

Transplantes Haploidênticos

1) Introdução

As iniciativas de transplantes haploidênticos nos anos 70 foram catastróficas e proibitivas com incidência de doença do enxerto vs hospedeiro acima de 70% e falha de enxertia de 20% ¹. Nos anos 80, com a utilização da depleção das células T com hemácias de carneiro a metodologia começou a ter aceitação ¹.

Em 1994, o grupo italiano com equipamento de seleção de células CD34, demonstrou diminuição dos riscos de rejeição utilizando altas doses de células (“mega dose” : 13.8×10^6 CD34 com 1×10^4 CD3) ². Em 2007, o grupo da Duke University, liderado por Nelson Chao apresentou protocolo sem seleção de células CD34 “in vitro”, mas com depleção “in vivo” utilizando Campath no regime de condicionamento ³. Mas um grande avanço se deu em 2008 quando o grupo de Baltimore liderado por Efraim Fuchs consolidou o uso da ciclofosfamida nos dias +3 e +4 pós transplante também com depleção “in vivo” ⁴. Deste momento em diante, o que se vê é uma busca constante por metodologias que melhorem ainda mais os resultados dos transplantes haploidênticos ^{5,6}. As vantagens do uso deste tipo de transplante são a disponibilidade imediata do doador, o acesso imediato ao doador para terapia celular no pós-TMO e a possibilidade de selecionar diversos familiares de acordo com características clínicas e alo-reatividade NK. Como desvantagens podemos citar o potencial maior risco de doença do enxerto vs hospedeiro (DECH), a necessidade de depleção de células T *in vivo* ou *ex vivo*, levando a uma maior incidência de infecção pela lenta imuno-reconstituição e alta incidência de recidiva ⁶. Mas sem dúvida a grande vantagem é que considerando-se que 40-50% dos pacientes não tem doadores aparentados ou não aparentados compatíveis, HLA “*mis match*” ou haplo de parentes de primeiro grau podem ser encontrados em mais de 95% dos pacientes ^{7,8,9}

No Brasil, a utilização da ciclofosfamida pós transplante é a forma utilizada com maior frequência para a realização de transplantes haploidênticos. Esta escolha não é por acaso. Em primeiro lugar, resulta do alto custo do processamento com coluna que fica reservado a poucos centros de tratamento que possuem protocolos específicos para, por exemplo, em imunodeficiências congênitas. Em Segundo, pois trabalhos da literatura apontam que os resultados tem uma tendência a serem melhores pois , apenas os linfócitos alo-reativos são atingidos. ^{4,8,9}

Os trabalhos que buscam comparar o transplante haploidêntico com outros alternativos como os de cordão umbilical ou não aparentados mismatch não demonstram grande superioridade entre uma ou outra forma de transplantar. Tendo em vista que fatores como tipo de incompatibilidade (mis-match), presença de anticorpos anti HLA, reatividade KIR, NIMA e HLA C em cordões podem ajudar emu ma decisão, o quadro 1 pode ser utilizado como guia ^{10,11,12,13}

Recentemente, o grupo do MD Anderson, liderado pelo Dr Stefan Ciurea, mostrou resultados comparáveis entre transplantes haploidênticos e não aparentados ,mesmo totalmente compatíveis. Isto abre a possibilidade de , utilizar-se o haploidêntico em primeira linha quando doadores aparentados compatíveis não forem encontrados e quando houver demora para o encontro de doadores não aparentados por dificuldades geneticas ou operacionais.¹⁴

2) Vantagens e Desvantagens do uso de doadores haploidênticos

Comparando-se com outras fontes de doadores, as principais vantagens do uso de transplantes haploidênticos são ^{6,7,9}:

- a) Disponibilidade. Calcula-se que um paciente tenha 2,7 doadores potenciais haploidênticos entre seus parentes de primeiro grau. Compara-se este número aos 25 a 30% de chance de um doador familiar HLA idêntico e às chances variáveis entre 16 a 75% de um doador totalmente

- compatível (8x8) em um registro de doadores, dependendo da dificuldade genética de cada caso.
- b) Disponibilidade imediata: em casos urgentes em que não temos doadores familiares compatíveis, um doador haploidêmico será rapidamente selecionado, comparando-se com o tempo médio de busca e confirmação de um doador não aparentado que é em torno de 3 a 4 meses.
 - c) Baixo custo, comparando-se com doadores não aparentados e com o sangue de cordão umbilical, os custos são significativamente mais baixos na busca de doadores haploidêmicos
 - d) Possibilidade de uso das células do doador para imunoterapia (infusão de linfócitos). Esta estratégia é impossível no caso de cordões umbilicais

No entanto, o uso de métodos que visam a depleção das células T reduzem a incidência de doença do enxerto vs hospedeiro, porém aumenta o risco de rejeição, infecções e diminuem a reação do enxerto vs leukemia.^{10, 11, 12}

3) Principais estratégias atuais para transplantes haploidêmicos:

- a) Depleção de células T “in vitro”: esta metodologia utiliza mega doses de CD34 e é utilizada pelo grupo de Perugia^{1,2,11,12}
- b) GIAC: usa o GCSF (G) para estimular o doador e uma imunossupressão intensificada pós transplante (I), uso de ATG (A) e uso combinado (C) de Medula óssea e sangue periférico. Esta metodologia é utilizada quase que exclusivamente na China onde existe uma vasta experiência em transplantes haploidêmicos¹²
- c) Ciclofosfamida pós –transplante: esta é a principal forma de depleção de células T usada no mundo com adaptações aos primeiros trabalhos com transplante não mieloablativo utilizando Fludarabina, irradiação corporal total em baixas doses (200 Gy) e ciclofosfamida. Ciclofosfamida 50 mg/kg é utilizada nos dias + 3 e +4 e a profilaxia de doença do enxerto vs hospedeiro feita com MMF e tacrolimus^{4,14,16}

- 4) Escolha do melhor doador: Segundo estudo publicado pelo grupo chinês, o melhor doador é jovem e do sexo masculino. O pai tem preferência pela mãe. É importante também a avaliação do grupo sanguíneo, da sorologia para citomegalovírus, a presença de anticorpos HLA doador específico, NIMA e reatividade kir¹⁸

4) Experiência Brasileira com Transplantes Haploidênticos

Os transplantes haploidênticos vem aumentando nos centros brasileiros. Até meados de 2013, 85 transplantes haviam sido realizados. Desta data até meados de 2015 mais 100 transplantes ocorreram, totalizando 185 casos realizados.

A maioria em Leucemias agudas (90 pacientes), anemia aplástica severa (24 pacientes) e Linfoma de Hodgkin 20 pacientes, sendo o restante pulverizado entre outras indicações de doenças malignas e não malignas.

A sobrevida geral destes pacientes pode ser analisada no gráfico 1.

A presença de doença venooclusiva hepática foi o único fator que impactou na sobrevida em análise multivariada dos casos brasileiros como se pode ver na tabela 1.

Com relação a iniciativas específicas, o grupo brasileiro publicou a maior série de casos de anemia aplástica severa (16 pacientes) com resultados interessantes (gráfico 2) e no Congresso da ABHH 2015 apresentará os resultados em 20 pacientes com Linfoma de Hodgkin (gráfico 3)^{19, 20}

As principais iniciativas em haploidênticos da Sociedade Brasileira de Transplantes de Medula Óssea foram estabelecidas em reuniões de seus associados, interessados na área, com o estabelecimento de protocolos uniformes para as seguintes situações:

- a) Leucemia Mieloide Aguda (LMA) em pacientes com idade < 75 anos com prognóstico intermediário I, II ou desfavorável segundo “ Leukemia Net” em primeira remissão ou LMA >ou = segunda remissão com PS<=2. Condicionamento: D-6 Melfalan 100 - 140 mg/m², D -5 Fludarabine 40 mg/m²; D- 4 Fludarabine 40 mg/m², D -3 Fludarabine 40 mg/m², D -2 Fludarabine 40 mg/m²; D-1 TBI 200 cGy. Profilaxia de DECH: Cy 50mg/kg D +3 e +4, CSA (3 mg/kg/dia IV infusão contínua) níveis de 200 a 400 ng/mL ou Prograf 0.015/mg/Kg de D+5 até D+180.-MMF (15 mg/kg 2x ao dia) de D+5 até D+ 60 ou D+90.
G-CSF 5ug/Kg início D+7 (vide quadro 2)
- b) Leucemia Linfóide Aguda (LLA) em pacientes com menos de 75 anos, em primeira remissão com prognóstico desfavorável (early T, t 9:22, t 4:11, t 1;19, doença residual mínima positiva após indução com o uso de protocolos pediátricos) ou LLA T à partir de 2ª remissão, LLA B em 2ª remissão (medula óssea < 36 meses e outro sítios < 18 meses e LLAB > 2ª remissão. Sem doadores aparentados ou não aparentados. Condicionamento: se Idade < 40 anos. Regime mieloablativo com F-TBI TBI 990 a 1200 cGy dividida nos dias D-8 , -7 e -6 . Fludarabina 30 mg/m² D-5; -4, -3 e -2. Fludarabina 1.3 mg/Kg se paciente<13Kg. Se paciente > 40 anos, esquema com baixas doses de TBI: D-6 Melfalan 100 - 140 mg/m², D -5 Fludarabine 40 mg/m²; D- 4 Fludarabine 40 mg/m², D -3 Fludarabine 40 mg/m², D -2 Fludarabine 40 mg/m²; D-1 TBI 200 cGy. Profilaxia de DECH: Cy 50mg/kg D +3 e +4, CSA (3 mg/kg/dia IV infusão contínua) níveis de 200 a 400 ng/mL ou Prograf 0.015/mg/Kg de D+5 até D+180.-MMF (15 mg/kg 2x ao dia) de D+5 até D+ 60 ou D+90.
G-CSF 5ug/Kg início D+7
- c) Linfoma de Hodgkin: indicação recidiva após autólogo e resgate com quimioterapia, Brentuximab, Everolimus ou anti PD1. Esquema de

tratamento e profilaxia de doença do enxerto vs hospedeiro conforme protocolo clássico não mieloablativo do grupo de Baltimore (quadro 3).

- d) Anemia Aplástica Severa: em pacientes com idade > 2 anos (afastando-se doenças congênitas, DEB teste, telomeros, SMD ,HPN) e < 70 anos com anemia aplástica severa documentada e que tenham recebido pelo menos 1 ciclo sem sucesso de imunossupressão e que não tenham doadores aparentados e não aparentados. Condicionamento Fludarabina 30 mg/m²/dia - D6, D-5,-D4,D-3,-D2; Ciclofosfamida 25 mg/m²/dia D-5 e D-4; TBI 400 cGy D-1. Profilaxia GVHD: CSA (3 mg/kg/dia IV infusão contínua) níveis de 200 a 400 ng/mL ou Prograf 0.015/mg/Kg de D+5 até D+180.-MMF (15 mg/kg 2x ao dia) de D+5 até D+ 60 ou D+90.
G-CSF 5ug/Kg início D+7

5) Sumário:

- O transplante haploidêmico, cordão umbilical e não aparentados 9/10 apresentam resultados comparáveis (B1)
- Em doenças malignas, particularmente nas leucemias mieloides agudas e Linfoma de Hodgkin, o transplante haploidentico apresenta resultados comparáveis aos transplantes totalmente compatíveis não aparentados (B1)
- A experiência chinesa mostra resultados comparáveis entre transplantes haploidêmicos e com doadores aparentados (B1)
- Na anemia aplástica severa em pacientes previamente imunossuprimidos o transplante haploidentico é uma alternativa no manuseio desta grave doença (C1)
- Estudos randomizados mostrarão o real papel desta modalidade de transplantes.

Referências Bibliográficas

- 1) Reisner Y, Kapoor N, Kirkpatrick D, Pollack MS, Dupont B, Good RA, O'Reilly RJ. Transplantation for acute leukaemia with HLA-A and B nonidentical parental marrow cells fractionated with soybean agglutinin and sheep red blood cells. *Lancet*. 1981 Aug 15;2(8242):327-31.
- 2) Aversa F, Tabilio A, Terenzi A, Velardi A, Falzetti F, Giannoni C, Iacucci R, Zei T, Martelli MP, Gambelunghe C, et al. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood*. 1994 Dec 1;84(11):3948-55.
- 3) Rizzieri DA, Koh LP, Long GD, Gasparetto C, Sullivan KM, Horwitz M, Chute J, Smith C, Gong JZ, Lagoo A, Niedzwiecki D, Dowell JM, Waters-Pick B, Liu C, Marshall D, Vredenburgh JJ, Gockerman J, Decastro C, Moore J, Chao NJ. Partially matched, nonmyeloablative allogeneic transplantation: clinical outcomes and immune reconstitution. *J Clin Oncol*. 2007 Feb 20;25(6):690-7. Epub 2007 Jan 16.
- 4) Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, Chen AR, Leffell MS, Zahurak M, Gooley TA, Piantadosi S, Kaup M, Ambinder RF, Huff CA, Matsui W, Bolaños-Meade J, Borrello I, Powell JD, Harrington E, Warnock S, Flowers M, Brodsky RA, Sandmaier BM, Storb RF, Jones RJ, Fuchs EJ. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Jun;14(6):641-50.
- 5) Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A, Terenzi A, Del Papa B, Perruccio K, Ruggeri L, Sportoletti P, Rosati E, Marconi P, Falini B, Reisner Y, Velardi A, Aversa F, Martelli MF. Immunoselection and clinical use of T regulatory cells in HLA-haploidentical stem cell transplantation. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2011 Sep;24(3):459-66.
- 6) Raiola AM, Dominiotto A, di Grazia C, et al. Unmanipulated haploidentical transplants compared with other alternative donors and matched sibling grafts. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20:1573.
- 7) Wang Y, Liu DH, Xu LP, et al. Superior graft-versus-leukemia effect associated with transplantation of haploidentical compared with HLA-identical sibling donor grafts for high-risk acute leukemia: an historic comparison. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17:821.
- 8) Kasamon YL, Luznik L, Leffell MS, et al. Nonmyeloablative HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high-dose posttransplantation cyclophosphamide: effect of HLA disparity on outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16:482.
- 9) Bashey A, Zhang X, Sizemore CA, et al. T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those

- of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. *J Clin Oncol* 2013; 31:1310.
- 10) Aversa F, Tabilio A, Terenzi A, et al. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood* 1994; 84:3948.
 - 11) Aversa F, Tabilio A, Velardi A, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med* 1998; 339:1186. Aversa F, Terenzi A, Tabilio A, et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol* 2005; 23:3447.
 - 12) Huang XJ, Liu DH, Liu KY, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T-cell depletion for the treatment of hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 2006; 38:291.
 - 13) Liu D, Huang X, Liu K, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T cell depletion for treatment of hematological malignancies in children. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14:469.
 - 14) Ciurea SO, Zhang MJ, Bacigalupo AA, et al. Haploidentical transplant with posttransplant cyclophosphamide vs matched unrelated donor transplant for acute myeloid leukemia. *Blood* 2015; 126:1033.
 - 15) Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL, et al. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood* 2011; 118:282.
 - 16) Shabbir-Moosajee M, Lombardi L, Ciurea SO. An overview of conditioning regimens for haploidentical stem cell transplantation with post-transplantation cyclophosphamide. *Am J Hematol* 2015; 90:541.
 - 17) Chang YJ, Zhao XY, Huo MR, et al. Immune reconstitution following unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical transplantation compared with HLA-identical sibling transplantation. *J Clin Immunol* 2012; 32:268.
 - 18) Wang Y, Chang Y-J, Xu L-P, et al. Who is the best donor for a related HLA haplotype-mismatched transplant? *Blood* 2014;124(6):843-850
 - 19) Esteves I1, Bonfim C2, Pasquini R2, Funke V2, Pereira NF2, Rocha V3, Novis Y3, Arrais C3, Colturato V4, de Souza MP4, Torres M1, Fernandes JF1, Kerbauy FR1, Ribeiro AA1, Santos FP1, Hamerschlak N1. Haploidentical BMT and post-transplant Cy for severe aplastic anemia: a multicenter retrospective study. *Bone Marrow Transplant*. 2015 May;50(5):685-9
 - 20) Lacerda MP, Rodrigues CA, Pereira AD, Novis Y, Fonseca M, Roberto L, Silva RL, Macedo MCMA, Hamerschlak N, Esteves I, Schmidt Filho J, Rocha R. Nonmyeloablative HLA-Haploidentical Transplantation With High-Dose Posttransplant Cyclophosphamide For Relapsed/Refractory Hodgkin Lymphoma. Paper presented HEMO ABHH 2015.

Quadro 1: Processo de decisão entre os transplantes alternativos

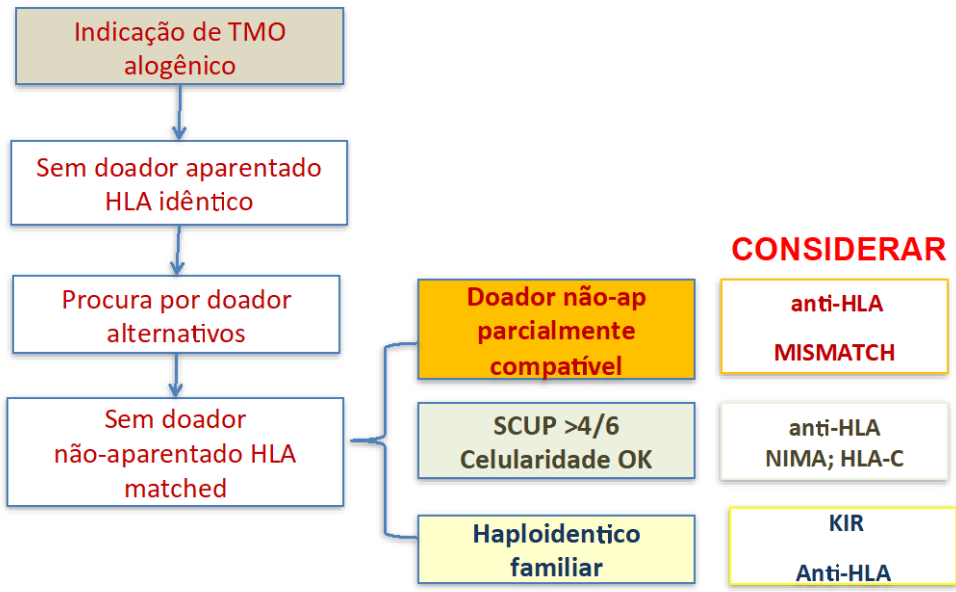


Gráfico 1: Sobrevida Geral de pacientes submetidos a transplantes haploidênticos no Brasil

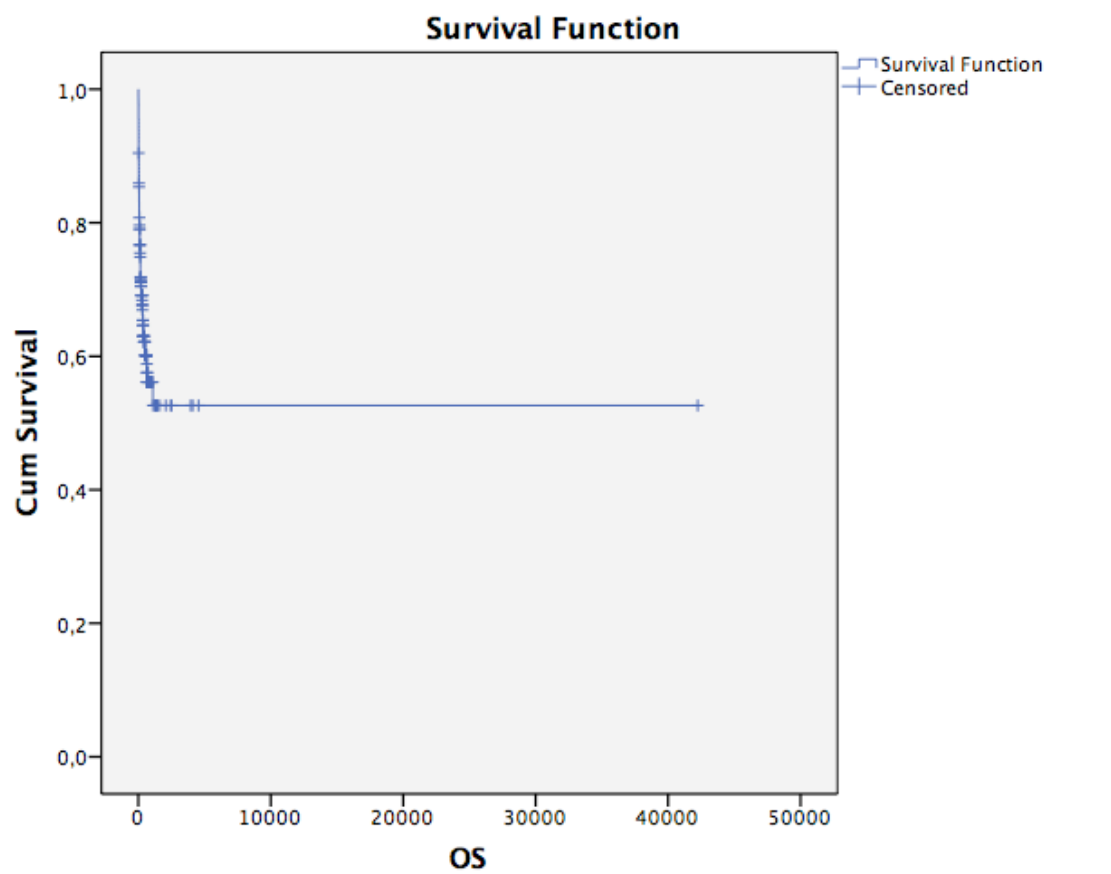


Tabela 1: Análise multivariada impactando na sobrevida

Variável	Razão de Risco	P-valor
Diagnóstico		
• Linfoma/Mielom (vs. Não Maligno)	1.99	0.25
• Leucemia Aguda (vs. Não Maligno)	2.28	0.12
Idade (continua)	1.01	0.10
Doença Alto Risco (vs. Risco Padrão)	1.16	0.63
Uso de MO (vs. Sangue periférico)	1.22	0.49
Condicionamento mieloablativo	1.00	0.98
Uso de TBI	0.70	0.48
Surgimento VOD/SOS	2.85	0.008
GVHD Crônico (Tempo-Dependente)	0.87	0.78

Gráfico 2: Sobrevida Geral anemia aplástica severa 67.1% (95% CI 36.5%-86.4%)

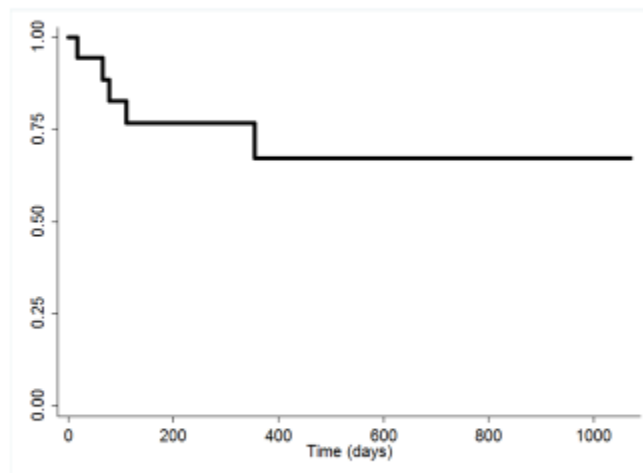
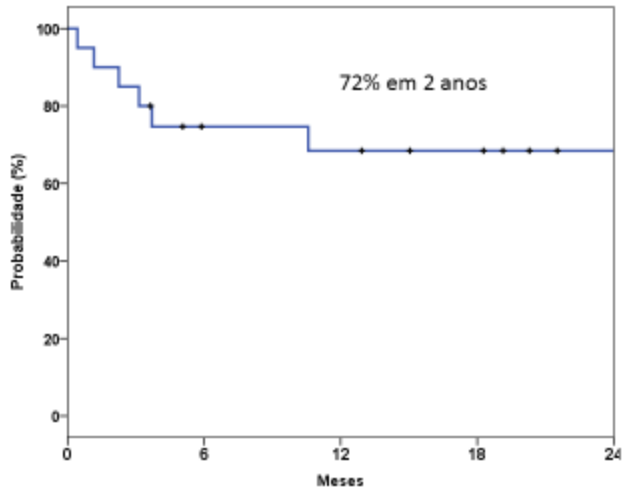


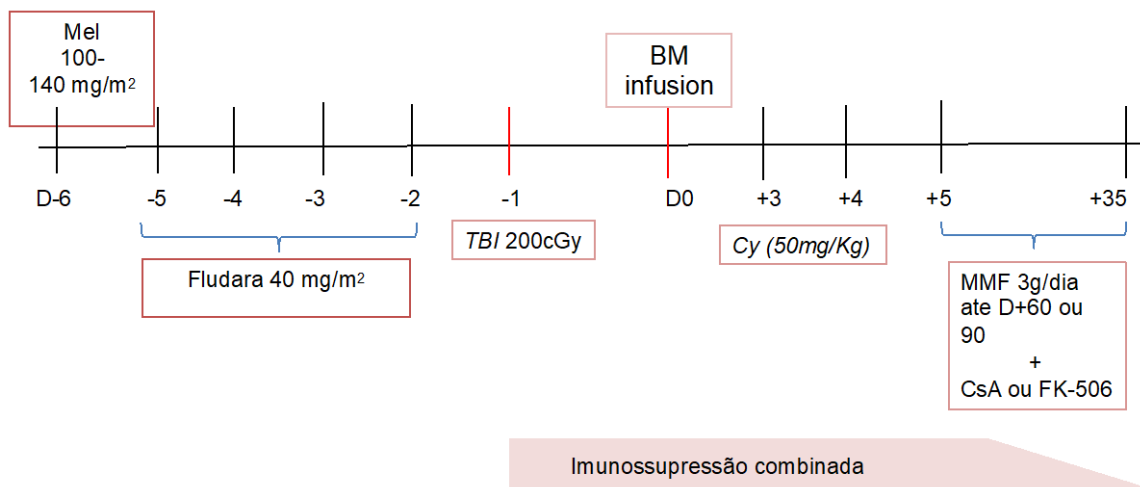
Gráfico 3: Linfoma de Hodgkin
SOBREVIDA GLOBAL



Lacerda MP, Rodrigues CA, Rocha V
 et al submitted ABHH 2015

Quadro 2: Condicionamento e prevenção de doença do enxerto vs hospedeiro em LMA

AML



Quadro 3: Esquema original de transplante não mieloablativo haploide com Ciclofosfamida pós do Grupo do Hospital John Hopkins (Baltimore-USA)

