/out/02	16	10	6	12	14	2	9	4
7404536	1	2	LMC	43	31	54	10/out/02	22	30	7	13	18	14	9	4
7904259	2	2	LMC	43	31	35	12/dez/02	14	20	6	10	16	11	8	3
7733567	2	2	LMC	43	31	54	27/fev/03	17	20	6	8	15	14	8	3
8211465	1	2	LMC	43	31	38	17/mar/03	23	20	4	19	22	15	11	3
8302076	2	2	SMD	52	1	38	24/mar/03	14	30	3	23	18	1	6	15
8447345	2	2	LMA	12	4	39	12/jun/03	12	10	6	9	17	10	9	5
7413719	2	2	LLA	22	4	28	10/jul/03	20	20	2	25	24	3	6	9
5294517	2	1	LMC	43	36	32	25/ago/03	14	10	4	13	22	2	7	13
9270352	1	1	LMC	43	36(2FC)	25	18/set/03	17	30	4	11	17	8	6	8
8537219	2	1	LLA	26	41	40	16/set/03	23	10	2	14	17	5	7	6
8514726	2	1	LMA	15	3	42	2/out/03	13	10	4	11	15	7	7	6
8482270	1	2	LMA	15	3	32	6/out/03	16	30	4	15	19	10	7	7
8105082	2	2	LMC	43	36/FA	52	9/out/03	13	20	4	13	14	9	6	8
8499124	1	2	LMA	10	1	36	16/dez/03	19	10	4	17	18	10	9	10
8459794	1	2	LMC	41	36(2FC)	43	15/jan/04	19	20	7	14		4	6	22
8651047	1	1	LLA	21	4	44	27/jan/04	n	10	1	NA	n	4	3	NA
8778873	2	1	LLA	26	6	28	6/jul/04	n	10	1	NA	n	11	5	NA
3654377	1	2	LMC	43	31	36	7/jul/04	13	20	3	10	18	10	7	6
8760628	1	1	LLA	26	3	29	31/ago/04	25	10	2	23	26	11	2	19
8740288	1	2	LLA	23	3	37	8/set/04	n	40	2	12	n	10	5	4
8863351	1	2	LLA	26	7	23	22/set/04	n	10	1	23	n	3	6	19
6965371	2	2	LLA	23	6	44	29/set/04	n	10	2	18	n	8	3	13
8961452	1	2	LLA	26	6	31	24/nov/04	13	50	3	12	14	8	6	7
8713980	2	1	LMA	12	6	60	25/nov/04	15	10	2	17	19	6	7	14
8934768	2	2	LMA	11	4	28	2/dez/04	18	20	4	15	23	13	11	7
8709898	1	2	LLA	23	5	44	7/dez/04	n	30	2	14	n	8	9	11
8992786	2	2	LMA	11	7	52	13/jan/05	18	20	4	17	23	13	11	7
8459285	2	1	LMC	43	31	40	3/fev/05	21	30	4	18	34	6	6	11
8441238	1	1	LMC	43	36	47	20/jan/05	18	50	5	15	19	7	8	6
8180383	1	2	LMA	12	4	42	20/abr/05	NA	40	6	5	NA	4	6	4
8906737	1	1	LMC	43	31	34	19/mai/05	25	60	5	23	25	9	6	32
8767016	1	1	LMC	43	36	36	23/jun/05	22	30	5	20	35	7	5	16
8701854	1	1	LMC	43	31	26	18/ago/05	14	30	4	10	14	6	8	4

9222112	2	2	LMA	15	3	40	8/set/05	20	30	4	NA	1		8	22
---------	---	---	-----	----	---	----	----------	----	----	---	----	---	--	---	----

Muco	NPP	Infec	Anti-F	Tx CH	TxCP	VOD	DiaH
4	23	B	0	9	4	0	49
2	0	FB	0	0	1	0	16
1	0	B	375	2	5	0	23
4	3	B	0	3	4	0	21
4	0	B	0	4	10	0	18
4	19	B	0	11	18	3	20
4	14	FB	325	22	4	0	37
1	0	B	0	2	2	0	16
3	0	B	0	6	2	0	29
NA	NA	FB	675	NA	NA	NA	2
2	0	B	0	31	5	2	31
4	12	B	0	4	3	0	17
4	9	B	0	3	1	0	19
3	0	B	0	2	10	0	25
4	9	B	0	4	5	2	21
3	4	B	0	1	1	0	29
4	12	B	0	2	1	0	25
2	15	FB	375	17	20	3	28
4	8	B	0	1	1	0	20
4	15	FB	450	4	6	0	24
4	11	B	0	4	10	2	24
2	0	B	0	2	6	0	17
3	20	FB	900	12	8	0	53
4	8	B	0	0	2	0	18
4	10	B	0	0	2	0	22
2	2	B	0	4	2	0	15
4	12	B	0	6	4	0	22
4	5	B	0	15	13	0	20
4	3	B	NA	2	2	0	6
4	7	FB	950	12	11	3	10
4	4	B	0	4	2	0	21
4	9	B	0	3	5	0	28
4	4	FB	325	4	4	0	9
4	14	FB	425	22	20	3	14
4	10	FB	1075	14	12	3	15
4	6	B	0	0	1	0	16
4	10	B	0	7	6	0	20
4	7	B	0	3	6	0	21
4	11	FB	325	5	12	0	14
1	0	FB	525	0	3	0	20
2	15	B	0	10	8	2	37
4	5	B	0	0	6	0	19
2	NA	B	0	4	4	NA	7
4	46	FB	975	32	36	3	88
4	18	FB	625	11	12	0	36
2	5	B	0	1	1	0	15
4	18	FB	475	12	20	3	26

Óbito	Causa	En	Con	Cl's Nucl	Cd 34+	ProfGv	GVa	DiaGVa	GVc	DiaGVc	Dt Fup	StatusDi	Sit	overall-tmo	Svida (TMO)	SGloB (Dx)
25/out/2001	21	22	51	7	5,51	7	2	40	NA	NA	25/out/2001	RC	1	91	91	1532
		22	51	4,04	5,1	7	0	100	2	281	05/set/2005	RC	0	1442		1628
		22	51	5,6	2,83	7	2	24	2	226	04/out/2005	RC	0	1415		2470
14/abr/2002	30	22	51	3,82	6,91	7	0	80	NA	NA	14/abr/2002	RC	1	80	80	730
		22	51	11,64	4,15	7	0	100	2	260	18/out/2005	RC	0	1338		1999
11/abr/2002	21	22	58	3,2	5,73	7	2	31	NA	NA	11/abr/2002	RC	1	31	31	252
		22	58	3,34	4,53	7	0	100	2	395	27/out/2005	RC	0	1284		3126
17/ago/2002	50/31	22	58	6,08	9,21	7	4	25	NA	NA	17/ago/2002	RCC	1	86	86	2740
08/ago/2002	103	22	51	5,33	2,46	7	0	55	NA	NA	08/ago/2002	NA	1	55	55	601
28/ago/2002	101	22	58	3,84	3,87	7	NA	NA	NA	NA	28/ago/2002	NA	1	2	2	539
18/dez/2002	70	22	51	4,25	2,15	7	2	90	P	101	18/dez/2002	relapse	1	110	110	612
		22	58	4,4	3,45	7	0	100	2	543	17/out/2005	RC	0	1131		1430
11/mai/2003	60	22	51	3,7	3,56	7	2	90	2	101	11/mai/2003	RC	1	208	208	704
08/abr/2003	31	22	51	4,07	3,13	7	2	70	2	101	08/abr/2003	RC	1	180	180	882
03/fev/2003	50	22	51	7,5	7,88	7	4	38	NA	NA	03/fev/2003	RC	1	53	53	568
17/jan/2005	31	22	51	9,33	6,53	7	2	39	2	208	17/jan/2005	RC	1	690	690	1356
15/dez/2003	60	22	51	12,9	2,47	7	0	100	2	148	15/dez/2003	RC	1	273	273	815
21/abr/2003	82	22	51	3,86	2,48	7	0	28	NA	NA	21/abr/2003	NA	1	28	28	104
		22	51	3,08	1,88	7	2	61	2	357	18/ago/2005	RC	0	798		1007
14/ago/2003	32	22	52	3,02	2,2	7	0	35	NA	NA	14/ago/2003	RC	1	35	35	862
		22	51	12,11	7,28	7	0	100	1	238	23/out/2005	RC	0	790	519	3272
02/dez/2003	88	22	51	11,76	6,58	7	3	62	NA	NA	02/dez/2003	RC	1	75	75	377
08/nov/2003	22	22	58	8,76	3,85	7	0	53	NA	NA	08/nov/2003	PD	1	53	53	733
		22	51	14,02	9,19	7	0	100	0	692	24/ago/2005	RC	0	692	692	963
		22	58	5,46	7,34	7	0	100	2	163	07/out/2005	RC	0	732		730
		22	51	6,16	2,36	7	0	100	2	178	05/out/2005	RC	0	727		937
30/mar/2004	70/34	22	58	5,67	7,03	7	0	100	NA	NA	30/mar/2004	PD	1	105	105	273
20/jun/2004	103	22	51	5,25	2,24	7	3	59	P	101	20/jun/2004	RC	1	157	157	491
02/fev/2004	84	22	902	2,85	3,96	7	na	NA	NA	NA	02/fev/2004	NA	1	6	6	508
16/jul/2004	86	22	902	7,72	7,16	7	NA	NA	NA	NA	16/jul/2004	NA	1	10	10	178
24/set/2004	23	22	51	3,79	3,11	7	2	36	NA	NA	24/set/2004	RC	1	79	79	1110
		22	902	3,35	2,54	7	0	100	0	176	03/out/2005	RC	0	398		335
17/set/2004	20	22	52	3,7	2,87	7	NA	NA	NA	NA	17/set/2004	NA	1	9	9	215
06/out/2004	82	22	902	5,33	5,94	7	NA	NA	NA	NA	06/out/2004	NA	1	14	14	2219
14/out/2004	82	22	902	4,05	2,81	7	NA	NA	NA	NA	14/out/2004	NA	1	15	15	78
03/set/2005	34	22	902	4,51	3,36	7	0	100	0	0	03/set/2005	RC	1	283	283	495
24/mai/2005	70	22	51			7	0	100	0	0	24/mai/2005	PD	1	180	180	451
		22	51	4,23	2,15	7	0	100	2	291	26/out/2005	RC	0	328		1122
21/dez/2004	21	22	902	4	2,12	7	na	NA	na	NA	21/dez/2004	recidiva	1	14	14	328
		22	51	4,04	3,5	7	2	29	2	278	25/out/2005	RC	0	285		349
30/abr/2005	40	22	51	4,7	4,9	7	0	86	NA	NA	30/abr/2005	RC	1	86	86	689
		22	51	3,46	4,39	7	0	100	0	180	26/out/2005	RC	0	279		811
27/abr/2005	21	22	51	4,6	2,3	7	NA	NA	NA	NA	27/abr/2005	RC	1	7	7	965
15/ago/2005	21	22	51	4	2,87	7	0	NA	NA	NA	15/ago/2005	NA	1	88	88	748
		22	51	5,89	3	7	0	0	2	124	27/out/2005	RC	0	126		723
		22	51	5,1	5,7	7	0	0	NA	NA	20/out/2005	RC	0	63		736
04/out/2005	34	22	51	4,7	2,07	7	NA	NA	NA	NA	04/out/2005	RC	1	26	26	120

6- Classificação das mucosites

TOXICIDADE	GRAU 0	GRAU 1	GRAU 2	GRAU 3	GRAU 4
ORAL	nenhuma	irritação local/ eritema	eritema,estomatite; pode ingerir alimen- tos sólidos	estomatite; necessidade de dieta líquida	impossibilidade de se alimentar