

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIANE MORANDO

IMPACTO DA RECUPERAÇÃO LINFOCITÁRIA NA OCORRÊNCIA DE RECAÍDA
PÓS-TRANSPLANTE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM LEUCEMIA
AGUDA

CURITIBA
2011

JULIANE MORANDO

IMPACTO DA RECUPERAÇÃO LINFOCITÁRIA NA OCORRÊNCIA DE RECAÍDA
PÓS-TRANSPLANTE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM LEUCEMIA
AGUDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Medicina Interna, área de concentração: Transplante de Medula Óssea.

Orientador: Prof. Dr. José Zanis Neto.

CURITIBA
2011

Morando, Juliane

Impacto da recuperação linfocitária na ocorrência de recaída pós-transplante em crianças e adolescentes com leucemia aguda / Juliane Morando. Curitiba, 2011.

68 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: José Zanis Neto

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna do Departamento de Clínica Médica do Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. Leucemia. 2. Transplante. 3. Linfócitos. I. Título. II. Zanis Neto, José.

NLM WO 660

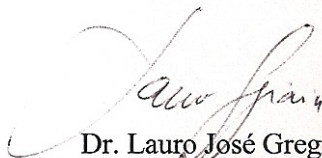


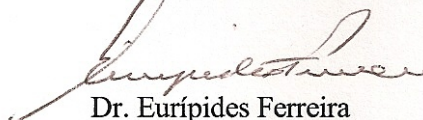
Ministério da Educação
Universidade Federal do Paraná
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA INTERNA
= MESTRADO e DOUTORADO =

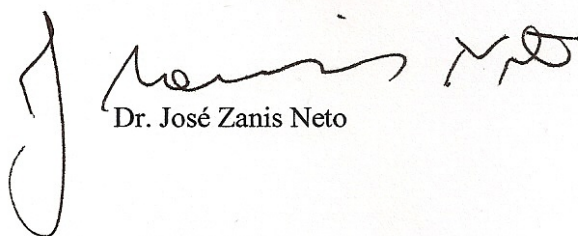
PARECER

Aos dois dias do mês de setembro do ano de dois mil e onze, a banca examinadora constituída pelos Professores Dr. Lauro José Gregianin, Dr. Eurípides Ferreira e Dr. José Zanis Neto, exarou o presente parecer sobre a dissertação elaborada por **JULIANA MORANDO**, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna – Mestrado e Doutorado, da Universidade Federal do Paraná, intitulada: “**IMPACTO DA RECUPERAÇÃO LINFOCITÁRIA NA OCORRÊNCIA DE RECAÍDA PÓS-TRANSPLANTE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM LEUCEMIA AGUDA**”. A Banca examinadora considerou que **JULIANA MORANDO** apresentou trabalho adequado para dissertação e o defendeu com segurança e propriedade nas argüições que lhe foram feitas, de modo a merecer a sua **aprovação**, sendo recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Mestre em Medicina Interna** e a publicação de artigo em revista técnico-científica com corpo editorial, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das argüições, cumpridas outras exigências previstas em normativas da pós-graduação.

Curitiba, 02 de setembro de 2011.


Dr. Lauro José Gregianin


Dr. Eurípides Ferreira


Dr. José Zanis Neto

Ao meu marido Marcelo pelo exemplo de dedicação e pelo apoio e amor.

Aos meus pais pelos exemplos de vida, de amor e de caráter.

À minha irmã Daniele pelo exemplo de médica e pelo carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. José Zanis Neto, pela orientação, compreensão e estímulo para realização dessa pesquisa.

À Dra. Carmem Maria Sales Bonfim pelo auxílio, amizade, estímulo e pelo exemplo de docência e medicina.

Ao Dr. Sergio Costa Fortier, pela grande colaboração e minuciosa análise estatística.

A toda a equipe do Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio e compreensão nos momentos em que necessitei estar ausente.

Às secretárias Cláudia e Cléia do Serviço de TMO do Hospital de Clínicas da UFPR por sua dedicação e disposição em ajudar sempre.

À equipe do Serviço de Arquivo pelo auxílio com os prontuários médico e por sua presteza e compreensão.

Agradecimento especial aos pacientes e seus familiares pela sua ajuda e seus ensinamentos de vida.

“O mais importante da vida não é a situação em que estamos, mas a direção para a qual nos movemos.”

Oliver W. Holmes

RESUMO

Introdução: A leucemia aguda é a neoplasia mais comum da infância (PIZZO, 2006). Apesar da melhoria atingida na sobrevida, com o avanço da QT, muitos pacientes apresentam recaída da doença ou fatores de alto risco e necessitam ser submetidos a TCTH (THOMAS, 2004). Estudos recentes revelam que a recuperação precoce de linfócitos (no dia +30) pode ser um preditor de recaída e sobrevida para estes pacientes (SAVANI, 2007; KIM 2004).

Objetivo: analisar o impacto da recuperação linfocitária precoce na ocorrência de recaída da leucemia após o TCTH e na sobrevida dos pacientes.

Métodos: Estudo descritivo, retrospectivo de 143 pacientes menores de 21 anos, submetidos a TCTH por leucemia aguda, no período de 1995 a 2008. Foi analisada a contagem de linfócitos no hemograma do dia+30 pós-transplante. Os pacientes com contagem linfocitária inferior a $300/\text{mm}^3$ foram considerados com recuperação linfocitária precoce (RLP) ruim e os pacientes com linfócitos $\geq 300/\text{mm}^3$ foram considerados com RLP adequada. Também foi avaliada a recuperação linfocitária no dia +100 (RL+100), sendo considerados com RL+100 ruim aqueles que apresentaram linfócitos $< 750 \times 10^9/\text{L}$ e adequada os com RL+100 $\geq 750/\text{mm}^3$.

Resultados: Não foi observado impacto da RLP no dia +30 na ocorrência de recaída pós-TCTH. A MRT foi significativamente superior no grupo de pacientes com RLP ruim. Os pacientes que apresentaram RLP $< 300/\text{mm}^3$ apresentaram pior SG e SLE que aqueles com RLP $\geq 300/\text{mm}^3$. Não foi observada diferença significativa na ocorrência de infecções oportunistas e de DECH aguda ou crônica entre os grupos. Quando analisados somente os pacientes com LMA, observamos diferença significativa na SG e SLE entre os grupos de RLP ruim x adequada. Os pacientes com RL+100 $< 750/\text{mm}^3$, apresentaram pior SG, SLE e maior ocorrência de recaída que os pacientes com RL+100 adequada. **Conclusão:** A avaliação de RLP no dia +30 não se mostrou um bom preditor de recaída nos pacientes com leucemia aguda pós-TCTH, entretanto, os pacientes com RLP no dia +30 $< 300/\text{mm}^3$ evoluíram com pior SG e SLE. A análise dos linfócitos no dia+100 pode ser correlacionada com maior risco de recaída e pior SG e SLE nos pacientes com RL+100 ruim.

Palavras-chave: leucemia aguda, transplante pediátrico, recuperação linfocitária.

ABSTRACT

Introduction: Acute leukemia is the most common malignancy of childhood (PIZZO, 2006). Despite improvements in survival achieved with the advance of chemotherapy, many patients experience relapse of disease or present poor risk factors and need to undergo HSCT (THOMAS, 2004). Recent studies had shown that early lymphocyte recovery (on day+30) may be a predictor of relapse and survival for these patients (SAVANI, 2007; KIM, 2004)).

Objective: to analyze the impact of early lymphocyte recovery in the occurrence of leukemia after HSCT. Methods: This is a retrospective study of 143 patients, under 21 years, who underwent HSCT for acute leukemia between 1995 and 2008. We analyzed the lymphocyte count in blood on day+30 post-transplant. Patients with lymphocyte counts less than $300/\text{mm}^3$ were considered with poor early lymphocyte recovery (ELR) and patients with lymphocyte $\geq 300/\text{mm}^3$ were considered with adequate ELR. We also analyzed the lymphocyte recovery on day +100 (LR+100), and LR+100 was considered poor in those with lymphocytes counts $< 750/\text{mm}^3$ and adequate in those with LR+100 $\geq 750/\text{mm}^3$

Results: No impact was observed of ELR+30 in the occurrence of relapse after HSCT. The TRM was significantly higher in patients with poor ELR. Patients who presented ELR $< 300/\text{mm}^3$ had a worse OS and EFS than those with ELR $\geq 300/\text{mm}^3$. There was no significant difference in the occurrence of opportunistic infections and acute or chronic GVHD between the groups. When we analyze only patients with AML, there was significant difference in OS and EFS between the groups. Patients with poor lymphocyte recovery on day+100 had worse SG, SLE and presented higher occurrence of relapse. Conclusion: The evaluation of ELR on day +30 was not a good predictor of relapse in patients with acute leukemia, however, patients with ELR $< 300/\text{mm}^3$ presented worse OS and EFS. The poor LR on day+100 can be correlated with increased risk of relapse and worst OS and EFS.

Key words: acute leukemia, pediatric transplantation, lymphocyte recovery

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	CLASSIFICAÇÃO FAB - LMA	20
TABELA 2	CLASSIFICAÇÃO CITOGENÉTICA DE RISCO PARA LMA	21
TABELA 3	ESTADIAMENTO CLÍNICO DA DECH AGUDA	32
TABELA 4	REGIMES DE CONDICIONAMENTO E IMUNOPROFILAXIA	34
TABELA 5	CARACTERÍSTICAS GERAIS PACIENTES E DOADORES	36
TABELA 6	ANÁLISE UNIVARIADA DE SG E SLE	42
TABELA 7	CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES EM RELACAO AOS GRUPOS DE RECUPERAÇÃO DE LINFÓCITOS NO DIA+30	43
TABELA 8	ANÁLISE UNIVARIADA PARA RLP+30 E RL+100	47
TABELA 9	CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES EM RELACAO AOS GRUPOS DE RECUPERAÇÃO DE LINFÓCITOS NO DIA+100	48

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	Sobrevida Global de todos os pacientes	39
GRÁFICO 2	Incidência cumulativa de recaída de todos os pacientes	39
GRÁFICO 3	Incidência cumulativa de MRT de todos os pacientes	40
GRÁFICO 4	SLE comparando status doença no TCTH	41
GRÁFICO 5	SG comparando status doença no TCTH	41
GRÁFICO 6	SG comparando grupos de RLP dia+30	43
GRÁFICO 7	SLE comparando grupos de RLP dia+30	43
GRÁFICO 8	Incidência cumulativa de MRT comparando grupos de RLP dia+30	44
GRÁFICO 9	SG pacientes transplantados com doador aparentado	44
GRÁFICO 10	SG pacientes transplantados com células de medula óssea	45
GRÁFICO 11	SG pacientes com LMA, comparação entre os grupos de RLP dia+30	46
GRÁFICO 12	SLE pacientes com LMA, comparação entre os grupos de RLP dia+30	46
GRÁFICO 13	SG Pacientes submetidos a TCTH com doadores aparentados e com células de medula óssea	46
GRÁFICO 14	SLE pacientes submetidos a TCTH aparentados e com células de medula óssea	46
GRÁFICO 15	SLE pacientes avaliáveis para RL dia +100 comparando os grupos	48
GRÁFICO 16	Comparação Incidência Cumulativa recaída entre os grupos	49
GRÁFICO 17	Comparação SG entre os grupos de RL dia+100 somente nos pacientes com LLA	49
GRÁFICO 18	. Comparação SLE entre os grupos de RL dia+100 somente nos pacientes com LLA	49
GRÁFICO 19	Comparação SLE entre os grupos de RL dia+100 somente nos pacientes TCTH não aparentado	50
GRÁFICO 20	Comparação SG entre os grupos de RL dia+100 somente nos pacientes TCTH não aparentado	50
GRÁFICO 21	Comparação SLE somente pacientes transplantados com células de medula óssea	50
GRÁFICO 22	SLE pacientes submetidos a TCTH não aparentado com células de medula óssea	51
GRÁFICO 23	SLE pacientes com doença precoce, comparação entre os grupos de RL dia +100	52
GRÁFICO 24	IC recaída somente pacientes com doença precoce, comparação entre os grupos de RL dia +100	52

LISTA DE ABREVIATURAS

BUS	Bussulfano
CFA	Ciclofosfamida
CMV	Citomegalovírus
CNT	Células nucleadas Totais
CSA	Ciclosporina
CTC	Corticóide
D+	Dia após o transplante
DECH	Doença do enxerto contra o hospedeiro
EBV	Epstein Baar Vírus
EVL	Efeito enxerto versus Leucemia
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i>
IAT	Imunoglobulina anti-timocítica
ICT	Irradiação Corporal Total
LLA	Leucemia Linfóide Aguda
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
MO	Medula óssea
MRT	Mortalidade Relacionada ao Transplante
MTX	Metotrexate
NK	Células <i>Natural Killer</i>
RC	Remissão clínica
RL+100	Recuperação Linfocitária dia +100
RLP+30	Recuperação Linfocitária Precoce dia +30
SC	Sangue de cordão umbilical
SG	Sobrevida Global
SLE	Sobrevida Livre de Eventos
SMD	Síndrome mielodisplásica
SP	Sangue periférico
TCTH	Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas
VNTR	Variable Number Tandem Repeat

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
g/dL	Gramas por decilitro
mm ³	Milímetro cúbico
μL	Microlitro
L	Litro
Kg	Kilograma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 JUSTIFICATIVA	12
1.2 OBJETIVOS.....	15
1.2.1 Objetivo Principal:	15
1.1.2 Objetivos Secundários:	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 LEUCEMIAS AGUDAS	16
2.2 LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA	16
2.3 LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA.....	19
2.4 TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS.....	21
2.5 RECUPERAÇÃO LINFOCITÁRIA PÓS-TRANSPLANTE.....	26
3 METODOLOGIA DE PESQUISA	29
3.1 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA	29
3.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA DA PESQUISA (PACIENTES E MÉTODOS)	29
3.2.1 Pacientes e Doadores:.....	29
3.2.2 Análise de compatibilidade:.....	30
3.2.3 Avaliação de pega, DECH e recaída:.....	31
3.2.4 Avaliação de sobrevida e mortalidade relacionada ao transplante:	32
3.2.5 Regimes de condicionamento e informações sobre doadores:.....	32
3.2.6 Cuidados de suporte:	34
3.2.7. Análise de recuperação linfocitária:.....	34
3.2.8 Análise estatística:	35
4. RESULTADOS	36
4.1 DADOS RELATIVOS AOS PACIENTES, TRANSPLANTES E COMPLICAÇÕES:	36
5.2 DADOS RELATIVOS A SOBREVIDA, MORTALIDADE E RECAÍDA:.....	38
5.3. RECUPERAÇÃO LINFOCITÁRIA PRECOCE NO DIA+30 PÓS-TCTH:	42
5.4. ANÁLISE DA RECUPERAÇÃO LINFOCITÁRIA NO DIA +100:.....	47
6 DISCUSSÃO	53
7 CONCLUSÕES	58
8. REFERÊNCIAS.....	59
APÊNDICE	65
APÊNDICE 1 FICHA DE COLETA DE DADOS.....	65
APÊNDICE 2 ANÁLISE RLP DIA+30 E RL DIA+100 SOMENTE NOS PACIENTES COM DOENÇA PRECOCE	66

1 INTRODUÇÃO

1.1 JUSTIFICATIVA

A leucemia aguda é a neoplasia maligna mais comum da infância, correspondendo a 25-30% dos casos de câncer em pacientes menores de 14 anos. A leucemia linfóide aguda (LLA) é a mais freqüente, sendo responsável por 75% dos casos, já a leucemia mieloide aguda (LMA) ocorre em 15-20% dos casos (PIZZO, 2006).

Estima-se que, mesmo com os avanços nos esquemas de tratamento e nas medidas de suporte, a expectativa de sobrevida livre de doença ainda varia de 35% a 60%, nos pacientes com LMA. Apesar do elevado índice de remissão atingido nestes pacientes, 20 a 30% deles apresentam recaída, principalmente nos primeiros 5 anos após o tratamento (PIZZO, 2006).

O tratamento quimioterápico utilizado por longos períodos aumentou drasticamente a sobrevida das crianças e adolescentes com leucemia, porém, nos casos de doença agressiva ou de recaída, o transplante de células hematopoiéticas (TCTH) é a principal alternativa curativa. Os resultados de diferentes estudos sugerem que o transplante alogênico de medula óssea pode curar até 50% a 60% dos seus receptores (THOMAS, 2004).

As principais indicações de TCTH são: LLA em primeira remissão com fatores de mau prognóstico (falha de resposta à terapia de indução e alterações citogenéticas de mau prognóstico ou complexas) ou em remissões subseqüentes e LMA em primeira remissão com fatores de mau prognóstico, em remissões seguintes ou em recaída (THOMAS, 2004).

O TCTH alogênico aparentado é a opção de escolha para a maioria dos pacientes já que está relacionado com menor número de complicações, porém, menos de 30% dos candidatos têm um doador aparentado compatível. Com o surgimento dos bancos de doadores voluntários de medula óssea, a chance de se conseguir um doador não relacionado compatível para a realização do procedimento aumentou consideravelmente (SZYDLO, 1997).

O TCTH alogênico é efetivo para as doenças malignas através de dois mecanismos principais: redução do volume de doença pelo regime de

condicionamento e eliminação da doença residual mínima pelo efeito enxerto versus leucemia (EVL) (SCHOLL, 2005).

A resposta imune contra os antígenos de tecidos ou órgãos transplantados é dirigida contra as moléculas do HLA (*Human leukocyte antigen*), por isso, a compatibilidade HLA entre doador e receptor está associada à melhor sobrevida do enxerto e menores complicações após o transplante. Em transplantes de medula óssea alogênicos o pareamento dos alelos HLA-A, B, C e DRB1 são fundamentais para o sucesso do transplante, visto que apresentam impacto na ocorrência de doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) e mortalidade, principalmente quando se trata de transplantes não aparentados (FLOMENBERG, 2004).

A eficácia clínica do transplante de células tronco hematopoiéticas muitas vezes é limitada pela demora da recuperação imune, resultando em maior ocorrência de infecções. Estudos mostram uma recuperação de linfócitos T e B é mais lenta nos pacientes que recebem terapia imunossupressora mais intensa. Além disso, a ocorrência de DECH e a infecção por citomegalovírus (CMV) são fatores que influenciam negativamente a recuperação imune (KALWAK, 2002).

Sabe-se que após um TCTH, a contagem total dos linfócitos retorna ao normal em aproximadamente 3 meses. Entretanto, o número total de células T só retorna ao normal após 12 meses, especialmente as células T CD34+, sendo que este tempo pode ser ainda maior se o paciente apresentar DECH. As células CD8+ normalizam-se mais precocemente (KUMAR, 2003).

No período precoce pós transplante as células *natural killer* (NK) aumentam de número rapidamente, e, estas correspondem à maior parte das células mononucleares da periferia. As células NK são responsáveis pelo efeito EVL precoce e, a recuperação lenta destas células está associada a um maior risco de recaída da doença (SHILLING, 2003).

Alguns estudos já mostraram a importância da recuperação linfocitária precoce após o transplante de células tronco hematopoiéticas e relacionam esta recuperação com melhor sobrevida, menores índices de recaída e menor mortalidade relacionada ao transplante. Uma contagem adequada de linfócitos no D+30 do TCTH alogênico tem um significado importante na sobrevida dos pacientes com leucemia e está relacionada a menores taxas de mortalidade não relacionada à recaída e menores taxas de recaída (SAVANI, 2007).

Ainda, as infecções oportunistas, na fase precoce pós-transplante, estão diretamente relacionadas à recuperação imune. A linfopenia já é aceita como fator de risco para se desenvolver infecção por CMV e uma contagem linfocítica no período precoce pós-transplante pode ser um indicador que define grupos de alto risco para infecções oportunistas e para recaída. Estudos mostram que o grupo de pacientes que apresentou baixa contagem de linfócitos no período precoce pós-transplante teve nove vezes mais chance de apresentar uma infecção oportunista grave, indicando a necessidade de maior observação e instituição de medidas de prevenção e diagnóstico precoce (KIM, 2004).

O uso de drogas imunossupressoras para prevenção ou tratamento da DECH aumenta de maneira importante o risco de infecções, especialmente aquelas decorrentes da supressão da imunidade celular. Se o período de neutropenia se prolonga, o risco de infecções aumenta consideravelmente, predominando as infecções fúngicas e bacterianas (NUCCI, 2000).

A mortalidade relacionada ao transplante de medula óssea tem reduzido nos últimos anos. A mortalidade nos primeiros 100 dias após o transplante é de aproximadamente 5 a 35%, nos pacientes submetidos a transplantes alogênicos e varia com a doença de base, com o status da doença no momento do transplante, com as condições clínicas dos pacientes e com a década em que o TCTH foi realizado (BACIGALUPO, 2004).

Estudo mostra que a sobrevida global dos pacientes pediátrico submetidos à TCTH alogênico por leucemias aguda, em duas importantes instituições brasileiras, com doença precoce, é de aproximadamente 61% em 5 anos e que a mortalidade relacionada ao procedimento é de aproximadamente 16% (MORANDO, 2010).

Como a recaída é a principal causa de morte nos pacientes com leucemia aguda, principalmente naqueles com doença mais avançada, a identificação de fatores de risco para a ocorrência de recaída, principalmente fatores de fácil detecção, como a contagem de linfócitos na fase precoce de recuperação pós-transplante, permite a adoção de medidas preventivas para a recaída como a infusão de linfócitos do doador ou a diminuição das medicações imunossupressoras, na tentativa de aumentar o efeito EVL.

Se os dados aqui encontrados forem similares aos da literatura internacional, poderemos considerar a introdução de medidas de intervenção específicas para os pacientes com maior risco de recaída ou de morte por outras causas, como os já

citados acima, além de medidas profiláticas para infecções, nos pacientes que apresentarem características de maior risco, como aqueles com recuperação tardia dos linfócitos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Principal:

Avaliar a importância da recuperação linfocitária precoce (no dia +30) como preditor de risco de recaída nos pacientes com leucemia aguda submetidos a TCTH.

1.1.2 Objetivos Secundários:

Avaliar o impacto da recuperação linfocitária precoce (dia +30) nos seguintes desfechos:

- sobrevida global e sobrevida livre de eventos;
- mortalidade relacionada ao transplante.
- ocorrência de infecções (virais, bacterianas ou fúngicas).
- desenvolvimento de doença do enxerto aguda e crônica;

Avaliar o impacto da recuperação linfocitária no dia +100 na ocorrência de recaída pós transplante e na sobrevida global e livre de eventos dos pacientes.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 LEUCEMIAS AGUDAS

As leucemias agudas são a neoplasia mais comum da infância, correspondendo a 30% dos casos de câncer na faixa etária pediátrica. A doença decorre da proliferação e acúmulo de células imaturas e anormais na medula óssea, levando à supressão da função hematopoiética normal (PIZZO, 2006).

As manifestações clínicas das leucemias agudas podem ser explicadas pela fisiopatologia da doença, já que elas decorrem da inibição da hematopoiese pelas células leucêmicas e dos efeitos da infiltração leucêmica nos diversos órgãos e sistemas (BATHIA, 2003).

De acordo com a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) para neoplasias de origem dos tecidos hematopoiéticos e linfóides, que leva em consideração critérios morfológicos e imunohistoquímicos bem definidos, as leucemias agudas estão subdivididas em neoplasia mielóide aguda, neoplasia de células linfóides B, T ou NK e leucemia aguda de origem bifenotípica (PAES, 2002).

A leucemia linfocítica aguda (LLA) representa cerca de 75-80% dos casos em crianças e a leucemia mielóide aguda (LMA), cerca de 15-20% das leucemias. As leucemias agudas de origem bifenotípica correspondem a aproximadamente 2-3% dos casos (PIZZO, 2006)

2.2 LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA

A LLA é a neoplasia mais comum da infância, correspondendo a 75% das leucemias agudas. O pico de incidência acontece entre os 2 e 5 anos de idade (BATHIA, 2003; PIZZO, 2006).

Nos EUA são diagnosticados cerca de 4000 casos novos/ano e há predominância na população branca, na qual a neoplasia acomete 3-4/100.000 crianças (PUI, 2006).

No Brasil estima-se que esta incidência seja similar à dos demais países, com uma ocorrência de 1:25.000 indivíduos do grupo etário de 0 a 14 anos (BRASIL, 2010).

A etiologia permanece indeterminada, entretanto discutem-se como possíveis causas: exposição à irradiação, exposição a drogas antineoplásicas, alguns fatores genéticos e imunológicos e exposições a alguns vírus (HTLV, HIV e EBV) (PIZZO, 2006).

Aproximadamente 80-85% das LLA da infância são derivadas de células de linhagem B e cerca de 15% são derivadas de linfócitos de linhagem T. Além disso, aproximadamente 80% dos pacientes com LLA apresentam alterações numéricas ou estruturais dos cromossomos e o conhecimento destas alterações tem auxiliado na decisão de tratamento dos pacientes (BATHIA, 2003).

Nos últimos trinta anos houve uma melhora significativa no prognóstico das crianças portadoras de LLA. Atualmente, 70% a 80% das crianças recém-diagnosticadas apresentam uma boa sobrevida livre de doença e, uma grande parte destes pacientes alcançará a cura (PUI, 1998).

Nas crianças portadoras de LLA derivada de células B precursoras, a contagem inicial de leucócitos superior a $50.000/\text{mm}^3$ e a idade ao diagnóstico abaixo de um e acima de nove anos têm sido considerados como fatores prognósticos desfavoráveis na evolução. Outros fatores importantes no prognóstico destes pacientes são a presença de alterações citogenéticas ao diagnóstico e a resposta à terapia quimioterápica de indução (PUI, 2006).

Em relação às alterações citogenéticas nos pacientes com LLA-B, a presença de rearranjo BCR-ABL ou t(9;22) - cromossomo Philadelphia, rearranjo *MLL-AF4* ou t(4;11) e hipodiploidia (menos de 44 cromossomos) são consideradas alterações de mau prognóstico. A presença de hiperdiploidia (mais de 50 cromossomos), presença da fusão *TEL-AML1* e trissomia dos cromossomos 4, 10 e 17 são consideradas como relacionadas a bom prognóstico (PUI, 2006).

Nos pacientes com LLA derivada de células T a presença de um cromossomo derivativo na análise citogenética pode ser associada com pior sobrevida e a

presença de uma citogenética normal ou com t(10;14) foram associadas com melhores resultados de sobrevida (SCHNEIDER, 2000).

Apesar dos bons resultados atingidos com a quimioterapia, aproximadamente 20% a 30% das crianças apresentam recidiva da doença. Geralmente, a recidiva ocorre nos primeiros cinco anos após o diagnóstico, sendo a medula óssea o principal sítio da recidiva. Além disso, a recidiva é a principal causa de morte nos pacientes com leucemia aguda, seguida pelas infecções (PUI, 2006).

O TCTH é usualmente indicado para pacientes com LLA de linhagem B em primeira remissão clínica (RC1) que apresentaram alterações citogenéticas de mau prognóstico como: t(9;22), hipodiploidia extrema (<44 cromossomos) e rearranjo 11q23 e para aqueles que não alcançam a remissão após fase de indução quimioterápica. Dentre os pacientes com rearranjo MLL (11q23), o transplante só está indicado nos pacientes com resposta lenta à indução quimioterápica ou com doença residual positiva.

Os pacientes que se encontram em segunda remissão clínica (RC2) após uma recidiva medular precoce (antes de 36 meses do diagnóstico) também parecem se beneficiar do TCTH tanto aparentado quanto não aparentado. Os pacientes em RC2 que apresentaram recidiva tardia (>36 meses do diagnóstico) só devem ser candidatos a TCTH se tiverem doador aparentado totalmente compatível. (BEUTLER, 2001, PUI, 2006; METHA, 2008; SEBER, 2009). Para pacientes com LLA de linhagem T, o transplante deve ser considerado naqueles que apresentaram recidiva precoce, medular ou extramedular.

Estudo recente mostra que há benefício com o uso de TCTH aparentado compatível para pacientes com LLA de alto risco com t(9;22) em RC1 quando comparado com quimioterapia de alta dose (ARICO, 2000, HAHN, 2005). Os demais pacientes de alto risco (falha indutória ou com hipodiploidia) não têm um benefício bem estabelecido com esta opção terapêutica, visto que os resultados obtidos com quimioterapia intensiva são similares (DAVIES, 2008; METHA, 2008). Para os pacientes em RC2, o benefício do transplante é bem estabelecido nos pacientes com recaída precoce, que tenham um doador aparentado compatível (HAHN, 2005; DAVIES, 2008; METHA, 2008).

Nos pacientes com LLA, a escolha do regime de condicionamento contendo irradiação corporal total é de fundamental importância, com resultados superiores aos demais regimes de utilizados (HAHN, 2005; DAVIES, 2000).

2.3 LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

A leucemia mieloide aguda (LMA) é responsável por aproximadamente 15% das leucemias na infância e caracteriza-se pelo aumento de células imaturas mieloides na medula óssea.

Estima-se que a incidência nos EUA seja de 2,4:100.000 pessoas. A doença aumenta sua incidência com a idade, atingindo um pico de aproximadamente 12:100.000 na idade de 65 anos (LINET, 1999).

As LMA foram subdivididas em grupos de acordo com os critérios da FAB (French – American –British Classification) (LUSIS, 2000), como descrito na TABELA1:

TABELA 1 - Classificação LMA - FAB		
Subtipo	Especificação	Freqüência
LMA-M0	Leucemia mieloblástica com mínima diferenciação	3%
LMA-M1	Leucemia mieloblástica sem maturação	15-20%
LMA – M2	Leucemia mieloblástica com maturação	25-30%
LMA – M3	Leucemia Promielocítica hipergranular	5-10%
LMA – M4	Leucemia Mielomonocítica	20%
LMA – M4 Eo	Leucemia Mielomonocítica com eosinófilos anormais (variante eosinofílica)	5-10%
LMA – M5	Leucemia Monocítica	2-9%
LMA – M6	Leucemia Eritroleucemia	3-5%
LMA – M7	Leucemia Megacariocítica	3-12%

A sobrevida das crianças e adolescentes com neoplasia mieloide melhorou muito nos últimos anos com o melhor entendimento da doença e com o uso de tratamento quimioterápico mais intensivo. Estima-se que a sobrevida global dos pacientes tratados com quimioterapia seja de 45 a 66%. Entretanto, aproximadamente 1/3 destes pacientes apresenta recaída da doença (SHENOY, 2008).

TABELA 2. Classificação citogenética de risco para LMA

Baixo risco	t(8;21), inv (16), t(15;17), t(9;11) trissomia do 21(Sd. Down).
Risco intermediário	citogenética normal ou com outras anormalidades
Alto risco	5q- ou monossomias do 5 7q- ou monossomia do 7 translocações ou inversões do cromossomo 3 t(6;9) e t(9;22) anormalidades do cromossomo 11q23

As alterações citogenéticas estão relacionadas com prognóstico nos pacientes com LMA (TABELA 2) (HAMERSCHLAK, 2008). Outros fatores também relacionados a pior prognóstico são: classificação morfológica M0, M6 e M7, idade menor de 10 anos ao diagnóstico, contagem de leucócitos maior de 50.000/ μ l ao diagnóstico, falha de resposta ao tratamento de indução quimioterápica (presença de mais de 15% de blastos na medula óssea após primeira indução) e duração menor de 1 ano da primeira remissão (SHENOY, 2008).

Os pacientes que apresentam classificação citogenética de risco intermediário e de alto risco e que tem um doador aparentado compatível de medula óssea têm indicação de TCTH em primeira remissão clínica. Os pacientes de alto risco têm indicação de TCTH em RC1 mesmo com doador não aparentado, pois os resultados somente com quimioterapia são significativamente inferiores (WOODS, 2001).

Pacientes com LMA de bom prognóstico, ou seja, aqueles que apresentam alterações citogenéticas como a inv16 ou t(16;16), t(15;17), t(9;11), t(8;21) e os pacientes com Síndrome de Down habitualmente não têm indicação de TCTH, mesmo com doador aparentado compatível, pois os resultados com tratamento quimioterápico são similares, desde que atingida remissão clínica após a indução quimioterápica.

2.4 TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

O TCTH consiste na retirada de células tronco hematopoiéticas de um doador, preferencialmente HLA compatível, com o objetivo de enxertar estas células em um receptor para corrigir um defeito quantitativo ou qualitativo da medula óssea, restaurando ou substituindo o tecido doente por um sadio. (ZAGO, 2001).

Em 1968 foram realizados os primeiros transplantes alogênicos de células tronco hematopoiéticas, em três crianças com deficiência imune congênita (REISNER, 1983). No Brasil, o primeiro TCTH foi realizado em 1979, no Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, e estima-se que até hoje tenham sido realizados mais de cinco mil transplantes no país (relato direto).

As células tronco podem ser retiradas da medula óssea, sangue periférico ou sangue de cordão umbilical, de doador aparentado ou não aparentado. Para haver pega do enxerto com sucesso, estas células devem proliferar no receptor permanentemente e é preciso que o sistema imunológico do receptor tolere as células do doador, para não haver rejeição do enxerto e também que o sistema imunológico do doador tolere os tecidos do receptor a fim de evitar o desenvolvimento de doença do enxerto contra o hospedeiro (ZAGO, 2001).

Para garantir a eficiência do procedimento, são realizadas etapas importantes. Inicia-se pela escolha de um doador compatível, preferencialmente familiar. Não havendo possibilidade de se encontrar um doador familiar, totalmente compatível, parte-se para a busca de um doador alternativo (não familiar ou com alguma incompatibilidade no HLA). A segunda etapa é a escolha de um regime adequado de condicionamento, composto por quimioterápicos e/ou imunossupressores. Esta escolha é baseada na doença de base do receptor e no tipo de doador a ser utilizado, com o objetivo de reduzir ou erradicar uma doença maligna existente e induzir a imunossupressão no receptor para que este aceite o enxerto. A terceira etapa é a escolha da medicação imunossupressora profilática para a doença do enxerto contra o hospedeiro, também levando em consideração a doença do receptor e o tipo de doador e células tronco a serem utilizados (ZAGO, 2001; THOMAS, 2004).

O TCTH ganhou espaço no tratamento das leucemias devido ao conceito de que altas doses de quimioterapia poderiam ser administradas sem a consequência letal da mielotoxicidade. Entretanto com o entendimento da reatividade do sistema imune do doador contra o receptor, conhecido como efeito do enxerto contra a leucemia (EVL), foi possível associar fatores imunes ao potencial curativo do TCTH (FRY, 2010; SCHOLL, 2005).

A análise de compatibilidade entre receptor e doador é realizada através do sistema HLA. O sistema HLA é dividido de acordo com a localização cromossômica em três regiões do cromossomo 6: classe I, II e III. Os loci HLA-A, B e C codificam a cadeia alfa das moléculas HLA de classe I clássicas, e estão presentes em praticamente todas as células nucleadas. Os genes HLA-DR, DP e DQ codificam as moléculas do HLA de classe II que estão presentes na superfície de células apresentadoras de antígenos, células dendríticas, macrófagos e linfócitos B. A região de classe III possui genes que codificam componentes do complemento, das enzimas 21-hidroxilase e fator de necrose tumoral (ZAGO, 2001).

As moléculas de classe I apresentam peptídeos virais aos linfócitos T citotóxicos (CD8+) e estes fazem a lise das células infectadas. As moléculas HLA de classe II estão envolvidas na apresentação de antígenos aos linfócitos CD4+ que secretam citocinas e desempenham importante papel na rejeição de enxertos (FLOMENBERG, 2004).

A resposta imune contra os antígenos de tecidos ou órgãos transplantados é dirigida, contra as moléculas do HLA, por isso, a compatibilidade HLA entre doador e receptor está associada à melhor sobrevida do enxerto e menores complicações após o transplante. Em transplantes de medula óssea alogênicos o pareamento dos alelos HLA-A, B, C e DRB1 são fundamentais para o sucesso do transplante, visto que apresentam impacto na ocorrência de DECH e mortalidade, principalmente quando se trata de transplantes não aparentados (FLOMENBERG, 2004).

O TCTH permanece como melhor opção terapêutica para os pacientes com leucemia de alto risco ao diagnóstico e para a maioria daqueles que sofrem recaída da doença (MACMILLAN, 2008). Os resultados de diferentes estudos sugerem que o TCTH alogênico pode curar até 50% a 60% dos receptores, que não atingiriam tal resultado somente com quimioterapia (THOMAS, 2004).

Os pacientes submetidos a transplante em primeira remissão apresentaram uma melhor SG e SLR, porém, é sabido que o transplante só está indicado nesta

situação quando os pacientes apresentam situação de alto risco, como a presença de alterações citogenéticas de mau prognóstico ao diagnóstico ou a falha de resposta à quimioterapia indutória (LODEWICK, 2008; METHA, 2007; BUNIN, 2008; DAVIES, 2008). Os pacientes em segunda remissão, tanto com LLA quanto com LMA, apresentam bons resultados na SG e SLR e têm indicações de TCTH já bem definidas (DAVIES, 2008; BUNIN, 2002; FAGIOLI, 2008).

Nos pacientes com doença avançada o transplante alogênico leva a um aumento da sobrevida em 10-15% dos casos. Os pacientes que apresentam menos de 30% de blastos na medula óssea no momento do transplante apresentam taxa de recaída próxima a 40%, enquanto naqueles com mais de 30% de blastos na medula óssea a taxa de recaída é de 80%. O uso de profilaxia para DECH menos intensa e a realização do TCTH com menor volume de doença (menos de 30% de blastos na medula óssea) foram as variáveis com impacto significativo na sobrevida desta população de pacientes (BACIGALUPO, 2007)

Aproximadamente 30% dos pacientes com indicação de transplante têm um doador aparentado compatível, por este motivo, tornou-se necessária a busca de doadores alternativos (ROCHA, 2001). Apesar do crescimento dos bancos de doadores voluntários e de sangue de cordão umbilical, a possibilidade de se encontrar um doador totalmente compatível para os pacientes brasileiros ainda não é grande, estando próxima de 1:100000.

Os transplantes realizados com incompatibilidades estão associados com um maior número de complicações, principalmente doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) e rejeição do enxerto (GREWAL, 2003). Entretanto, os resultados com transplantes não aparentados têm melhorado significativamente, sendo atualmente possível se atingir resultados similares aos dos transplantes aparentados compatíveis (LOCATELLI, 2002; EAPEN, 2007).

Os regimes de condicionamento mais freqüentemente utilizados para pacientes com leucemia são os regimes mieloablativos. Para pacientes com LLA a associação de ciclofosfamida 120-200mg/kg com irradiação corporal total (ICT) é o regime mais amplamente utilizado enquanto que para os pacientes com LMA, esquemas que incluem ciclofosfamida 120-200mg/kg associado com Bussulfano 16mg/kg ou ICT são mais utilizados (HAHN, 2005).

Estudos recentes têm demonstrado que os pacientes com LLA se beneficiam dos condicionamentos que contenham ICT, apresentando melhores índices de

sobrevida livre de leucemia e menor mortalidade relacionada ao procedimento (DAVIES, 2000; HAHN, 2005)

A DECH aguda inicia com a inflamação causada pelo dano tecidual gerado pelo regime preparatório para o TCTH (quimioterapia e/ou radioterapia). A cascata inflamatória inicia geralmente no trato gastrointestinal. Posteriormente, as células apresentadoras de antígenos do doador e do receptor e as citocinas inflamatórias liberadas levam a uma ativação dos linfócitos T derivados do doador, que se expandem e se transformam em células efetoras. A ativação dos linfócitos T leva à liberação de citocinas, recrutamento de células efetoras secundárias e destruição das células e tecidos. Os antígenos do complexo menor de histocompatibilidade tem papel importante na fase de ativação, principalmente nos transplantes aparentados compatíveis (JACOBSON, 2004).

A DECH aguda é uma complicação freqüente no período precoce pós-transplante. A incidência mediana da DECH aguda de intensidade moderada a grave (graus II a IV) é aproximadamente 40% e varia conforme os seguintes fatores de risco: idade elevada do receptor; regimes de condicionamento mais agressivos; grau de incompatibilidade HLA entre o doador e o receptor; receptor de sexo masculino com doadora de sexo feminino; grau de paridade da doadora (aloimunizações); sorologia positiva para o CMV e conteúdo de células T do enxerto (FLOWERS, 1999).

A DECH crônica na criança tem como fator inicial principal a aloreatividade das células T do doador, entretanto, é sabido que as células B também exercem papel importante na gênese da DECH crônica, pela liberação de citocinas, apresentação de antígenos para as células T e produção de anticorpos (BAIRD, 2010).

A DECH crônica acomete 30 a 70% dos receptores de TCTH alogênico, com graus variados. Os casos severos estão relacionados com maior mortalidade relacionada ao procedimento e uma diminuição importante na qualidade de vida dos pacientes. Entretanto nos indivíduos com leucemia, a ocorrência do DECH leve a moderada está relacionada com o efeito do enxerto contra leucemia e um menor índice de recaídas (LEE, 2008).

A eficácia clínica do transplante de células tronco hematopoiéticas muitas vezes é limitada pela demora da recuperação imune, resultando em maior ocorrência de infecções. Estudos mostram uma recuperação de linfócitos T e B é

mais lenta nos pacientes que recebem terapia imunossupressora mais intensa. Além disso, é sabido que a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) e a infecção por citomegalovírus (CMV) são fatores que influenciam negativamente a recuperação imune (KALWAK, 2002).

Ainda, as infecções oportunistas na fase precoce pós-transplante estão diretamente relacionadas à recuperação imune. A linfopenia já é aceita como fator de risco para se desenvolver infecção por CMV e uma contagem linfocítica no período precoce pós-transplante pode ser um indicador que define grupos de alto risco para infecções oportunistas e para recaída. Estudos mostram que o grupo com baixa contagem precoce de linfócitos teve 9 vezes mais chance de apresentar uma infecção oportunista grave, indicando a necessidade de maior observação e instituição de medidas de prevenção e diagnóstico precoce (KIM, 2004).

O uso de drogas imunossupressoras para prevenção ou tratamento da DECH aumenta de maneira importante o risco de infecções, especialmente aquelas decorrentes da supressão da imunidade celular. Se o período de neutropenia se prolonga, o risco de infecções aumenta consideravelmente, predominando as infecções fúngicas e bacterianas (NUCCI, 2000).

A mortalidade relacionada ao transplante de medula óssea tem reduzido nos últimos anos. A mortalidade nos primeiros 100 dias após o transplante é de aproximadamente 5 a 35%, nos pacientes submetidos a transplantes alogênicos e varia com a doença de base, com o status da doença no momento do transplante, com as condições clínicas dos pacientes e com a década em que o TCTH foi realizado (BACIGALUPO, 2004).

Apesar da melhora nos cuidados suportivos, as infecções continuam a principal causa de mortalidade relacionada ao transplante. Outra causa importante de MRT é o desenvolvimento de DECH aguda (BROWN, 1999). A realização de transplantes alogênicos de doadores com incompatibilidades no HLA tem resultado em uma menor sobrevida que a encontrada nos transplantes totalmente compatíveis, principalmente pela ocorrência de DECH aguda e crônica (WAGNER, 2002).

O TCTH haploidêntico está se tornando uma alternativa viável para os pacientes que não possuem doadores compatíveis, principalmente porque virtualmente todas as pessoas têm um doador haploidêntico disponível e de fácil acesso (pai, mãe, irmão) (HUANG, 2008). Além disso, estes transplantes têm um

potencial maior de efeito enxerto versus leucemia, entretanto, parecem estar relacionados a uma maior incidência de DECH severa e de demora na pega do enxerto, assim, conseqüentemente, a uma maior taxa de mortalidade relacionada ao procedimento (AVERSA, 2008).

2.5 RECUPERAÇÃO LINFOCITÁRIA PÓS-TRANSPLANTE

Os linfócitos recuperados no primeiro mês pós-transplante pertencem principalmente a duas populações celulares: células NK e células T CD3+ . A recuperação NK tende a ser 3-4 dias mais precoce que a de granulócitos e monócitos e esta recuperação não é vista em pacientes que recebem apenas quimioterapia mieloablativa, sem resgate com células tronco (FRY, 2005).

No período precoce pós transplante as células NK aumentam de número rapidamente, e, estas correspondem à maior parte das células mononucleares da periferia. As células NK são responsáveis pelo efeito EVL precoce e a recuperação lenta destas células está associada a um maior risco de recaída da doença (SHILLING, 2003; SAVANI, 2007).

Estudo mostrou que no período precoce pós transplante (até o dia +30) as células NK são a população celular dominante na periferia e que a contagem de linfócitos neste período está altamente correlacionada com a contagem de células NK (SAVANI, 2007)

Sabe-se que as células NK são capazes de mediar uma potente reação EVL, principalmente na fase precoce por TCTH, antes da recuperação das células T. Dependendo da compatibilidade do TCTH, as células NK variam sua reatividade e esta reatividade está relacionada com a morte celular e conseqüentemente, apresentam impacto na recaída da leucemia (VELARDI, 2008).

As evidências sugerem que os linfócitos derivados do doador tenham um papel importante na eliminação da doença residual mínima após o TCTH. As células CD4 e CD8, assim como as células natural killer (NK) têm participação significativa na gênese da reação EVL. Um elevado número de células T ativadas são encontradas no período precoce pós-transplante (KUMAR, 2003).

As respostas imunes adaptativas dos linfócitos T e B apresentam papel importante na reação EVL, desta forma, os transplantes com depleção de células T ou com recuperação ruim de linfócitos após o TCTH podem apresentar maior índice de recaída (FRY, 2010).

O efeito das células transplantadas contra a leucemia depende de alguns fatores como o regime de condicionamento utilizado, que contribui para uma diminuição da massa tumoral e a ocorrência de efeito EVL mediado pelas células imunocompetentes do doador, que está relacionado com diminuição da doença residual mínima (KUMAR, 2003).

A destruição das células malignas é mais efetiva durante o período precoce pós transplante, devido a presença de pouca quantidade de doença. Entretanto a reconstituição imune, principalmente a recuperação linfocitária, é geralmente lenta após o transplante. O número total de linfócitos tende a retornar ao normal em 3 meses, porém o número de células CD4+ permanece baixo por cerca de 12 meses após o procedimento, ou mais, se o paciente apresentar DECH. Geralmente o número de células CD8+ retorna ao normal precocemente, assim como as células NK (FUGIMAKI, 2001; JERNBERG, 2003).

Alguns estudos têm demonstrado a importância da recuperação linfocitária precoce após o TCTH e relacionam esta recuperação com melhor sobrevida, menores índices de recaída e menor mortalidade relacionada ao transplante. Uma contagem adequada de linfócitos no D+30 do TCTH tem um significado importante na sobrevida dos pacientes com leucemia e está relacionada a menores taxas de mortalidade não relacionada à recaída e menores taxas de recaída (SAVANI, 2007; KUMAR, 2001).

Existem evidências de que a análise do número de linfócitos no período precoce pós-transplante também possa ser usado como preditor de ocorrência de infecções, especialmente de infecções fúngicas e por CMV, sendo este risco aumentado em até nove vezes no grupo com recuperação linfocítica ruim (KIM, 2004).

Estudo recente avaliou a contagem de linfócitos no dia +21 após o TCTH alogênico, em pacientes com LLA, para avaliar o impacto da contagem de células linfóides na sobrevida, na recaída e ocorrência de infecções oportunistas e observou que os pacientes com contagem inferior a $300 \times 10^9/L$ apresentaram maior risco de recaída da doença, independente do status da doença no momento do TCTH e da

ocorrência de DECH. Neste estudo a recuperação mais rápida foi associada com maior número de células infundidas, além de menor ocorrência de DECH aguda severa (ISHAQI, 2008).

A análise da recuperação de linfócitos por hemograma é simples, realizada em todos os centros regularmente, pode ser realizada de forma retrospectiva e está se tornando uma ferramenta útil para identificar grupos de pacientes com necessidades específicas de intervenção, levando a estratégias para atingir melhor sobrevida (KUMAR, 2001).

Os regimes de profilaxia da DECH geralmente incluem ciclosporina, metotrexate e corticóide, entretanto o uso de corticóides como a prednisona está associado com linfopenia e pode afetar a recuperação linfocítica pós-transplante (KUMAR, 2001).

A prednisona parece apresentar efeito mais importante sobre as células B e estas têm uma ação antileucêmica menos importante que as células T e NK na fase inicial pós-transplante, portanto o uso de corticóides na profilaxia e tratamento da DECH aguda deve ser levado em consideração quando avaliada a recuperação de linfócitos pós-TCTH (BEHRINGER, 1999).

Estudo realizado com pacientes com LMA mostrou que os pacientes que apresentaram recuperação lenta de células T e NK pós-transplante, tiveram maior ocorrência de recaída provavelmente devido a privação do efeito EVL. Os pacientes com recuperação lenta de linfócitos também apresentaram maior ocorrência de infecções e de toxicidade relacionada ao transplante (KUMAR, 2001).

Fatores que conhecidamente afetam a recuperação imune pós-TCTH são: fonte de células utilizada, terapia imunossupressora e a idade dos pacientes. O uso de células tronco de sangue periférico está associada com uma recuperação imune mais precoce que as células tronco de medula óssea, visto que possui cerca de 1 logaritmo a mais de linfócitos. Entretanto, o uso de depleção de células T, leva a um resultado similar entre as duas fontes de células tronco (KOEHL, 2007).

A identificação de pacientes que apresentam maior risco de recaída pode permitir a introdução de medidas preventivas, como a rápida interrupção da imunossupressão, uso preventivo de infusão de linfócitos do doador e o uso de agentes imunomoduladores biológicos como interleucinas (IL-2, IL-12) e interferon alfa (KIM, 2003; SAVANI, 2007).

3 METODOLOGIA DE PESQUISA

3.1 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA

Quanto aos fins a pesquisa é aplicada, pois terá fins práticos com a aplicação dos resultados obtidos na melhoria do atendimento aos pacientes.

Quanto à fonte esta é uma pesquisa documental, pois os dados nela utilizados serão coletados através da avaliação dos prontuários dos pacientes, pela pesquisadora.

Em relação aos dados ela é quantitativa e qualitativa, pois utilizaremos dados numéricos como contagem de linfócitos no dia +30 e +100 pós-transplante e dados qualitativos como tipo de transplante, fonte de células e condicionamento utilizado.

Trata-se um estudo retrospectivo, observacional e descritivo. Também se trata de uma pesquisa bibliográfica e documental, pois utilizaremos documentos (laudos técnicos) e dados de estudos semelhantes para realizar a fundamentação teórica.

3.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA DA PESQUISA (PACIENTES E MÉTODOS)

3.2.1 Pacientes e Doadores:

Trata-se de um estudo de análise retrospectiva dos prontuários médicos de 147 pacientes menores de 21 anos, portadores de leucemia aguda, que foram submetidos à TCTH alogênico, aparentado e não aparentado, no período de abril de 1995 a novembro de 2008, no Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Do total de pacientes transplantados no período, 143 foram incluídos no estudo. Foram excluídos da avaliação 4 pacientes, sendo 2 por falta de dados no prontuário e 2 por não atingirem sobrevida de 30 dias.

Para coleta dos dados, os prontuários foram revisados pelo próprio pesquisador, sendo os seguintes dados avaliados: tipo de leucemia, status da doença pré transplante (primeira, segunda ou terceira remissão e doença ativa que inclui doença em recaída não controlada com quimioterapia), tipo de condicionamento e imunoprofilaxia realizados, número de células totais infundidas e tipo de célula infundida (sangue de cordão umbilical, células tronco periféricas ou células de medula óssea), ocorrência de DECH, infecções, mucosite ou outras complicações como infecções, pega do enxerto, recaída da doença, e contagem linfocitária no dia +30 e no dia +100 após o transplante, conforme apêndice 1.

Os pacientes foram divididos em dois grupos em relação ao status da doença no momento do transplante. Os pacientes que apresentavam doença em primeira e segunda remissão clínica foram considerados com doença precoce e os pacientes em terceira ou maior remissão e aqueles com doença refratária ou em recidiva foram considerados com doença avançada.

3.2.2 Análise de compatibilidade:

A compatibilidade do HLA foi avaliada com base na tipificação dos antígenos do complexo maior de histocompatibilidade pertencentes às classes I e II, dos *loci* A, B e DR. Os antígenos da classe I - A e B, foram avaliados através do Método Sorológico, que é um método de linfotoxicidade dependente de complemento e que requer a incubação dos linfócitos de um indivíduo com um conjunto de anticorpos anti-HLA. O antígeno de classe II, DR, foi avaliado através do Métodos Moleculares por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) com seqüência de *primers* específicos ou com seqüência de oligonucleotídeos específicos. (ZAGO, 2001).

Os pacientes que receberam transplante de células de sangue periférico e de medula óssea e apresentaram alguma incompatibilidade com seus doadores (5/6) foram classificados como tendo recebido transplante com incompatibilidades. Os pacientes que receberam transplante com células de cordão umbilical e apresentaram uma (5/6) ou nenhuma (6/6) incompatibilidade com seu doador, foram considerados como tendo recebido transplante compatível, visto que os dados publicados anteriormente não observaram diferenças estatisticamente significativas

na SG, SLE e pega entre estes grupos (BARKER, 2001). Os pacientes que apresentavam duas incompatibilidades de HLA com seus doadores foram classificados como tendo recebido transplantes com incompatibilidades.

3.2.3 Avaliação de pega, DECH e recaída:

A pega neutrofílica foi avaliada nos pacientes que sobreviveram mais de 30 dias pós transplante e que apresentaram contagem absoluta de neutrófilos superior a $500/\text{mm}^3$. A pega plaquetária foi confirmada nos pacientes que apresentaram contagem acima de $20.000/\text{mm}^3$ por 3 dias consecutivos e que permaneceram sem transfusões por 7 dias. Os pacientes que apresentaram apenas pega neutrofílica foram considerados com pega parcial do enxerto. A pega do enxerto foi confirmada pela avaliação de quimerismo celular, realizada pelo método variable number tandem repeat (VNTR), sendo considerados com pega completa do enxerto os pacientes que apresentaram VNTR superior a 95%. Os pacientes que apresentaram recuperação autóloga na análise de quimerismo ou que não atingiram critérios de pega neutrofílica e plaquetária foram considerados com falha primária de pega

A recaída da doença foi avaliada pelos sintomas clínicos associados com a detecção de células leucêmicas no sítio acometido (medula óssea, líquido ou sítios extra-medulares) por punção medular, de líquido ou biópsia.

A doença do enxerto contra o hospedeiro aguda foi avaliada de acordo com os sintomas clínicos e laboratoriais, descritos na TABELA 3 (Adaptado de FLOWERS, 1999).

TABELA 3: ESTADIAMENTO CLÍNICO DA DECH AGUDA.

Estágio	Alterações Cutâneas	Alterações Hepáticas (nível de bilirrubinas totais – mg/dl)	Alterações Gastrointestinais
I	Rash macropapular em <25% da superfície corpórea	2-3	Diarréia de >5 - ≤10 ml/Kg/dia ou náusea persistente
II	Rash macropapular em 25-50% da superfície corpórea	3-6	Diarréia de >1000 - ≤ 15 ml/Kg/dia
III	Eritema Generalizado	6-15	Diarréia > 15 ml/Kg/dia
IV	Bolhas e descamação	>15	Dor associada ou não a obstrução intestinal

A DECH crônica foi classificada como limitada ou extensa, de acordo com os critérios de classificação de Shulman et al (1980).

3.2.4 Avaliação de sobrevida e mortalidade relacionada ao transplante:

A sobrevida global foi calculada a partir da data do TCTH até a data do óbito ou do último contato.

A sobrevida livre de eventos foi calculada a partir da data do TCTH até a data da recaída da doença, do óbito ou do último contato, o que acontecer antes. Foram considerados como eventos para análise de sobrevida livre de eventos a recaída da doença ou ocorrência de óbito.

A mortalidade relacionada ao procedimento foi estudada nos pacientes que apresentarem óbito nos primeiros 100 dias do transplante, de qualquer causa que não a recaída da leucemia.

3.2.5 Regimes de condicionamento e informações sobre doadores:

Os pacientes receberam no regime de condicionamento as drogas comumente utilizadas no período da realização do TCTH, levando em consideração

a doença de base, o tipo de doador, a fonte de células e a presença de incompatibilidades (TABELA 4). A escolha do regime de profilaxia da doença do enxerto contra o hospedeiro também levou em consideração os fatores acima citados.

O regime de condicionamento mais utilizado nos pacientes com LLA que receberam transplante de doador aparentado e não aparentado foi ciclofosfamida 120 mg/kg e irradiação corporal total hiperfracionada na dose de 1440cGy , com ou sem adição de imunoglobulina anti-timocítica (IAT) 4-5mg/kg. Pacientes maiores de 18 anos receberam ICT na dose de 1320cGy e os pacientes do sexo masculino receberam um reforço testicular (boost testicular) de 400cGy.

Dentre os pacientes com LMA, o regime mais utilizado nos transplantes aparentados foi bussulfano 16mg/kg e ciclofosfamida 120mg/kg. Nos transplantes com doador não-aparentado o regime de condicionamento mais freqüentemente administrado foi ciclofosfamida 120 mg/kg e irradiação corporal total 1440 rads, com ou sem adição de imunoglobulina anti-timocítica 4-5mg/kg, mais dados estão descritos na TABELA 4.

O esquema de imunoprofilaxia mais freqüentemente utilizado nos pacientes que receberam TCTH com células de medula óssea e de sangue periférico foi ciclosporina 3mg/kg iniciada no dia -1 do condicionamento e metotrexate (MTX) 15mg/m² no dia +1 e 10mg/m² nos dias +3, +6 e +11. Para pacientes que receberam transplante com células de sangue de cordão umbilical o esquema utilizado foi ciclosporina 3mg/kg iniciada no dia -1 do condicionamento e corticóide 1mg/kg.

TABELA 4 – REGIMES DE CONDICIONAMENTO E IMUNOPROFILAXIA

	Número pacientes (%)
Condicionamento:	
ICT+CFA	69 (48)
ICT+CFA+IAT	33 (23)
BUS+CFA	36 (25)
Outros	5 (4)
Imunoprofilaxia:	
CSA+CTC	25 (17)
CSA+ MTX	104 (72)
CSA+MTX+CTC	5 (4)
CSA	9 (7)
ICT=irradiação corporal total; CFA=ciclofosfamida; BUS= bussulfano; IAT=imunoglobulina anti-timocítica; CSA=ciclosporina; CTC=corticóide; MTX=metotrexate	

3.2.6 Cuidados de suporte:

Todos os pacientes foram transplantados em quartos isolados, com filtro de ar tipo HEPA. Todos os pacientes receberam profilaxia antifúngica com fluconazol e profilaxia contra infecção por *pneumocistis jiroveci* com sulfametoxazol+trimetropina. Esta profilaxia foi mantida por pelo menos 6 meses após o transplante.

A ocorrência de febre durante a fase de neutropenia foi tratada com antibioticoterapia de amplo espectro e modificada nos casos de persistência da febre ou de resultados de hemoculturas positivas.

Pacientes com imagem radiológica sugestiva de infecção por fungo, eram tratados intensivamente com terapia anti-fúngica. Nos casos de estabilidade clínica do paciente, exame confirmatório por biópsia foi realizado.

Transfusões sanguíneas foram realizadas para manter contagem de hemoglobina maior de 9 mg/l e contagem plaquetária superior a 20.000/mm³. As transfusões de plaquetas foram realizadas com plaquetas coletadas por aférese.

Os pacientes que desenvolveram DECH aguda de grau superior a II, eram submetidos à biópsia para confirmação diagnóstica e recebiam tratamento com corticóide (metilprednisolona ou prednisona) 2mg/Kg. Os pacientes que não evoluíram com melhora clínica receberam tratamento adicional com outros medicamentos como basiliximab e micofenolato mofetil.

Os pacientes que desenvolveram DECH crônica de grau extenso foram tratados com corticóide (prednisona) 1mg/Kg. Nos casos de não melhora, a dose de corticóide era aumentada para 2mg/kg ou terapia adicional era iniciada com micofenolato mofetil, azatioprina ou fotoférese extracorpórea, de acordo com a localização e sintomas.

3.2.7. Análise de recuperação linfocitária:

Para análise da recuperação linfocitária, foram avaliadas as contagens de linfócitos no hemograma realizado no dia +30 e no dia +100 após o TCTH. Foi considerada recuperação linfocitária adequada uma contagem total de linfócitos

superior a $300/\text{mm}^3$ no hemograma coletado no dia +30 e superior a $750/\text{mm}^3$ no dia +100. O valor de corte de $300/\text{mm}^3$ foi escolhido com base em literatura publicada anteriormente (ISHAQI, 2008; KIM, 2004; POWLES, 1998). O valor de corte de $750/\text{mm}^3$ foi escolhido por se tratar do valor mediano dos linfócitos no dia +100 nesta população.

Quando o hemograma completo, com contagem linfocitária, não estava disponível no dia + 30, foi utilizada a contagem de linfócitos coletada no dia +29 ou +31. Para a avaliação da contagem de linfócitos no dia +100 pós-TCTH, se esta não estava disponível, foi utilizado o hemograma dos dias +99 ou +101. Pacientes com contagem granulocítica baixa, que não permitia a contagem diferencial ou aqueles que não tinham apresentado pega do enxerto até o dia da coleta do exame para avaliação da contagem linfocitária, foram classificados no grupo com contagem inferior a $300/\text{mm}^3$.

3.2.8 Análise estatística:

A Sobrevida Global (SG) foi calculada do dia do transplante até a data do óbito ou do último contato com o paciente e a Sobrevida Livre de Recaída (SLR) foi calculada do dia do transplante até o dia da recaída nos casos que houve recaída da doença.

Para análise de SG e SLR foi utilizado o método de Kaplan Meier. Para análise univariada foi utilizado o teste de log rank e para análise multivariada, utilizamos regressão de Cox, sendo incluídas as variáveis que apresentaram $p < 0,2$ na análise univariada. Na avaliação de incidência cumulativa de pega e de recaída, a morte foi utilizada como fator de risco competitivo. Para análise de incidência cumulativa de mortalidade relacionada ao transplante, a mortalidade por recaída foi usada como fator de risco competitivo.

Adotou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e poder de 80% para a realização das análises. Foram utilizados os programas SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) e STATA 11, para a realização das análises estatísticas.

4. RESULTADOS

4.1 DADOS RELATIVOS AOS PACIENTES, TRANSPLANTES E COMPLICAÇÕES:

Cento e quarenta e três pacientes submetidos a transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas, com doador aparentado e não aparentado, foram elegíveis para participação neste estudo.

As características dos pacientes e doadores estão listadas na TABELA 5

TABELA 5. CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS PACIENTES E DOADORES

	N pacientes (%)
Idade – mediana 9 anos	
< 9 anos	82 (57%)
≥ 9 anos	61 (43%)
Sexo –	
Masculino	92 (64%)
Feminino	51 (36%)
Diagnóstico –	
LLA	82 (57%)
LMA	61 (43%)
Situação da doença no momento TCTH–	
Doença precoce	83 (58%)
Doença avançada	60 (42%)
Doador –	
Aparentado	77 (54%)
Não-aparentado	66 (46%)

RC1: 1ª remissão clínica 1 / RC2: 2ª remissão clínica / RC3: 3ª remissão clínica

A pega completa do enxerto foi atingida em 123 pacientes (86%) e 7 pacientes apresentaram pega parcial (5%), ou seja apresentaram pega neutrofílica mas evoluíram a óbito antes de apresentar pega plaquetária. Ainda, 13 pacientes tiveram falha primária de pega do enxerto (9%).

Do total de pacientes avaliáveis, 130 pacientes apresentaram pega do enxerto (completa ou parcial) e foram incluídos na análise de ocorrência de DECH aguda. Destes, 58 (44%) pacientes apresentaram DECH aguda, sendo 31 pacientes com doença de graus III ou IV (53%).

A ocorrência de DECH crônica foi avaliada em 118 pacientes que sobreviveram mais de 100 dias e apresentavam pega do enxerto. Destes, 27 (23%) pacientes apresentaram DECH crônica, com um número expressivo de pacientes com doença extensa (16 pacientes -59%).

Os seis pacientes que receberam transplante com células de sangue periférico apresentavam compatibilidade completa (6/6) com seus doadores e receberam transplantes de doadores aparentados.

Dentre os pacientes que receberam células de sangue de cordão umbilical, 9 apresentavam compatibilidade 4/6 (26%), 15 apresentavam compatibilidade 5/6 (45%) e 10 pacientes apresentavam compatibilidade 6/6 (29%). A maioria dos transplantes de sangue de cordão umbilical foi realizada com doadores não aparentados (25 dos 34 casos, ou 73%).

Do total de pacientes que receberam células de medula óssea, 81 apresentavam (79%) compatibilidade completa com seus doadores (6/6) e 22 apresentavam compatibilidade 5/6 (21%). Dentre os transplantes com células de medula óssea, 58 foram realizados com doadores aparentados (56%) e 45 com doadores não aparentados (44%).

Somente dois pacientes não apresentaram nenhum grau de mucosite durante o transplante. Mucosite de graus III e IV foi observada em 79 pacientes (55%) e nos graus I e II em 62 pacientes (45%).

Dentre os pacientes que receberam imunoprofilaxia com metotrexate, 7 pacientes receberam somente 2 doses e 34 pacientes receberam apenas 3 doses de MTX como parte da imunoprofilaxia. A causa mais freqüente da não utilização do total de 4 doses de MTX foi a presença de mucosite Grau IV.

A contagem de células nucleadas totais (CNT) infundidas variou de 1,27 a 12,4 $\text{CNT} \times 10^8/\text{Kg}$, com mediana de 3,83 $\text{CNT} \times 10^8/\text{Kg}$, nos pacientes que receberam células de medula óssea e sangue periférico. Dentre os pacientes que receberam células de sangue de cordão umbilical, o valor de CNT infundidas variou de 1,22 a 8,7 $\times 10^7/\text{Kg}$, com mediana de 4,33 $\times 10^7/\text{Kg}$.

O status da sorologia do doador para citomegalovírus foi encontrado no prontuário de 101 pacientes, sendo que destes, 77 doadores tinham sorologia positiva e 24 tinham sorologia negativa.

A maioria dos pacientes apresentou alguma infecção após o transplante (106 pacientes, 74%). As infecções mais freqüentemente observadas foram bacterianas e

virais. Dentre as infecções bacterianas a mais freqüente foi causada por *Staphylococcus sp* (20 pacientes apresentaram hemocultura positiva, sendo 7 *Staphylococcus aureus*, 10 *Staphylococcus epidermidis* e 3 *Staphylococcus coagulase negativo*) e dentre as infecções virais, a infecção mais comum foi por citomegalovírus (38 pacientes com antigenemia positiva), seguida por vírus varicela zoster (12 pacientes). Dezenove pacientes evoluíram com infecção fúngica, destes, seis pacientes tiveram infecção por *Aspergillus*, um por *Fusarium sp.* e nove por *Candida sp.* (2 *Candida albicans*, 3 *Candida parapsilosis* e 4 não subtipos não definidos).

Setenta e um pacientes (49,5%) utilizaram corticóide após o transplante, sendo que 30 pacientes utilizaram corticóide como parte do seu regime de imunoprofilaxia para DECH e 41 para tratamento da DECH aguda ou crônica.

A maioria dos pacientes apresentava doença precoce no momento do transplante (82 pacientes ou 57%) sendo que 34 pacientes foram transplantados em primeira remissão clínica (RC1) e 49 pacientes em segunda remissão clínica (RC2). Dentre os pacientes que foram classificados como tendo doença avançada no momento do transplante (60 pacientes – 43%), 21 pacientes apresentavam-se em terceira ou maior remissão clínica (RC3), 6 pacientes em primeira recidiva, 17 pacientes em segunda ou maior recidiva, 14 pacientes com doença refratária e 2 com síndrome mielodisplásica (SMD) em transformação sem tratamento.

Dos 17 pacientes com LLA transplantados em RC1, 8 pacientes apresentavam a t(9;22), 3 tinham rearranjo MLL (11q23), 3 pacientes tinham citogenética complexa e os outros 3 tinham LLA-T de alto risco. Dentre os pacientes com LMA, 13 pacientes foram transplantados por LMA secundária, sendo 11 secundárias a SMD e duas secundárias a LLA.

4.2 DADOS RELATIVOS A SOBREVIDA, MORTALIDADE E RECAÍDA:

A sobrevida global dos pacientes foi de 48% em 3 anos, com uma sobrevida mediana de 1169 dias (variando de 181-4760 dias), conforme visto no GRÁFICO 1. Do total de pacientes incluídos no estudo, 68 pacientes estavam vivos no momento desta análise.

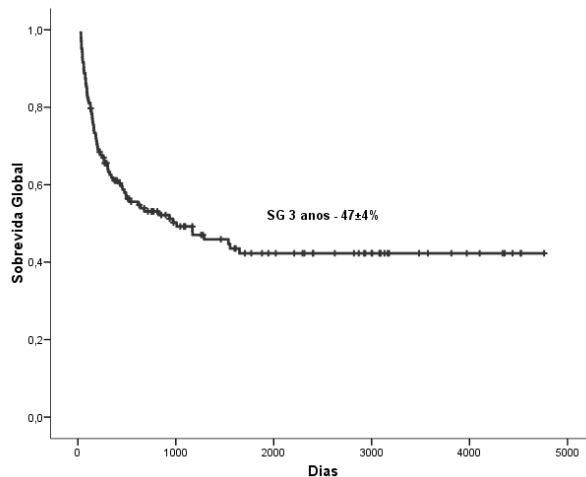


GRÁFICO 1 Sobrevida Global de todos os pacientes

A sobrevida livre de recaída foi de 39% em 3 anos. Após o transplante, 57 pacientes apresentaram recaída da doença, com mediana de recaída de 135 dias (variando de 28 a 1273 dias). A incidência cumulativa de recaída foi de 45% em 3 anos, conforme visto no GRÁFICO 2.

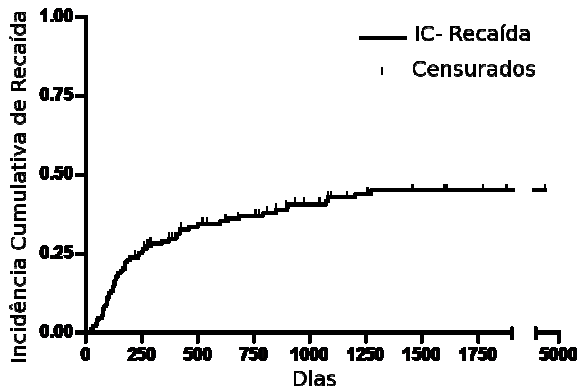


GRÁFICO 2. Incidência cumulativa de recaída de todos os pacientes

Dentre os pacientes que apresentaram recaída da doença, 9 pacientes (6%) apresentaram recaída muito precoce (nos primeiros 40 dias depois do transplante), ou seja, doença persistente após o transplante. Todos os pacientes que apresentaram doença persistente após o transplante estavam com doença em atividade no momento do transplante (doença refratária ou recaída).

Dentre os pacientes que evoluíram com recaída da leucemia após o TCTH, 5 pacientes permanecem vivos. Destes, 2 pacientes apresentaram recidiva apenas em SNC e evoluíram com boa resposta ao tratamento quimioterápico local; 1 paciente

apresentou recidiva testicular da doença e também apresentou boa resposta ao tratamento com radioterapia local; 2 pacientes receberam quimioterapia intensiva e infusão de linfócitos do doador, sendo que um encontra-se com doença em remissão e outro com doença ativa, mas vivo até o momento desta análise.

75 pacientes evoluíram a óbito, com uma mediana de 166 dias após o transplante (variando de 30 a 1650 dias). As causas de óbito foram: recaída da doença em 52 pacientes, infecção em 15 pacientes, DECH aguda em 5 pacientes, doença veno-oclusiva hepática (VOD) em 2 pacientes e DECH crônica em 1 paciente.

Vinte e cinco pacientes evoluíram a óbito nos primeiros 100 dias do transplante (17%). Destes, cinco pacientes faleceram devido a persistência da doença (20%), sendo excluídos da análise de MRT. Dentre os 20 pacientes que faleceram nos primeiros 100 dias do transplante por outras causas que não a recorrência da leucemia, a incidência cumulativa de MRT foi de 17%, conforme visto no GRÁFICO 3. As causas de MRT foram infecção em 13 pacientes, DECH aguda em 4 pacientes, VOD 2 pacientes e falha de pega 1 paciente.

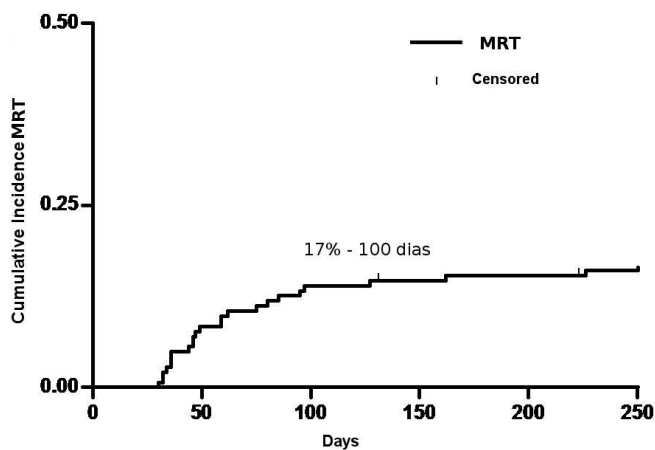


GRÁFICO 3: Incidência cumulativa de MRT de todos os pacientes

Os pacientes transplantados com doença precoce apresentaram melhor sobrevida global (61% x 27%, $p=0,001$) e sobrevida livre de eventos (53% x 22%, $p=0,000$) que os pacientes transplantados com doença avançada (GRÁFICOS 4 e 5).

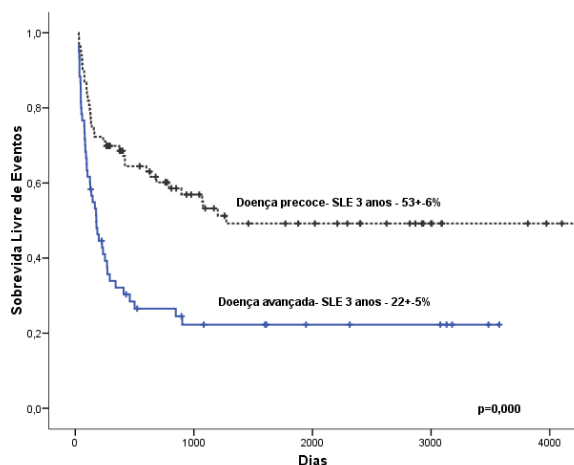


GRÁFICO.4 SLE comparando status doença no TCTH

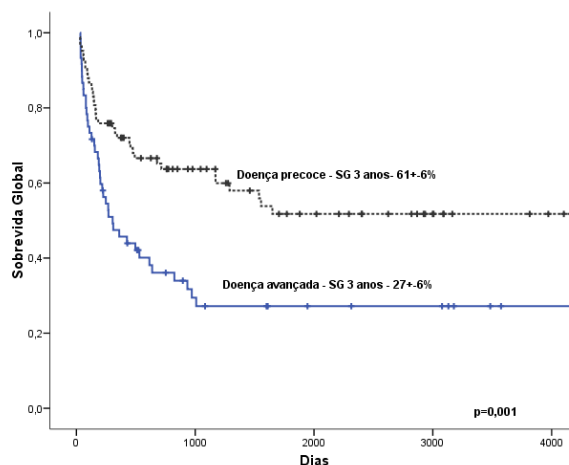


GRÁFICO 5. SG comparando status doença TCTH

Não houve diferença significativa quando comparadas as sobrevidas global e sobrevida livre de eventos entre os pacientes que receberam transplante aparentado e não aparentado ($p=0,31$ e $p=0,52$ respectivamente). Tampouco foi observada diferença na SG entre os pacientes que receberam transplantes com ou sem incompatibilidades ($p=0,28$).

Quando avaliadas as fontes de células utilizadas no transplante: medula óssea, sangue de cordão umbilical e sangue periférico, não foram observadas diferenças na SG e SLE dos pacientes ($p=0,8$ e $p=0,9$ respectivamente).

Também não houve diferença significativa na SG ($p=0,28$) e SLE ($p=0,2$) entre os pacientes com LLA e LMA

A idade dos pacientes ao transplante não interferiu na SG e SLE, quando comparadas idades maior ou igual e inferior a 9 anos ($p=0,65$), tampouco o sexo do paciente ($p=0,17$), e a data da realização do transplante, antes ou depois do ano 2000 ($p=0,9$) interferiram nas sobrevidas.

Não houve diferença significativa na SG e SLE dos pacientes que apresentaram DECH aguda ($p=0,28$), entretanto a SG foi significativamente superior nos pacientes que apresentaram DECH crônica de algum grau (76% x 48%, $p=0,01$). Não observamos diferença na sobrevida livre de eventos no grupo que apresentou DECH crônica ($p=0,16$).

Também não observamos diferença nas SG e SLE dos pacientes que receberam dose de células nucleadas total superior ou inferior a $3,8 \times 10^8/\text{Kg}$, tampouco naqueles que receberam prednisona para profilaxia ou tratamento da DECH.

Na análise multivariada, o único fator que efetivamente apresentou influência na sobrevida global e livre de doença dos pacientes foi o status da doença no momento do transplante (doença precoce x doença avançada), as variáveis incluídas estão descritas na TABELA 6.

TABELA 6. ANÁLISE UNIVARIADA		
Variável	Sobrevida global Valor de p	Sobrevida livre eventos Valor de p
Status doença	0,00	0,00
Compatibilidade	0,53	0,67
Origem células	0,89	0,88
Sexo	0,22	0,12
Idade > ou < 9 anos	0,37	0,37
RLP dia+30	0,14	0,22
RL dia+100	0,00	0,00
TCTH AP ou NAP	0,55	0,95
Diagnóstico	0,04	0,11
Uso corticóide	0,45	0,45
Uso IAT	0,1	0,17

4.3. RECUPERAÇÃO LINFOCITÁRIA PRECOCE NO DIA+30 PÓS-TCTH:

As características dos pacientes estão relacionadas na TABELA 7, de acordo com os grupos de recuperação linfocitária no dia +30.

Os fatores relacionados com pior recuperação de linfócitos no dia +30 foram: transplante com doador não aparentado ($p=0,03$), transplante com células de sangue de cordão umbilical ($p=0,04$), idade inferior a nove anos ao TCTH ($p=0,03$) e presença de doença avançada no momento do TCTH ($p=0,02$), demais dados na TABELA 7. Na análise multivariada, nenhum fator teve impacto na recuperação linfocitária precoce (as variáveis incluídas estão descritas na TABELA 8).

As demais variáveis analisadas não apresentaram diferença estatística significativa na recuperação precoce dos linfócitos pós-TCTH no dia +30, dentre elas estão: tipo de leucemia, sexo do paciente, uso de imunoglobulina anti-timocítica no condicionamento, uso de doador com incompatibilidades, ocorrência de DECH aguda ou crônica, ano de realização do TCTH (antes ou após 2000), uso de prednisona para prevenção ou tratamento de DECH e contagem de células nucleadas infundidas.

TABELA 7. CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES EM RELAÇÃO AOS GRUPOS DE RECUPERAÇÃO DE LINFÓCITOS NO DIA+30

	RLP dia +30 < 300 56 pacientes		RLP dia+30 > 300 87 pacientes		Valor de P
Diagnóstico:					
LLA	34	(61%)	48	(55%)	0,5
LMA	22	(39%)	39	(45%)	
Fonte de Células:					
Sangue de Cordão	21	(37%)	13	(15%)	0,008
Medula óssea	33	(59%)	70	(80%)	
Sangue periférico	2	(4%)	4	(5%)	
Doador x compatibilidade:					
AP Comp	22	(40%)	46	(53%)	0,19
AP com incomp	2	(4%)	7	(8%)	
NAP comp	20	(36%)	23	(26%)	
NAP com incomp	12	(20%)	11	(13%)	
Sexo:					
Feminino	18	(32%)	33	(38%)	0,4
Masculino	38	(68%)	54	(62%)	
Idade:					
maior 9 anos	26	(46%)	56	(64%)	0,034
menor 9 anos	30	(54%)	31	(36%)	
Status da doença:					
Doença avançada	30	(54%)	30	(34%)	0,007
Doença precoce	26	(46%)	57	(66%)	

RLP= recuperação linfocitária precoce; LLA=Leucemia linfóide aguda; LMA=Leucemia mieloide aguda; AP=aparentado; NAP= não-aparentado; Comp= compatível; Incomp = incompatibilidades

Os pacientes que apresentaram contagem linfocitária inferior a $300/\text{mm}^3$ no dia +30, apresentaram pior sobrevida global (GRÁFICO 6) e sobrevida livre de eventos (GRÁFICO 7) que os pacientes com contagem de linfócitos superior ao valor de corte ($p=0,01$ e $0,026$ respectivamente).

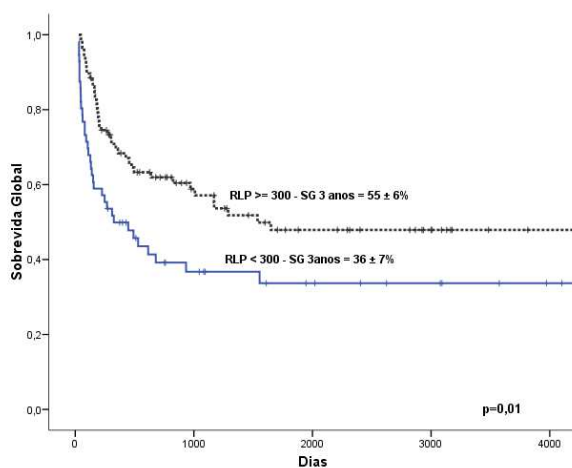


GRÁFICO 6. SG comparando grupos de RLPdia+30

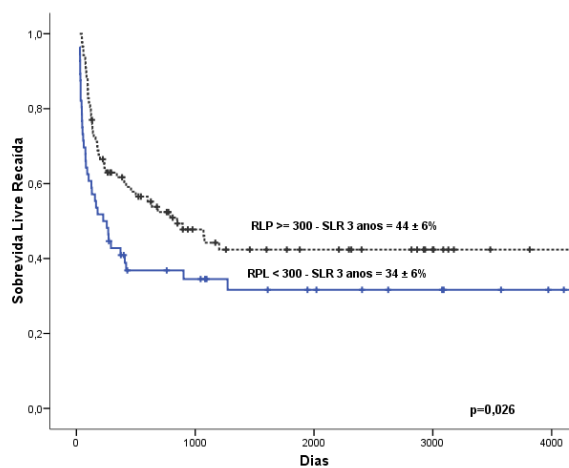


GRÁFICO 7. SLE comparando grupos de RLPdia+30

A mortalidade relacionada ao transplante foi significativamente superior no grupo de pacientes que apresentava recuperação linfocitária inadequada (23% x 9%, $p < 0,001$), conforme GRÁFICO 8.

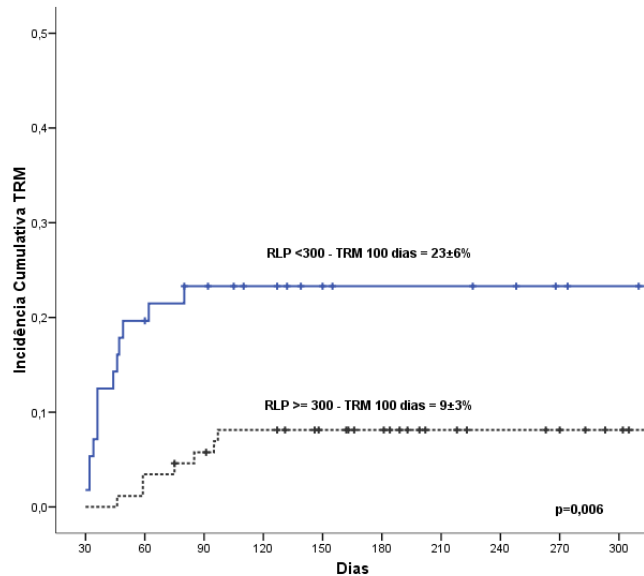


GRÁFICO 8. Incidência cumulativa de TRM comparando grupos de RLP dia+30

Não foi observada diferença significativa na incidência cumulativa de recaída ($p = 0,4$) entre os grupos.

Também não observamos diferença significativa na ocorrência de infecções oportunistas (virais, bacterianas ou fúngicas) entre os grupos ($p = 0,8$).

Observamos uma diferença significativa na sobrevivência global entre os grupos de recuperação linfocitária quando avaliados somente os pacientes que receberam transplante de doador aparentado, conforme GRÁFICO 9 ($p = 0,01$).

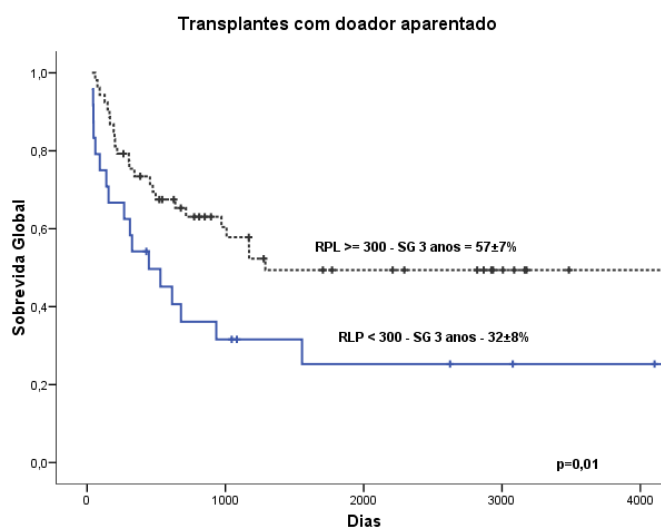


GRÁFICO 9. SG pacientes transplantados com doador aparentado

Quando analisada fonte de células, observamos que os pacientes que receberam transplante com células de sangue de cordão umbilical apresentaram recuperação linfocitária pior que os demais pacientes que receberam células de medula óssea ou sangue periférico ($p=0,002$), entretanto, quando analisada a sobrevida global destes pacientes, não houve diferença significativa na sobrevida entre os grupos. ($p=0,7$).

Por outro lado, foi observada diferença significativa na sobrevida global dos pacientes que receberam transplante com células de medula óssea, sendo observada pior sobrevida no grupo que apresentou contagem de linfócitos inferior a $300/\text{mm}^3$, conforme GRÁFICO 10 ($p=0,002$).

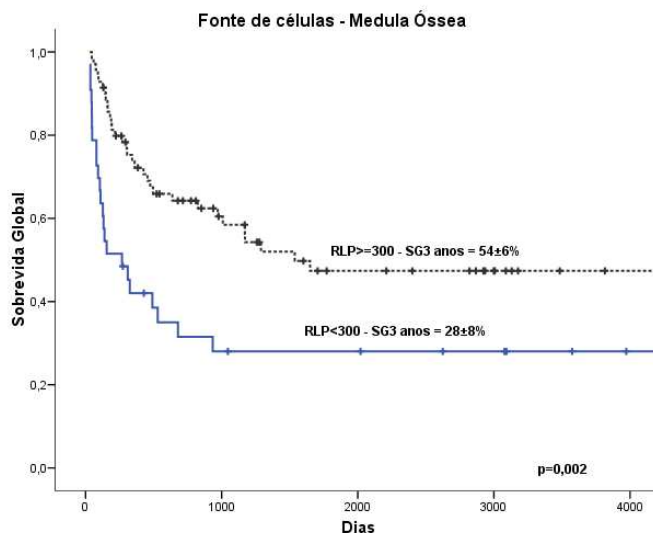


GRÁFICO 10. SG pacientes transplantados com células de medula óssea

Quando analisados somente os pacientes com LLA, não foram observadas diferenças significativas na sobrevida global e sobrevida livre de recaída entre os grupos ($p=0,1$). De forma diferente, os pacientes com LMA que apresentaram contagem de linfócitos superior a $300/\text{mm}^3$, apresentaram sobrevidas global (GRÁFICO 11) e sobrevida livre de eventos (GRÁFICO 12) significativamente superiores ($p=0,02$ e $0,03$ respectivamente).

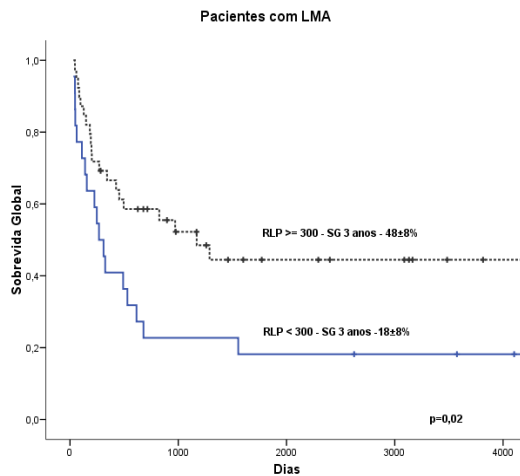


GRÁFICO 11. SG pacientes com LMA, comparação entre os grupos de RLP dia+30

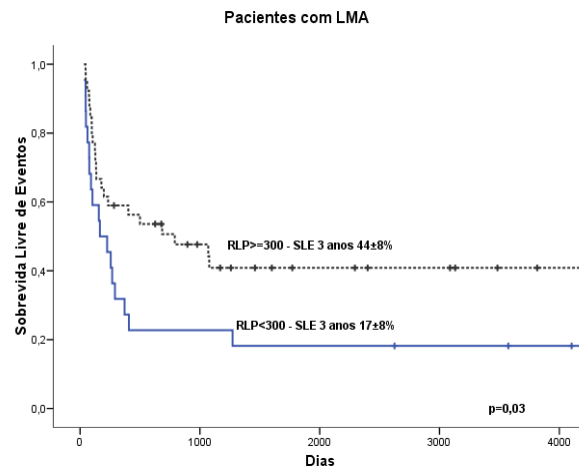


GRÁFICO 12. SLE pacientes com LMA, os grupos comparação entre os grupos de RLP dia+30

Quando analisados somente os pacientes que receberam transplante aparentado com células de medula óssea, observamos que os pacientes com contagem linfocitária superior a $300/\text{mm}^3$ evoluíram com melhor sobrevida global (GRÁFICO 13) e sobrevida livre de recaída (GRÁFICO 14) que o grupo com contagem inferior ($p=0,01$ e $p=0,05$ respectivamente)

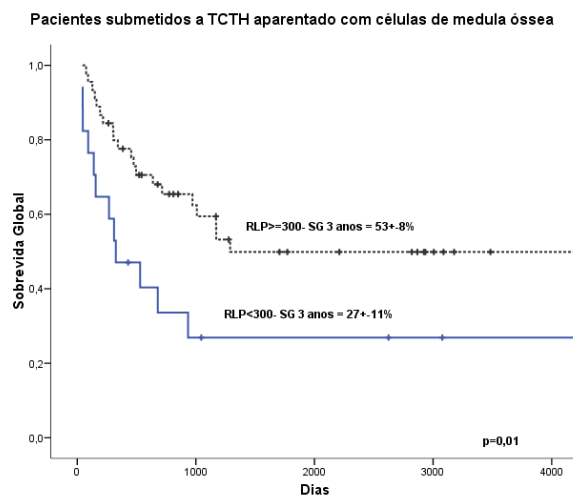


GRÁFICO 13. SG pacientes submetidos a TCTH com doadores aparentados e células de MO

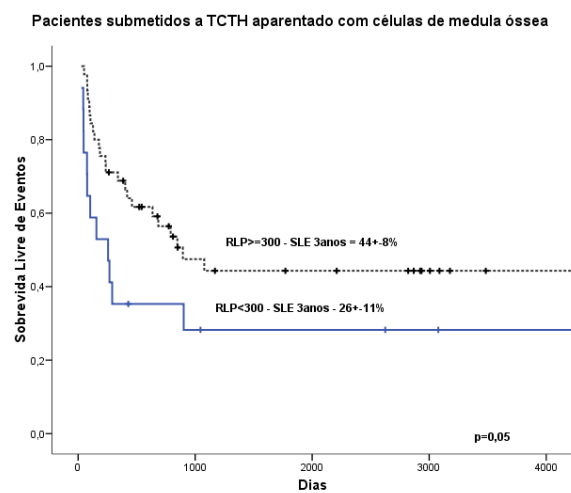


GRÁFICO 14. SLE pacientes submetidos a TCTH com doadores aparentados e células de MO

Analisando a recuperação linfocitária no dia+30 somente nos pacientes com doença precoce no momento do transplante ($n=82$ pacientes), não se observou diferença significativa na SG e SLE quando comparados os grupos de pacientes com $\text{RLP} \geq 300/\text{mm}^3$ e $< 300/\text{mm}^3$. Tampouco se observou diferença na incidência cumulativa de recaída e na análise de mortalidade relacionada ao transplante entre

os dois grupos. Além disso, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos quanto à ocorrência de DECH aguda e infecções.

TABELA 8. ANÁLISE UNIVARIADA PARA RLP+30 E RL+100		
Variável	RLP dia+30 Valor de p	RL dia +100 Valor de p
Status doença	0,02	0,80
Compatibilidade	0,14	0,40
Origem células	0,04	0,68
TCTH AP ou NAP	0,03	0,04
Sexo	0,56	0,59
Idade > ou < 9 anos	0,03	0,38
Diagnóstico	0,33	0,01
DECHa	0,65	0,8
DECHc	0,23	0,43
Uso IAT no condicionamento	0,22	0,03

4.4. ANÁLISE DA RECUPERAÇÃO LINFOCITÁRIA NO DIA +100:

Na análise da recuperação linfocitária no dia +100 do transplante, foram incluídos os 111 pacientes que sobreviveram mais de 100 dias após o TCTH, com pega completa do enxerto. As características dos pacientes divididas em relação a recuperação linfocitária no dia +100 estão descritas na TABELA 9.

As variáveis que apresentaram impacto na recuperação de linfócitos no dia +100 foram: o diagnóstico de LLA ($p=0,01$) e realização de transplante não aparentado ($p=0,04$) e o uso de imunoglobulina antitímocítica no condicionamento ($p=0,03$), demais dados na TABELA 8. Na análise multivariada, nenhum fator teve impacto na recuperação linfocitária no dia +100.

Observamos que os pacientes com contagem linfocitária maior ou igual a $750/\text{mm}^3$ apresentaram sobrevida livre global ($p=0,05$) e sobrevida livre de eventos estatisticamente superior ($p=0,01$), conforme GRÁFICO 15.

TABELA 9: CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES EM RELACAO AOS GRUPOS DE RECUPERAÇÃO DE LINFÓCITOS NO DIA+100

	RL+100 <750/mm ³		RL+100 ≥750/mm ³		Valor de p
	32 pacientes		79 pacientes		
Diagnóstico:					0,006
LLA	24	(75%)	37	(47%)	
LMA	8	(25%)	42	(53%)	
Fonte de Células:					0,6
Sangue de Cordão	4	(13%)	15	(19%)	
Medula óssea	27	(84%)	59	(75%)	
Sangue periférico	1	(3%)	5	(6%)	
Doador x compatibilidade:					0,25
AP Comp	13	(41%)	47	(59%)	
AP com Incomp	2	(6%)	6	(8%)	
NAP comp	13	(41%)	19	(24%)	
NAP com Incomp	4	(12%)	7	(9%)	
Sexo:					0,5
Feminino	10	(31%)	28	(35%)	
Masculino	22	(69%)	51	(65%)	
Idade:					0,3
maior 9 anos	21	(66%)	45	(57%)	
menor 9 anos	11	(34%)	34	(43%)	
Status da doença:					0,6
Doença avançada	14	(44%)	28	(35%)	
Doença precoce	18	(56%)	51	(65%)	

RL+100= recuperação linfocitária no dia +100; LLA=Leucemia linfóide aguda; LMA=Leucemia mieloide aguda; AP=aparentado; NAP= não-aparentado; Comp= compatível; Incomp = incompatibilidades

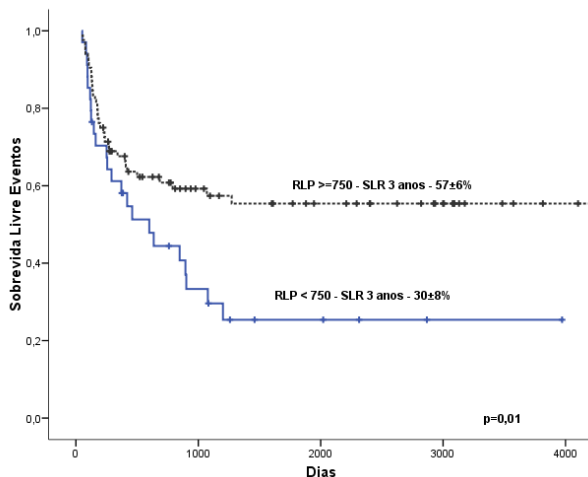


GRÁFICO 15. SLE pacientes avaliáveis para RL dia +100 comparando os grupos

A incidência cumulativa de recaída foi superior no grupo com contagem de linfócitos $<750/\text{mm}^3$, com diferença estatisticamente significativa ($p=0,03$), conforme GRÁFICO 16.

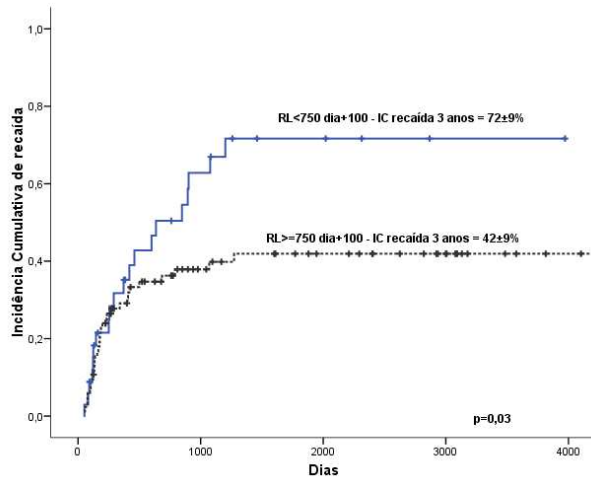


GRÁFICO 16. Comparação IC recaída entre os grupos

Os pacientes com LLA que apresentaram recuperação linfocitária inferior a $750/\text{mm}^3$ apresentaram sobrevida global e sobrevida livre de recaída inferiores ($p=0,01$ e $p=0,000$ respectivamente) quando comparados aos pacientes com contagem de linfócitos $\geq 750/\text{mm}^3$, conforme GRÁFICO 17 e GRÁFICO 18.

Os pacientes com LMA não apresentaram diferença significativa na sobrevida global e sobrevida livre de recaída quando comparados quanto à recuperação de linfócitos no dia +100 ($p=0,2$ e $p=0,4$ respectivamente).

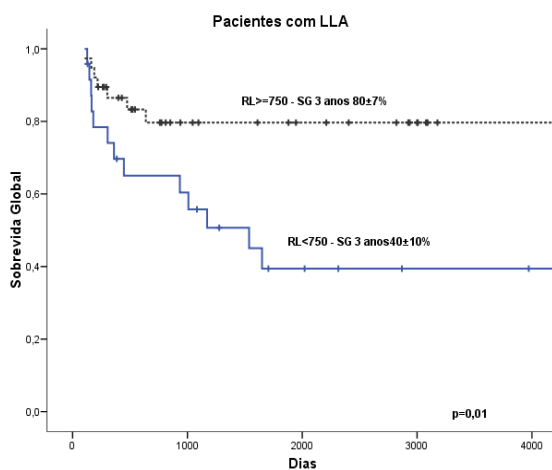


GRÁFICO 17. Comparação SG entre os grupos de RL dia +100, somente nos pacientes com LLA

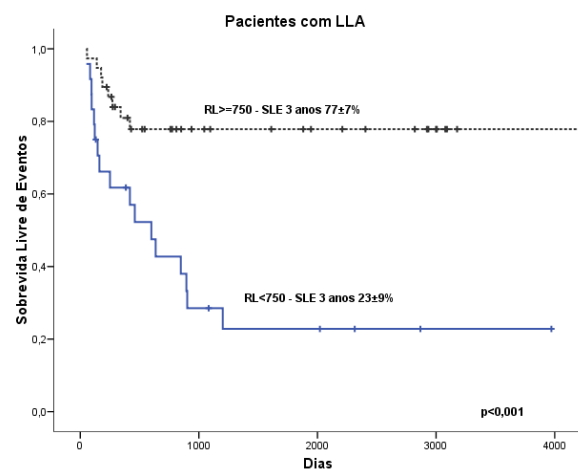


GRÁFICO 18. Comparação SLE entre os grupos de RL dia+100, somente nos pacientes com LLA

Os pacientes submetidos a transplante com doador não aparentado, que evoluíram com contagem de linfócitos superior a $750/\text{mm}^3$, apresentaram sobrevida

global e livre de eventos superior ($p=0,008$ e $p=0,01$ respectivamente), conforme GRÁFICO 19 e GRÁFICO 20.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de recuperação linfocitária no dia +100 quando avaliados somente os pacientes que receberam transplante aparentado ($p=0,1$).

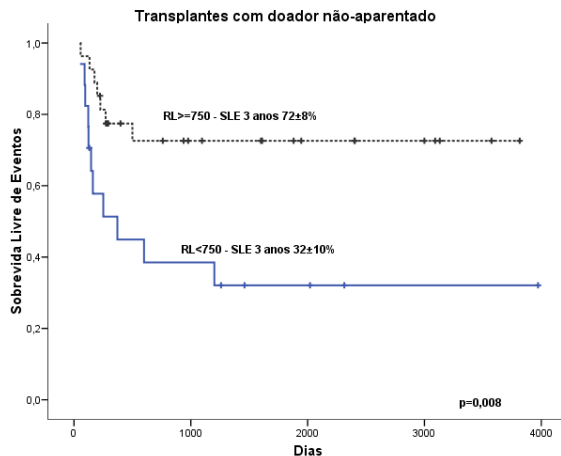


GRÁFICO 19. Comparação SLE grupos de RL dia +100 somente TCTH não aparentado

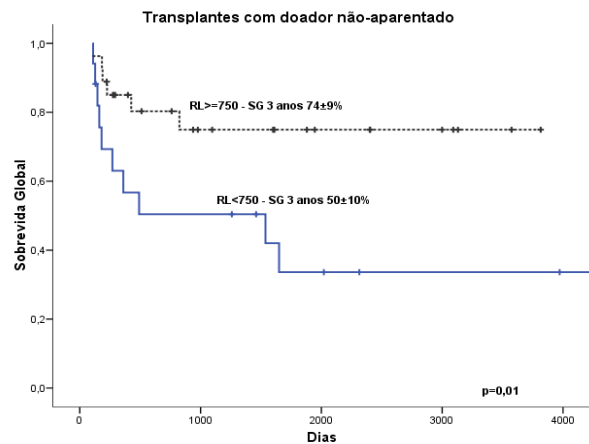


GRÁFICO 20. Comparação SG grupos de RL dia +100 somente TCTH não aparentado

Os pacientes que receberam transplante com células de medula óssea e tiveram contagem de linfócitos superior a $750/\text{mm}^3$ no dia +100, apresentaram uma sobrevida livre de eventos estatisticamente superior ($p=0,002$), conforme GRÁFICO 21. Estes pacientes também mostraram uma tendência a melhor sobrevida global que os pacientes com contagem linfocitária inferior a $750/\text{mm}^3$ ($p=0,07$).

Os pacientes que receberam transplante com células de sangue de cordão umbilical e de sangue periférico não apresentaram diferenças significativas na sobrevida global e sobrevida livre de eventos entre os grupos, em relação à contagem de linfócitos no dia +100.

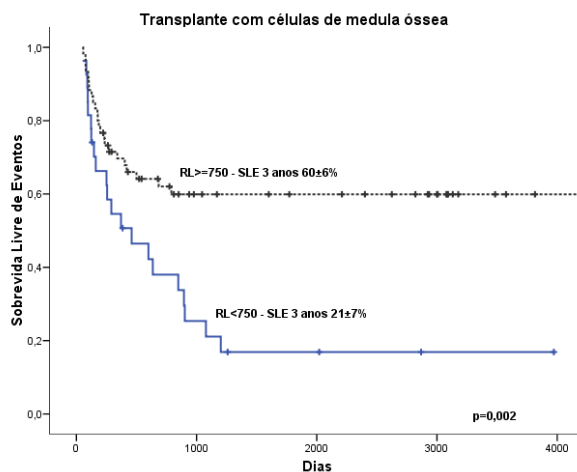


GRÁFICO 21. Comparação SLE somente transplantes com células de medula óssea

Quando avaliados somente os pacientes submetidos à TCTH com doadores não aparentados e que receberam células de medula óssea, observamos que o grupo que apresentou contagem linfocitária inferior a $750/\text{mm}^3$ evoluiu com sobrevida global e sobrevida livre de eventos (GRÁFICO 22) estatisticamente inferior ($p=0,05$ e $p=0,01$ respectivamente).

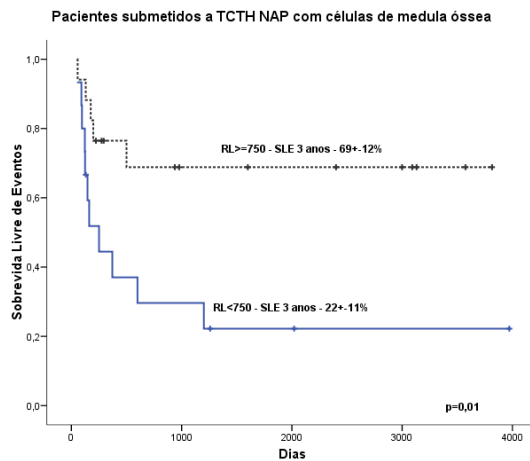


GRÁFICO 22. SLE pacientes submetidos a TCTH não aparentado com células de medula óssea

Quando realizada a análise da RL no dia +100 somente entre os pacientes que apresentavam doença precoce no momento do transplante ($n=72$ pacientes) observou-se uma sobrevida livre de eventos (GRÁFICO 23) significativamente superior ($p=0,007$) nos pacientes que apresentaram recuperação adequada de linfócitos no dia +100. Também se pode observar uma menor incidência cumulativa de recaída no grupo com recuperação linfocitária adequada no dia +100 ($p=0,009$), conforme GRÁFICO 24.

Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos quanto à SG e quanto à ocorrência de DECH crônica ou infecções.

Na análise multivariada deste subgrupo de pacientes, a recuperação linfocitária no dia +100 foi o único fator relacionado com melhor SLE ($p=0,000$). Nenhum fator foi relacionado significativamente com melhor SG.

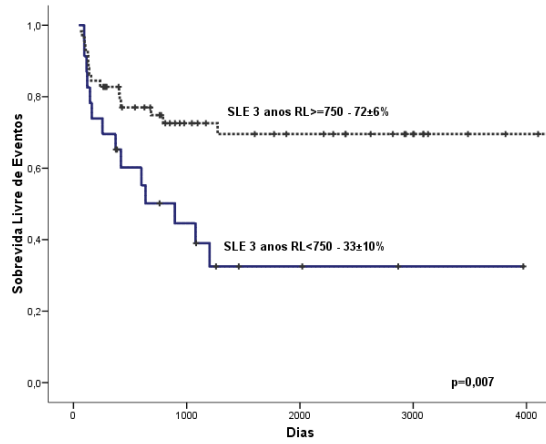


GRÁFICO 23. SLE pacientes com doença precoce, Comparação entre os grupos de RL dia+100 RL dia+100

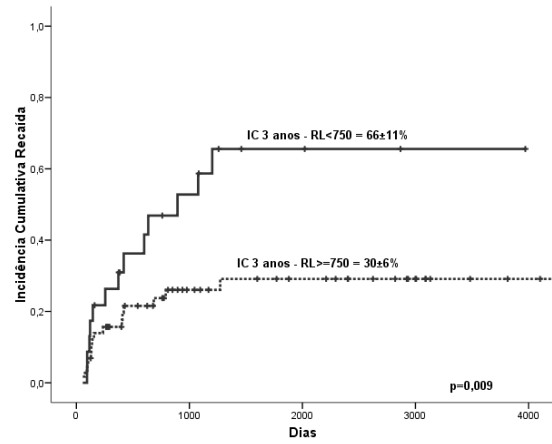


GRÁFICO 24. IC recaída nos pacientes com doença precoce, comparação entre os grupos de

5 DISCUSSÃO

O presente estudo apresenta alguns dos resultados dos TCTH realizados em crianças e adolescentes com leucemia no serviço de Transplante de Medula Óssea da Universidade Federal do Paraná. Após a análise dos dados, foi observado que é possível atingir bons resultados na sobrevida dos pacientes transplantados em uma fase precoce da leucemia e que o principal fator relacionado à sobrevida dos pacientes é o status da doença na época do transplante. Os pacientes transplantados em fase precoce da doença tiveram uma melhor sobrevida global (61% x 27% em 3 anos). Estes dados são similares aos encontrados na literatura (METHA, 2008; LODIEWICK, 2008)

Os resultados obtidos com transplantes não aparentados têm melhorado significativamente com o tempo, atingindo atualmente, índices similares aos dos transplantes aparentados compatíveis (LOCATELLI, 2002; EAPEN, 2007). Neste estudo se observa que os pacientes que receberam transplantes não aparentados evoluíram sem diferenças nas sobrevidas global e livre de eventos quando comparados aos pacientes que receberam transplantes aparentados. Também, não foi observada diferença na sobrevida dos pacientes que receberam transplantes com e sem incompatibilidades, ou em pacientes que receberam transplante com as diferentes fontes de células tronco. Entretanto, o número de transplantes realizados com células tronco de sangue periférico e sangue de cordão umbilical ainda foi muito pequeno para uma validação mais precisa.

Em relação aos transplantes com incompatibilidades, estes dados diferem daqueles relatados na literatura (BARKER, 2001; FLOMENBERG, 2004), provavelmente pelo pequeno número de pacientes e pela impossibilidade de se comparar a tipificação HLA entre os períodos de transplante analisados. Nos últimos anos ocorreram avanços na tipificação HLA, o que resultou na melhor escolha dos doadores de medula óssea e na diminuição da mortalidade relacionada ao procedimento.

Neste estudo foi encontrada uma MRT de 16,8%, valor inferior ao relatado na literatura (BACIGALUPO, 2004). Isso se deve provavelmente ao fato de que neste estudo só foram incluídos pacientes que sobreviveram mais de 30 dias, sendo excluídos outros pacientes com mortalidade mais precoce.

Observa-se que os pacientes que apresentaram algum grau de DECH crônica evoluíram com melhor SG. Esses dados são compatíveis com os apresentados na literatura, que sugerem a ocorrência de efeito EVL relacionado à ocorrência de DECH crônica (JERNBERG, 2003).

A recuperação linfocitária no dia+30 tem sido descrita como um importante fator relacionado com a recaída da doença nos pacientes com leucemia aguda (SAVANI, 2007 e KIM, 2004). Entretanto, neste estudo não se observou diferença significativa na ocorrência de recaída entre os grupos. Acredita-se que os fatores de interferência para tal análise são: o estudo é retrospectivo, tem grande variabilidade na amostra, inclui pacientes transplantados em diferentes épocas, e com diferentes técnicas.

Observou-se que os pacientes que apresentaram recuperação linfocitária precoce $<300/\text{mm}^3$ evoluíram com pior SG e SLE. Estes dados são compatíveis com os observados na literatura, nos estudos realizados anteriormente (KIM, 2004; SAVANI, 2007; ISHAQI, 2008).

Quando os pacientes foram subdivididos para análise da recuperação de linfócitos em relação aos diferentes diagnósticos (LLA e LMA) também não foi observado diferenças na incidência cumulativa de recaída. Entretanto, foi observado que os pacientes com LMA apresentavam pior sobrevida quando evoluíam com recuperação linfocitária $<300/\text{mm}^3$. Estes dados diferem parcialmente dos encontrados na literatura, visto que os estudos publicados mostram maior índice de recaída e pior SG e SLE em ambos os diagnósticos (KUMAR, 2001, 2003 e SAVANI, 2007). Entretanto, não foi observada esta diferença nos pacientes com LLA.

Estudos anteriores (KUMAR, 2001, SAVANI, 2007) relatam uma maior incidência de mortalidade relacionada ao transplante no grupo de pacientes com pior recuperação linfocitária. Estes dados são similares aos relatados neste estudo onde houve uma incidência significativamente superior de MRT nos pacientes com recuperação linfocitária precoce ruim.

Esses estudos sugerem não haver influência da contagem de células nucleadas totais infundidas na ocorrência de recaída, tampouco na SG e SLE dos pacientes (SAVANI, 2007). Aqui, observamos resultados similares aos relatados anteriormente, ou seja, não houve interferência da dose de CNT infundida nos desfechos acima descritos. Entretanto, outro estudo relata que os pacientes que

receberam maior dose de CNT no TCTH apresentaram melhor recuperação linfocitária (KIM, 2004), porém o mesmo resultado não foi observado na população aqui estudada.

A recuperação precoce de linfócitos após o TCTH também parece estar relacionada à ocorrência de infecções, sendo observada uma maior incidência de infecções oportunistas nos pacientes que apresentaram recuperação linfocitária inferior (KIM, 2004). Entretanto, não foram observadas diferenças na ocorrência de infecções virais, bacterianas ou fúngicas entre os grupos de recuperação linfocitária precoce adequada e inadequada.

Outro fator reconhecido como de impacto na recuperação linfocitária é a fonte de células utilizada no TCTH, sendo esperada melhor recuperação nos pacientes que recebem células de sangue periférico, sem depleção de células T (KOEHL, 2007). Estudos também sugerem uma pior recuperação linfocitária nos pacientes transplantados com sangue de cordão umbilical (SZABOLCS, 2011). Este estudo não observou diferenças entre as fontes utilizadas, mas isso provavelmente se deve ao pequeno número de pacientes que recebeu células tronco periféricas e de sangue de cordão umbilical.

Diferente dos dados da literatura, neste estudo não se observou relação do uso de corticóide para prevenção ou tratamento da DECH com pior recuperação linfocitária (KUMAR, 2001). Tampouco foi possível associar o uso de corticóide para profilaxia ou tratamento da DECH com pior recuperação linfocitária nos dias +30 e +100 após o transplante.

Quando analisado um grupo mais homogêneo de pacientes (somente os pacientes que receberam transplante com células de medula óssea de doadores aparentados) se observou uma menor SG e SLE nos pacientes com recuperação linfocitária precoce ruim. Este parece ser um subgrupo importante para a monitorização adequada da recuperação linfocitária pós-transplante.

Por outro lado, quando retirada a principal variável de confundimento deste estudo, o status da doença no momento do transplante, não foi possível observar diferença nas SG e SLE, tampouco na ocorrência de recaída entre os grupos com recuperação linfocitária $\geq 300/\text{mm}^3$ e $< 300/\text{mm}^3$.

Quando analisadas a recuperação de linfócitos no dia +100, observam-se diferenças significativamente superiores nas SG e SLE dos pacientes com contagem de linfócitos superior a $750/\text{mm}^3$, além de uma maior incidência cumulativa de

recaída. Isso mostra a importância da recuperação de linfócitos adequada neste período do transplante. Sabe-se que a maneira mais utilizada para avaliação de recuperação imune neste período é a avaliação por imunofenotipagem, sendo bem conhecido o papel da recuperação de células CD8+ e NK na ocorrência de recaída, mortalidade e infecções (KOEHL, 2007).

Considerando-se que os pacientes apresentam recuperação de células NK nos primeiros 30 dias pós-TCTH e de linfócitos CD8+ por volta de 2 a 3 meses após o TCTH, pode-se inferir que os pacientes que não apresentam recuperação de linfócitos adequada no hemograma do dia +100, não apresentam recuperação adequada destas células. Entretanto, para comprovação desta hipótese seria necessária a avaliação paralela da contagem de linfócitos no hemograma e na imunofenotipagem de sangue periférico.

Este estudo pretendia coletar os dados referentes a análise de recuperação imune realizada por imunofenotipagem do sangue periférico no dia +100. Entretanto esta análise só foi incorporada a prática habitual após o ano de 2005, o que limitou a presença deste dado a um número muito pequeno de prontuários revisados (17 pacientes). Desta forma não foi possível realizar análise comparativa da recuperação imune avaliada por imunofenotipagem e avaliação de recuperação de linfócitos no hemograma do dia +100.

Diferente dos dados encontrados na avaliação da recuperação linfocitária no dia +30, foi observado maior impacto da recuperação linfocitária no dia +100 nos pacientes com LLA. Os resultados do dia +100 estão relacionados a superiores SG e SLE nos pacientes com contagem $\geq 750/\text{mm}^3$. Estes resultados são similares nos pacientes que foram submetidos a TCTH com doadores não aparentados. Não foram encontrados relatos similares na literatura para comparação, entretanto, acreditamos que estes subgrupos de pacientes mereçam atenção neste período do pós-transplante.

Desta forma, quando avaliados somente os pacientes que receberam transplante não aparentado com células provenientes de medula óssea, observa-se uma diferença significativa nas SG e SLE, havendo melhor evolução no grupo que apresentou contagem de linfócitos no dia +100 $\geq 750/\text{mm}^3$. Todavia, ao se fazer a análise de subgrupos, o número de pacientes fica bastante reduzido, sendo necessária uma avaliação cuidadosa dos resultados.

Quando analisados somente os pacientes com doença precoce no momento do transplante, observamos que os pacientes que apresentaram recuperação linfocitária adequada no dia +100 ($\geq 750/\text{mm}^3$) apresentam melhor SLE e menor incidência de recaída. Este resultado nos leva a concluir que os pacientes transplantados com doença precoce necessitam de medidas para evitar a recaída da doença se não apresentarem recuperação linfocitária adequada. Estas medidas são importantes visto que este grupo tem boas chances de sobrevida. Para este grupo em particular, deve-se considerar a possibilidade de redução rápida da imunossupressão e eventualmente, infusão de linfócitos do doador, para evitar recaída da doença.

6 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo não puderam comprovar o papel da avaliação linfocitária precoce (no dia +30) como preditor de risco de recaída, visto que não se observou diferença significativa na ocorrência de recaída nos pacientes que apresentam recuperação linfocitária inferior ou superior a $300/\text{mm}^3$ no dia +30 pós-TCTH.

Por outro lado, a análise da recuperação precoce de linfócitos pode ser útil para prever a sobrevida global e sobrevida livre de eventos após o TCTH, uma vez que os pacientes com recuperação linfocitária precoce inferior a $300/\text{mm}^3$ apresentaram piores SG e SLE.

A mortalidade relacionada ao transplante também foi significativamente superior no grupo de pacientes com recuperação linfocitária inadequada ($<300/\text{mm}^3$).

Este estudo não encontrou diferenças na ocorrência de infecções virais, fúngicas e bacterianas entre os grupos com recuperação linfocitária inferior ou superior a $300/\text{mm}^3$.

Também não foram observadas diferenças entre os dois grupos de RLP no dia +30 quanto ao desenvolvimento de DECH aguda ou crônica.

Em relação à recuperação linfocitária no dia +100 pós-TCTH, observou-se maior incidência cumulativa de recaída no grupo de pacientes com recuperação linfocitária inferior a $750/\text{mm}^3$, assim como menores SG e SLE neste grupo de pacientes. Dentre os pacientes com doença precoce, a RL dia+100 adequada foi relacionada com menor ocorrência de recaída e maior SLE.

Conclui-se, entretanto, que seria necessária uma avaliação prospectiva, num grupo mais homogêneo de pacientes, com análise paralela da recuperação de linfócitos por imunofenotipagem, para comprovação destes resultados.

REFERÊNCIAS

- AVERSA, F., REISNER, Y., MARTELLI, M.F. The haploidentical option for high-risk haematological malignancies. **Blood Cells Mol Dis.** v.40, p.8-12, 2008.
- ARICO, M., et al. Outcome of treatment in children with philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. **N Engl J Med.** v.342, n.14, p.998-1006, 2000.
- BACIGALUPO, A., et al. Allogeneic hemopoietic stem cell transplants for patients with relapsed acute leukemia: long-term outcome. **Bone Marrow Transplant.** v.39, p.341-346, 2007.
- BACIGALUPO, A. et al. Reducing transplant-related mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Haematologica.** v.89, p.1238-1247, 2004.
- BAIRD, K., COOKE, K. and SHULTZ, K. Chronic Graft-Versus-Host Disease (GVHD) in Children. **Pediatr Clin N Am.** v.57, p.297–322, 2010.
- BARKER, J.N., et al. Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen–matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. **Blood.** v. 97, n.10, p.2957-2961, 2001.
- BATHIA, S., ROBINSON, L. **Epidemiology of leukemia in childhood.** In:Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT, eds. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and childhood. 6th ed. Philadelphia: Saunders. p.1081-1100, 2003.
- BEUTLER, E. The treatment of acute leukemia: past, present, and future. **Leukemia.** v. 15, p. 658-661, 2001.
- BEHRINGER, D., et al. Quantitative Lymphocyte subset reconstitution after allogeneic hematopoietic transplantation from matched related donors with CD34+ selected PBPC grafts unselected PBPC grafts or BM grafts. **Bone Marrow Transplant.** v.24, p.295-302, 1999.
- BROWN, R. A. et al. Long-Term Follow-Up of High-Risk Allogeneic Peripheral-Blood Stem-Cell Transplant Recipients: Graft-Versus-Host Disease and Transplant-Related Mortality. **J Clin Oncol.** v.17, p 806-812, 1999.
- BUNIN N. et al. Unrelated marrow transplantation for children with acute lymphoblastic leukemia in second remission. **Blood.** v.99, p.3151-3157, 2002.
- BUNIN N.J., et al. Unrelated Donor Bone Marrow Transplantation for Children With Acute Myeloid Leukemia Beyond First Remission or Refractory to Chemotherapy. **J Clin Oncol.** v.26, p.4326-4332, 2008.
- CHAKRABARTI, S. et al. Early lymphocyte recovery is an important determinant of outcome following allogeneic transplantation with CD34_ selected graft and limited T-cell addback. **Bone Marrow Transplant.** v.32, p.23-30, 2003.

DAVIES, S.M., et al. Comparison of Preparative Regimens in Transplants for Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. **J Clin Oncol.** v. 18, n.2, p.340-347, 2000.

DAVIES, S.M., ROWE, J.M., APPELBAUM, F.R. Indications for Hematopoietic Cell Transplantation in Acute Leukemia. **Bone Marrow Transplant.** v.142, p.154-164, 2008.

EAPEN, M., et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study. **Lancet.** v.369, p.1947-1954, 2007.

EINSELE, H. et al. Lymphocytopenia as an unfavorable prognostic factor in patients with cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation. **Blood.** v.82, p1672-1678, 1993.

FAGIOLI, F. et al.. Allogeneic Stem Cell Transplantation for Children With Acute Myeloid Leukemia in Second Complete Remission. **J Pediatr Hematol Oncol.** v. 30, n.8, p.575-583, 2008.

FILIPOVICH, A. H. et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. Diagnosis and Staging Working Group Report. **Biol Blood Marrow Transplant.** v.11, p.945-955, 2005.

FLOMENBERG, N. et al. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. **Blood.** v.104, p.1923-30, 2004.

FLOWERS, M. E. D.; KANSU, E.; SULLIVAN, K. M. Pathophysiology and treatment of graft-versus-host disease. **Hematology.** v. 13, n.5, p.1091-1112, 1999.

FUJIMAKI, K., et al. Immune reconstitution assessed during five years after allogeneic bone marrow transplantation. **Bone Marrow Transplant.** v.27, p.1275–1281, 2001.

FRY, T.J., MACKALL, C.L. Immune reconstitution following hematopoietic progenitor cell transplantation: challenges for the future. **Bone Marrow Transplant.** v. 35, p.S53–S57, 2005.

FRY, T., WILLASCH, A., BADER, P. The Graft-Versus-Tumor Effect in Pediatric Malignancy. **Pediatr Clin North Am.** v.57, n.1, p.67-81, 2010.

GREAVES, M. F.. Molecular genetic, natural history and the demise of childhood leukaemia. **Eur J Cancer,** v. 35, p. 1941-1953, 1999.

GREWAL, S.S., et al. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? **Blood.** v.101, n.11, p.4233-4244, 2003.

HAHN, T. et al. The Role of Cytotoxic Therapy with Hematopoietic Stem Cell Transplantation in the Therapy of Acute Lymphoblastic Leukemia in Children: An Evidence-Based Review. **Biol Blood Marrow Transplant.** v. 11, n.11, p. 823-861, 2005.

HAMERSCHLAK, N. Leukemia: genetics and prognostic factors. **J Pediatr.** v.84, n.4, p.S52-57, 2008.

HUANG, X. Current status of haploidentical stem cell transplantation for Leukemia. **J Hematol Oncol.** 2008, p.1:27.

ISHAQI, M.K. et al. Early lymphocyte recovery post-allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is associated with significant graft-versus-leukemia effect without increase in graft-versus-host disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Bone Marrow Transplant.** v.41, p.245-252, 2008.

JACOBSON, A.D., et al. Outcomes of unrelated cord blood transplants and allogeneic-related hematopoietic stem cell transplants in children with high-risk acute lymphocytic leukemia. **Bone Marrow Transplant.** v.34, p.901–907, 2004.

JERNBERG, A.G., REMBERGER, M., RINGDÉN O. and WINIARSKI, J. Graft-versus-leukaemia effect in children: chronic GVHD has a significant impact on relapse and survival. **Bone Marrow Transplant.** v.31, p.175–181, 2003.

KALWAK, K. et al. Immune reconstitution after haematopoietic cell transplantation in children: immunophenotype analysis with regard to factors affecting the speed of recovery . **Br J Haematol.** v.118, p.74–89, 2002.

KERNAN, N. A. et al. Analysis of 462 transplantations from unrelated donors facilitated by the National Marrow Donor Program. **N Engl J Med.** v. 328, p. 593–602, 1993.

KIM, D.H. et al. Clinical impact of early absolute lymphocyte count after allogeneic stem cell transplantation. **Br J Haematol.** v.125, p.217-224, 2004.

KOEHL, U. et al. Immune recovery in children undergoing allogeneic stem cell transplantation: absolute CD8+CD3+ count reconstitution is associated with survival. **Bone Marrow Transplant.** v.39, p. 269–278, 2007.

KUMAR, S. Effect of slow lymphocyte recovery and type of graft-versus-host disease prophylaxis on relapse after allogeneic bone marrow transplantation for acute myelogenous leukemia. **Bone Marrow Transplant.** v.28, p.951–956, 2001.

KUMAR, S. et al. Lymphocyte recovery after allogeneic bone marrow transplantation predicts risk of relapse in acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia.** v.17, n.9, p.1865–1870, 2003.

LEE, K.H. et al. Prognostic factors identifiable at the time of onset of acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Haematologica**. v.90, p.939-948, 2005.

LEE, S.J.; FLOWERS, M. E. D. Recognizing and Managing Chronic Graft-Versus-Host Disease. **Hematology**. p.134-141, 2008.

LEUNG, W, et. al. Allogeneic bone marrow transplantation for infants with acute leukemia or myelodysplastic syndrome. **Bone Marrow Transplant**. v.27, n.7, p. 717-722, 2001.

LINET, M.S., et.al. Cancer surveillance series: recent trends in childhood cancer incidence and mortality in the United States. **J Natl Cancer Inst**. v.91, p.1051–1058,1999.

LOCATELLI, F., et al. Improvement over time in outcome for children with acute lymphoblastic leukemia in second remission given hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. **Leukemia**. v.16, p.2228–2237, 2002.

LODEWICK, T. and CORNELISSEN, J.J. Allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia: a risk-adapted approach. **Blood Rev**. v. 22, p.293-302, 2008.

LUSIS, M.K.P. Classificação FAB das leucemias mieloides agudas. **Rev Bras Hematol e Hemoter**. v.22, n.2, p.175-178, 2000.

MACMILLAN, M.L. et al. Twenty Years of Unrelated Donor Bone Marrow Transplantation for Pediatric Acute Leukemia Facilitated by the National Marrow Donor Program. **Biol Blood Marrow Transplant**. v.14, p.16-22, 2008.

METHA, P.A. e DAVIES S.M. Allogeneic transplantation for childhood ALL. **Bone Marrow Transplant**. v. 41, p.133–139, 2008.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA. 20010;37-9.

MONTERO, A. et al. T cell depleted peripheral blood stem cell allotransplantation with T cell add back for patients with hematological malignancies: effect of chronic GVHD on outcome. **Biol Blood Marrow Transplant**. n.12, p.1318-1325, 2006.

MORANDO, J. et al. Transplante de células-tronco hematopoéticas em crianças e adolescentes com leucemia aguda. Experiência de duas instituições brasileiras. **Rev Bras Hematol Hemoter**. v.32, n.5, p.350-357, 2010.

NUCCI, M., MAIOLINO, A. Infecções em transplante de medula óssea. **Medicina, Ribeirão Preto**, v.33, p.278-293, 2000.

PAES, R.A. et al. Classificação da Organização Mundial de Saúde para as neoplasias dos tecidos hematopoiético e linfóide: proposta de padronização

terminológica em língua portuguesa do grupo de hematopatologia da Sociedade Brasileira de Patologia. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** v. 38, n. 3, p.237-239, 2002.

PIZZO, P.A. and POPLACK, D.G. **Principles and Practice of Pediatric Oncology.** Fifth edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. (pg 538 a 590)

PUI, C. H., EVANS, W. E Acute lymphoblastic leukemia. **N Engl J Med.** v. 339, p.605-615, 1998.

PUI, C.H., EVANS, W.E. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. **N Engl J Med.** v. 354, p. 166-178, 2006.

REISNER, Y., et al. Transplantation for severe combined immunodeficiency with HLA-A,B,D,DR incompatible parental marrow cells fractionated by soybean agglutinin and sheep red blood cells. **Blood.** v.61, n.2, p. 342-348,1983.

ROCHA, V., et al. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. **Blood.** v.97, p.2962-971, 2001.

SALIBA, R.M. et al. Correlates and outcome of absolute lymphocyte count (ALC) on day 30 post allogeneic stem cell transplantation (SCT) for treatment of AML. **Biol Bone Marrow Transplant.** v.13, n. 2, p. 98, 2007.

SAVANI, B. N. et al. Absolute Lymphocyte Count on Day 30 Is a Surrogate for Robust Hematopoietic Recovery and Strongly Predicts Outcome after T Cell-Depleted Allogeneic Stem Cell Transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant.** v.13, p.1216-1223, 2007.

SCHNEIDER, N.R., et al. New recurring cytogenetic abnormalities and association of blast cell karyotypes with prognosis in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group report of 343 cases. **Blood.** n.96, v.6, p. 2543-2549, 2000.

SCHOLL, S. et al. Impact of early NK cell recovery on development of GvHD and CMV reactivation in dose-reduced regimen prior to allogeneic PBSCT. **Bone Marrow Transplant.** v. 35, p. 183-190, 2005.

SEBER, A. O transplante de células-tronco hematopoéticas na infância: situação atual e perspectivas. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** v.31, p.59-67, São Paulo, 2009.

SHENOY, S. and SMITH, F.O. Hematopoietic stem cell transplantation for childhood malignancies of myeloid origin. **Bone Marrow Transplant.** v. 41, p. 141-148, 2008.

SHILLING, H.G. et al. Reconstitution of NK cell receptor repertoire following HLA-matched hematopoietic cell transplantation. **Blood.** v.101, n.9, p.3730-3740, 2003.

SHULMAN, H.M., et al. Chronic graft versus host syndrome in man. A long term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. **Am J Med.** v.69, p.204-217, 1980.

SZABOLCS, P. T-lymphocyte recovery and function after cord blood transplantation. **Immunol Res.** v. 49, p. 56–69, 2011.

SZYDLO, R. et al. Results of allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings. **J Clin Oncol.** v.15, p.1767-1777, 1997.

THOMAS, E. D.; BLUME, K.G.; FORMAN, S.J. **Hematopoietic cell transplantation.** 3rd edition, Boston: Blackwell Science, 2004.

VELARDI, A., et al. Clinical impact of natural killer cell reconstitution after allogeneic hematopoietic transplantation. **Semin Immunopathol.** v.30, p.489-503, 2008.

WAGNER, J. E. et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. **Blood.** v.100, n.5, p.1611-1617, 2002.

WOODS, W.G. et al. A comparison of allogeneic bone marrow transplantation, autologous bone marrow transplantation, and aggressive chemotherapy in children with acute myeloid leukemia in remission: a report from the Children's Cancer Group. **Blood.** v.97, n.1, p.56-62, 2001.

ZAGO, M. A., FALCÃO, R. P., PASQUINI, R. **Hematologia: Fundamentos e Prática.** São Paulo: Editora Atheneu, 2001.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 FICHA DE COLETA DE DADOS

Nome: _____
 REG: _____
 Idade no TMO: _____ Data nascimento: _____
 Diagnóstico: () LLA () LMA
 Tipo de Transplante: () aparentado () não aparentado
 Tipo Células infundidas: () sangue de cordão () medula óssea () células periféricas
 Nº cels totais infundidas: _____
 Nº de cels CD34+ infundidas: _____
 Compatibilidade HLA: _____
 Situação Clínica: _____
 Características da Doença: _____
 Data TMO: _____
 Condicionamento utilizado: _____
 Imunoprofilaxia : _____
 Mucosite: () sim () não Grau _____
 DECHA: () sim () não Grau _____
 DECHC: () sim () não Grau _____
 Tratamento DECH: _____
 Outras complicações: _____
 Pega: () sim () não Parcial/Completa _____
 Infecção: () sim () não Qual: _____
 Época da infecção: _____
 Recaída: () sim () não Data recaída: _____
 SG: _____ SLR: _____
 Óbito: () sim () não Data óbito: _____
 Causa do óbito: _____
 VNTR dia + 30: _____ VNTR dia + 100: _____
 Data último contato: _____
 Linfócito D30: _____ D100: _____
 Imunofenotipagem (data _____): CD3: _____ CD4: _____ CD8: _____
 CD56: _____ CD19: _____
 Dosagem de imunoglobulinas (data: _____): IgG: _____ IgM: _____ IgA: _____

APÊNDICE 2 ANÁLISE RLP DIA+30 E RL DIA+100 SOMENTE NOS PACIENTES COM DOENÇA PRECOCE

Na tentativa de retirar o maior fator de confundimento desta análises, o status da doença no momento do transplante, foi realizada avaliação da recuperação linfocitária no dia+30 somente nos pacientes com doença precoce no momento do transplante (n=82 pacientes).

A sobrevida global deste grupo de pacientes foi 62% em 3 anos e a SLE foi de 52% em 3 anos.

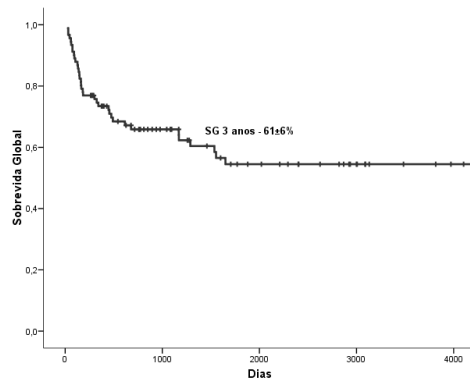


GRÁFICO 24. SG pacientes com doença precoce

Características pacientes com doença precoce	
	N=82 (%)
Diagnóstico:	
LLA	48 (58,5)
LMA	34 (41,5)
Sexo	
Masculino	54 (66)
feminino	28 (34)
Idade	
≥ 9anos	43 (52,5)
< 9 anos	39 (47,5)
Doador:	
Aparentado	47 (57)
Não aparentado	35 (43)
RLP dia + 30	
≥300/mm ³	56 (68)
<300/mm ³	26 (32)
RL dia + 100	
≥750/mm ³	52 (63,5)
<750/mm ³	20 (24,5)
NA	10 (12)
DECH aguda	
Sim	27 (33)
Não	49 (60)
NA	6 (7)
DECH crônica	

Não	58 (71)
Sim	12 (14,5)
NA	12 (14,5)
Condicionamento	
BUS+CFA	24 (29)
ICT + CFA	38 (46,5)
ICT+CFA+ATG	19 (23)
CFA+FLUDARA	1 (1,5)
Imunoprofilaxia	
CSA	2 (2,5)
CSA+CTC	15 (18,5)
CSA+MTX	65 (79)

Assim como quando avaliado o grupo total de pacientes, não se observou diferença na sobrevida dos pacientes quando comparados: LLA e LMA, doador aparentado e não aparentado, idade do paciente ao transplante, origem das células utilizadas no TCTH, sexo e compatibilidade com doador.

Não se observou diferença significativa na SG e SLE quando comparados os grupos de pacientes com diferentes RLP ($\geq 300/\text{mm}^3$ e $< 300/\text{mm}^3$). Tampouco se observou diferença na incidência cumulativa de recaída e na análise de mortalidade relacionada ao transplante entre os dois grupos.

Também não foi observada diferença significativa entre os grupos quanto à ocorrência de DECH aguda e infecções. Os pacientes que evoluíram com DECH crônica, apresentaram melhor SG (85% x 52% $p=0,02$)

Na análise univariada, os fatores que foram relacionados com pior recuperação linfocitária no dia +30 foram: uso de células de sangue de cordão umbilical ($p=0,02$), e transplante não aparentado ($p=0,03$), demais dados na TABELA 8. Na análise multivariada nenhum fator se mostrou estatisticamente significativo para a recuperação linfocitária no dia +30.

Quando realizada a análise da RL no dia +100 somente entre os pacientes que apresentavam doença precoce no momento do transplante encontrou-se, como fatores relacionados com pior recuperação linfocitária no dia +100: diagnóstico de LLA ($p=0,05$), uso de IAT no condicionamento ($p=0,03$) e realização de transplante não aparentado ($p=0,028$), demais dados na TABELA 1. Na análise multivariada, somente o diagnóstico foi relacionado com pior recuperação linfocitária no dia +100

Neste grupo de pacientes observou-se uma sobrevida livre de eventos (GRÁFICO 1) significativamente superior ($p=0,007$) nos pacientes que apresentaram recuperação adequada de linfócitos no dia +100. Também se pode observar uma

menor incidência cumulativa de recaída no grupo com recuperação linfocitária adequada no dia +100 ($p=0,009$), conforme GRÁFICO 2.

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos quanto à ocorrência de infecções e na SG.

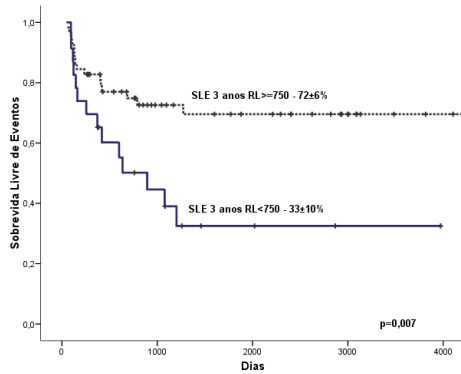


GRÁFICO 1. SLE pacientes com doença precoce, precoce comparação entre os grupos de RL dia +100

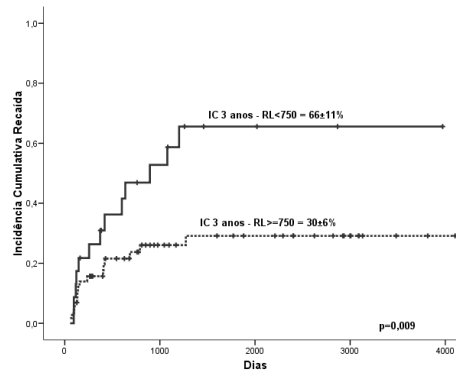


GRÁFICO 2. IC recaída somente pacientes com doença precoce comparação entre os grupos de RL dia +100

Na análise univariada, a recuperação linfocitária adequada no dia +100 e a ocorrência de DECH crônica puderam ser relacionadas com melhor SG e SLE, demais dados na TABELA 2.

Na análise multivariada, a recuperação linfocitária no dia +100 foi o único fator relacionado com a com a SLE ($p=0,000$). Nenhum fator foi relacionado significativamente com melhor SG.

TABELA 1. Análise univariada para RLP+30 e RL+100, somente pacientes com doença precoce no momento do TCTH		
Variável	RLP dia+30 Valor de p	RL dia +100 Valor de p
Compatibilidade	0,95	0,53
Origem células	0,02	0,3
TCTH AP ou NAP	0,03	0,02
Sexo	0,57	0,17
Idade > ou < 9 anos	0,23	0,21
Diagnóstico	0,51	0,05
DECHa	0,46	0,23
DECHc	0,55	0,51
Uso IAT no condicionamento	0,97	0,03

TABELA 2. Análise univariada para SG e SLE, somente pacientes com doença precoce no momento do TCTH		
Variável	SG Valor de p	SLE Valor de p
Compatibilidade	0,85	0,56
Origem células	0,92	0,92
TCTH AP ou NAP	0,80	0,90
Sexo	0,13	0,19
Idade > ou < 9 anos	0,86	0,53
Diagnóstico	0,26	0,42
DECHa	0,58	0,74
DECHc	0,02	0,09
Uso IAT no condicionamento	0,48	0,30
RLP dia +30	0,48	0,91
RL dia +100	0,000	0,000

