



LISBOA

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Hematologia

### **Transplante de medula óssea na Drepanocitose**

Catarina Schrempp da Silva Gaio Esteves

---

**Junho '17**



LISBOA

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Hematologia

### **Transplante de medula óssea na Drepanocitose**

Catarina Schrempp da Silva Gaio Esteves

**Orientado por:**

Dr. Carlos Manuel Varela Martins

---

**Junho '17**

## **Resumo**

A Drepanocitose é uma patologia crónica que cursa com lesão de órgãos-alvo, algo que se verifica precocemente na infância e, inclusivamente, em doentes assintomáticos. Associa-se a uma redução da esperança média de vida, com a maioria dos doentes a atingir a 5ª década de vida.

O transplante de células estaminais hematopoiéticas é o único tratamento curativo. A mortalidade associada ao transplante aumenta com a idade e o transplante tem melhores resultados em doentes que não têm lesão de órgãos-alvo. Infelizmente, os critérios de elegibilidade de transplante estão direccionados para doentes que manifestam complicações secundárias à doença e em geral com idades inferiores a 16 anos. É importante ter em conta que doentes assintomáticos já têm lesão de órgãos-alvo e como tal, os critérios de elegibilidade de transplante deveriam ser questionados.

Para tornar mais abrangente o pequeno *pool* de dadores com compatibilidade HLA têm sido explorados outros tipos de dador, além do irmão-dador, para garantir uma maior possibilidade de transplante aos doentes. De facto, o transplante proveniente de um dador sem parentesco com compatibilidade HLA tem tido resultados comparáveis ao proveniente de irmão-dador. À medida que o *mismatching* relativo ao dador vai aumentando, a probabilidade de encontrar um dador adequado ao doente é maior, algo que deve ser considerado, principalmente em doentes com fenótipo mais severo.

Tendo em conta o princípio da não-maleficência e a ponderação dos riscos e benefícios, tem-se questionado se doentes assintomáticos se devem submeter a transplante e sujeitar à toxicidade do regime de condicionamento. Os regimes não-mieloablativos associados a menor toxicidade são preconizados para adultos mas verifica-se que têm *outcomes* semelhantes ao regime mieloablativo em crianças, criando mais abertura para a realização de transplante associado a condicionamento não-mieloablativo em crianças que podem ser ainda assintomáticas.

**Palavras-chave:** Transplante de Células Hematopoiéticas; Drepanocitose; Critérios de Elegibilidade para Transplante; Regimes de Condicionamento; Quimerismo Misto.

## **Abstract**

Sickle cell disease is a chronic pathology that leads to end-organ damage, something that occurs early in childhood and even in asymptomatic patients. It is associated with a reduction in the average life expectancy, with most patients reaching the 5th decade.

Hematopoietic stem cell transplantation is the only curative treatment. Mortality associated with transplantation increases with age and transplantation has better results in patients who do not have end-organ damage. Unfortunately, the eligibility criteria for transplantation are targeted for patients who manifest secondary complications of the disease and generally are aimed for patients under 16 years of age. It is important to note that asymptomatic patients already have established end-organ damage and as such, the eligibility criteria for transplantation should be questioned.

To make the small pool of HLA-compatible donors more extensive, other donor types, in addition to the HLA-matched sibling donors, have been explored to ensure a greater chance of transplantation for patients. In fact, transplantation from an unrelated donor with HLA compatibility has had comparable results to the ones from HLA-matched sibling donors. As donor mismatching increases, the likelihood of finding a suitable donor for the patient is greater, something that should be considered, especially in patients with a more severe phenotype.

Taking into account the principle of non-maleficence and the risk-benefit balance, it has been questioned whether asymptomatic patients should undergo transplantation and be subjected to conditioning regimen's toxicity. The non-myeloablative regimens associated with lower toxicity are recommended for adults but it has been noted that in children they have similar outcomes to the myeloablative regimen, creating more openness to the transplantation associated with non-myeloablative regimen in children who may still be asymptomatic.

**Key words:** Hematopoietic Stem Cell Transplantation; Sickle Cell Disease; Eligibility Transplantation Criteria; Conditioning Regimen; Mixed Chimerism.

O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.

## **Índice**

Introdução	6
Crítérios de transplante e conceito de severidade	9
Regimes de condicionamento	15
Quimerismo misto	19
Tipos de dador e fonte de células hematopoiéticas	20
Conclusão	23
Agradecimentos	26
Bibliografia	27

## **Introdução**

A Drepanocitose, igualmente apelidada de Anemia Falciforme, é uma das doenças monogénicas mais comuns, sendo que 300000 crianças são afectadas mundialmente e 80% as quais são provenientes de países economicamente desfavorecidos.<sup>1,2</sup>

Esta doença resulta de uma mutação que causa a substituição de um aminoácido (valina por ácido glutâmico) e que por conseguinte, leva à formação da hemoglobina S (HbS), em vez da HbA, a mais prevalente no adulto. Em ambientes com baixo nível de oxigénio, HbS forma polímeros que contribuem para a rigidez e alongamento do eritrócito, que adquire a forma de foice. Secundariamente a esta alteração estrutural há destruição da membrana do eritrócito e a sua hemólise, acontecimentos que iniciam uma cascata de eventos associados à lesão de hipóxia-reperusão.<sup>3,4</sup>

Nos últimos 40 anos a sobrevivência das crianças com Drepanocitose melhorou de forma dramática. Até à década de 1970 era considerada uma doença pediátrica, uma vez que poucos adolescentes sobreviviam até à vida adulta. Em contraste, hoje em dia, mais de 95% das crianças com Drepanocitose atingem a maioridade.<sup>1,5</sup> A maioria dos indivíduos atinge actualmente a 5ª década de vida.<sup>1,6</sup> O pico de mortalidade que ocorria na primeira metade da segunda década de vida, ocorre agora na terceira década.<sup>7</sup>

A melhoria na esperança média de vida é atribuída a várias intervenções como a profilaxia de infecções com penicilina, vacinação contra *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae tipo b*, o melhor reconhecimento de complicações como o sequestro esplênico e a utilização de hidroxiureia como tratamento de base.<sup>1</sup>

Para a prevenção de complicações existem fortes recomendações, como a profilaxia com penicilina oral em crianças homozigóticas (HbSS) até aos 5 anos de idade, a vacinação em doentes de qualquer idade contra o *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae tipo b*, a avaliação oftalmoscópica a partir dos 10 anos de idade, a hidratação oral vigorosa durante períodos de exercício extremo, exposição ao frio, stress emocional ou aquando uma infecção.<sup>8,9</sup>

Em relação às crises vasooclusivas álgicas, recomenda-se fortemente a hidratação vigorosa, avaliação das possíveis causas subjacentes, analgesia com opióides parentéricos, oxigenoterapia em caso de hipóxia e transfusão sanguínea em casos extremos, embora esta última opção não diminua a duração das crises.<sup>8,9</sup>

Para a redução do risco de síndrome torácica aguda deve ser utilizado espirômetro de incentivo respiratório.<sup>8</sup> Igualmente, deve ser garantida a hidratação monitorizada, oxigenoterapia vigorosa, transfusão sanguínea de modo a manter o hematócrito >30% e exsanguíneotransfusão de emergência caso haja uma queda da saturação arterial para valores <90%.<sup>9</sup>

São factores de risco associados a maior morbidade e mortalidade: 1) existência de  $\geq 3$  crises vasooclusivas álgicas/ano que resultem em hospitalização; 2) neutrofilia crónica; 3) sequestro esplénico; 4) síndrome mão-pé e 5)  $\geq 2$  episódios de síndrome torácica aguda. A escolha da terapia de base baseia-se nestes factores de prognóstico. A opção da hidroxiureia é válida em casos de  $\geq 3$  crises vasooclusivas álgicas/ano que resultem em hospitalização e para casos de  $\geq 2$  episódios de síndrome torácica aguda.<sup>8,9</sup>

Previamente, as infecções, principalmente por bactérias encapsuladas, eram a principal causa de morte, mais prevalentes que as mortes causadas por síndromes torácicas agudas e crises de sequestração esplénica.<sup>1,10</sup> Actualmente, a principal causa de morte entre doentes com Drepanocitose corresponde à doença cardiopulmonar.<sup>1,6</sup>

Verifica-se que as indicações para iniciar terapêutica têm sido baseados ao longo dos anos em eventos agudos e evidências clínicas de dano orgânico, aplicando-se a terapia de suporte.<sup>3</sup> A terapia curativa é atribuída ao transplante de células hematopoiéticas que, por haver eliminação de eritropoiese de células falciformes, se associa a uma redução significativa ou mesmo eliminação das complicações decorrentes desta hemoglobinopatia.<sup>11</sup>

Após a demonstração de que o transplante tem potencial curativo na Drepanocitose, procurou-se direccionar este tratamento apenas para doentes com este tipo de anemia sintomáticos, avaliando as consequências e a qualidade da cura pós-transplante. Presentemente, não há dúvida na qualidade da cura pós-transplante e as grandes questões prendem-se com a elegibilidade do doente para a realização do transplante e com o *timing* de actuação.<sup>12</sup>

Por haver evidência de que as crianças assintomáticas têm doença subclínica e sofrem lesões de órgão-alvo, debatemo-nos hoje em dia com o conceito de severidade, que torna controversa a decisão de ser feito ou não o transplante em casos assintomáticos.<sup>3</sup>

A mortalidade relacionada com a doença aumenta após a adolescência e a mortalidade associada ao transplante aumenta com a idade.<sup>13</sup> Sabe-se igualmente que o transplante tem melhores resultados em doentes mais jovens, que não têm lesão de órgão-alvo e não cumprem critérios de severidade.<sup>14</sup> Estes factos apoiam a realização do transplante previamente ao desenvolvimento de complicações associadas à doença.<sup>13</sup>

No meu Trabalho Final irei explorar o processo de consideração do transplante como arma terapêutica, tendo em conta os critérios de elegibilidade de transplante e abordado a controvérsia relacionada com a elegibilidade dos casos assintomáticos. Igualmente, demonstrarei que é necessário um equilíbrio entre a redução da toxicidade a curto e longo prazo associada aos regimes de condicionamento e a intensidade destes regimes necessária para que o transplante seja bem-sucedido. Nesta linha, irei desenvolver o impacto que o ajuste na intensidade do regime de condicionamento tem na expansão dos critérios de doentes receptores de transplante. Abordarei, por fim, o uso de fontes alternativas de células hematopoiéticas e a expansão dos critérios de inclusão de dadores, de modo a garantir um maior acesso a este tipo de terapêutica.



## Critérios de transplante e conceito de severidade

O primeiro transplante a ser bem sucedido no contexto de Drepanocitose ocorreu em 1984, numa criança que tinha simultaneamente Leucemia Mielóide Aguda, tendo permitido a cura de ambas as doenças. Embora este caso tenha demonstrado o potencial curativo do transplante nesta hemoglobinopatia, o transplante não foi considerado como uma opção terapêutica nesta altura por estar associado a morbilidade e mortalidade significativas.<sup>15</sup>

Com a melhoria dos cuidados pré e pós-transplante nos anos seguintes, foi possível realizar transplantes de células hematopoiéticas bem-sucedidos na Bélgica, num grupo de 5 doentes com Drepanocitose.<sup>15</sup> Este sucesso catalisou um estudo internacional na década de 1990 relativo a transplante de células hematopoiéticas entre irmãos-dadores com compatibilidade HLA e em doentes com critérios de severidade.<sup>16</sup>

Existem vários tipos de genótipos associados à Drepanocitose: os homozigóticos (hemoglobina SS), com traço talassémico  $\alpha$  ( $S\beta^0$ talassémia), com traço talassémia  $\beta$  ( $S\beta^+$  talassémia) e com hemoglobina SC (doença SC). Os vários genótipos têm prognósticos diferentes e como tal diferentes considerações quando é prespectivado o transplante de células hematopoiéticas. O risco de morte associada à doença e AVC na doença SC e no traço talassémico  $\beta$  é extremamente baixo e a esperança média de vida é significativamente superior à associada aos doentes homozigóticos ou aos doentes com traço talassémico  $\alpha$ . Deste modo, ao considerar o transplante como terapêutica em crianças assintomáticas, é mais razoável considerá-lo em homozigóticos para a Drepanocitose e naqueles com traço talassémico  $\alpha$ .<sup>15</sup>

No entanto, o transplante pode ter um papel importante e deve ser considerado em algumas crianças com traço talassémico  $\beta$  e com doença SC uma vez que podem sofrer igualmente de complicações drepanocíticas major, ter crises vaso-oclusivas extremamente dolorosas e como tal, ter uma redução significativa da qualidade de vida.<sup>15</sup>

Consideram-se casos de Drepanocitose com elegibilidade para transplante, os doentes de idade <16 anos com Drepanocitose (HbSS), traço drepanocítico com hemoglobina C (HbSC) ou com traço talassémico simultaneamente (HbS  $\beta$ -talassémia), com pelo menos um dos seguintes critérios: **1)** AVC ou outro evento neurológico no SNC com

duração >24 horas<sup>11,15,17</sup>; **2)**  $\geq 2$  episódios de síndrome torácica aguda com hospitalizações, no período de 2 anos prévios ao transplante, apesar de terapia de suporte ou exsanguínotransfusões prévias<sup>11,15,17</sup>; **3)**  $\geq 3$  episódios de crises vaso-oclusivas dolorosas, num período de 2 anos ou priapismo recorrente, apesar da terapia de suporte otimizada<sup>11,17</sup>; **4)** função neurofisiológica diminuída e RMN cerebral anormal<sup>15,17</sup>; **5)** doença pulmonar falciforme de estágio I ou II<sup>15,17</sup>; **6)** nefropatia falciforme (proteinúria moderada a severa ou TFG 30 a 50% do valor normal previsto)<sup>15,17</sup>; **7)** retinopatia proliferativa bilateral e diminuição da acuidade visual major em pelo menos um dos olhos<sup>15,17</sup>; **8)** osteonecrose de múltiplas articulações<sup>15,17</sup>; **9)** aloimunização dos glóbulos vermelhos ( $\geq 2$  anticorpos) durante as transfusões sanguíneas crónicas<sup>15,17</sup>; **10)**  $\geq 8$  transfusões sanguíneas por ano, durante pelo menos 1 ano, como forma de prevenção de complicações vaso-oclusivas<sup>11</sup>; **11)** regurgitação de válvula tricúspide  $\geq 2,7$  m/s, verificada no ecocardiograma<sup>11</sup>.

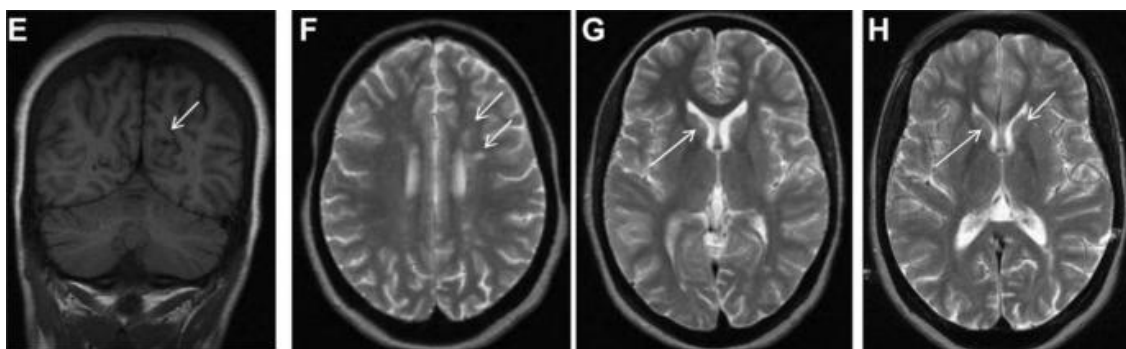
Edward J. Benz Jr<sup>9</sup> considera ainda a síndrome mão-pé e a neutrofilia crónica como critérios de elegibilidade para transplante.

Historicamente, tem sido um desafio desenvolver critérios que permitam distinguir e seleccionar os doentes que sejam candidatos à realização do tratamento com o transplante. Constatou-se que efectuar o transplante tardiamente, quando as complicações crónicas e irreversíveis já se estabeleceram, leva a que o regime de condicionamento seja menos tolerado.<sup>14</sup> O transplante deve ser realizado quando o doente se encontra num bom estado funcional, algo que depende da duração da doença e da idade do doente.<sup>18</sup>

No entanto, os critérios de transplante existentes estão dirigidos a formas severas da doença e a doentes jovens, por vezes demasiado jovens para terem manifestações clínicas da doença. São considerados doentes com Drepanocitose menos severa aqueles que não tiveram complicações secundárias à hemoglobinopatia ou que tiveram apenas complicações minor. A decisão de não tratar estes doentes advém da potencial toxicidade e potenciais complicações a longo-prazo após o transplante. Alguns autores utilizam o termo Drepanocitose ligeira ou assintomática para se referir a este grupo de doentes.<sup>15</sup> Para alguns peritos o conceito de doença assintomática, no caso da Drepanocitose, é falacioso, uma vez que é uma doença invariavelmente progressiva que causa danos multiorgânicos de forma irreversível e uma diminuição da esperança média

de vida, mesmo que não se verifiquem sintomas evidentes. A lesão crónica de órgãos inicia-se na infância, estando a maioria das crianças asplénicas funcionalmente pelos 5 anos de idade.<sup>7</sup>

A maioria das crianças com esta doença oscilam entre períodos assintomáticos e períodos breves em que sofrem de crises vaso-oclusivas, como sejam a dor e síndrome torácica aguda – as duas manifestações mais frequentes.<sup>3</sup> No entanto, apesar dos intervalos assintomáticos, existem evidências que indicam que crianças já com 12 meses de idade demonstram lesões de órgão-alvo, como disfunção esplénica. Outras evidências apontam para que a disfunção renal começa durante a infância e que mais de 25% das crianças homocigóticas para a doença, antes dos 6 anos de idade apresentam sinais de enfartes cerebrais silenciosos, através de estudos de estudos de RMN.<sup>15,3</sup> Os enfartes silenciosos estão associados a uma *performance* escolar pior e a uma perda global de capacidade intelectual.<sup>15,19,20</sup> Estes factos apoiam o conceito de doença silenciosa nas crianças e demonstram a problemática de atribuir a forma “assintomática” a esta doença, pois implica erroneamente que apesar de terem esta hemoglobinopatia, não são afectadas pela doença.<sup>15,3</sup>



**Figura 1:** (E-G) Enfartes silenciosos (setas brancas) na região do córtex frontal e nos núcleos da base, numa rapariga de 15 anos com problemas cognitivos e que afectam a performance escolar, mas sem eventos neurológicos agudos. (H) Três anos depois, com evidência de atrofia generalizada ligeira com hemiparésia direita transitória. Adaptado de Debaun, M. R. *et al*. Silent cerebral infarcts : a review on a prevalent and progressive cause of neurological injury in sickle cell anemia. Department of Pedia. *Blood* 119, 4587–4597 (2012).

Kassim e DeBaum<sup>3,15</sup> mostram-se hesitantes em recomendar o transplante de células hematopoiéticas a crianças assintomáticas devido à melhoria que se tem verificado ao longo dos anos em relação ao tratamento de suporte com hidroxiureia. Por outro lado, Sheth *et al*<sup>15,21</sup> defendem que o transplante deve ser realizado e é terapia de primeira linha em crianças assintomáticas que têm um irmão-dador com compatibilidade HLA. Devem ser comparadas as várias opções terapêuticas e tentar objectivar qual a mais

benéfica para o doente, tendo em consideração o equilíbrio entre os malefícios e os benefícios.

Analisando a opção terapêutica do transplante à luz do princípio ético e deontológico *primum non nocere*, o risco de mortalidade associado ao transplante poderia justificar a sua não realização. Verifica-se que o risco de mortalidade em transplantes de células hematopoiéticas de irmão-dador com compatibilidade HLA é inferior a 5%, sendo possivelmente inferior no espectro menos severo da doença. Sob a alçada de uma terapia de suporte existe um risco baixo de mortalidade associada à doença a curto-prazo, existindo, no entanto, um risco elevado de morte prematura em adulto secundariamente a complicações provenientes da doença.<sup>15</sup> O resultado de um estudo internacional nos anos 90 demonstrou uma taxa de sobrevivência pós-transplante superior a 93%.<sup>15,22</sup>

Associado ao transplante existe um risco entre 10 a 20% do doente desenvolver a Doença Enxerto-Hospedeiro crónica. Esta doença pode ser controlada e, até mesmo eliminada, sendo o impacto que tem na qualidade de vida e na saúde dos doentes inferior ao dano que a doença propriamente dita causa.<sup>15,23</sup>

Outro impacto importante secundário aos regimes de condicionamento e ao transplante é a infertilidade e disfunção das gónadas. Esta problemática tem tendência a ser atenuada no futuro, com a utilização de regimes de condicionamento menos gonadotóxicos, como os não-mieloablativos.<sup>15,24</sup> Além disso, a Drepanocitose propriamente dita pode estar associada a problemas de fertilidade secundariamente ao priapismo nos homens e a uma maior taxa de complicações na gravidez nas mulheres. Igualmente, a terapêutica com hidroxíureia pode resultar em infertilidade por toxicidade.<sup>15,25</sup>

Relativamente à imunossupressão, esta verifica-se quer nos doentes que seguem uma terapia de suporte, quer nos doentes que são submetidos a transplante, por diferentes razões. Após serem submetidos a transplante os doentes encontram-se imunossuprimidos ao longo de várias semanas após o transplante, enquanto que os doentes que seguem uma terapia de suporte, ao sofrerem de vários enfartes esplênicos, ficarão asplênicos e por isso susceptíveis a infecções em idade precoce.<sup>15</sup>

A comparação entre o transplante de células hematopoiéticas com a terapia de suporte em relação à melhoria de qualidade de vida é difícil de ser feita uma vez que não existem até à data estudos prospectivos comparativos.<sup>11</sup>

Embora existam riscos e desvantagens associados ao transplante de células hematopoiéticas, a comunidade médica questiona-se se não estará a prejudicar os doentes, principalmente aos doentes assintomáticos e com fenótipo menos severo, ao limitar o acesso precoce ao transplante de medula óssea e conseqüentemente ao permitir que vivam com uma doença que cursa com elevada morbidade e mortalidade precoce.<sup>15,26,27</sup>

Quando o fenótipo é menos severo e com apresentação assintomática existem razões válidas quer para a realização de um transplante precoce, quer para adoptar uma atitude mais expectante. Por um lado, o transplante deve ser realizado o mais precocemente possível para prevenir lesões de órgão-alvo e evitar complicações secundárias à doença na infância. Além disso, como já foi dito, os *outcomes* pós-transplante são mais favoráveis quando há menos lesões de órgão-alvo e quando não há aloimunização.<sup>15</sup>

Por outro lado, existem vantagens em aguardar e não realizar prontamente transplante. Os avanços tecnológicos podem melhorar os *outcomes* pós-transplante, o desenvolvimento de outras terapias, como a terapia génica, podem ter menos riscos associados comparativamente ao transplante; e a melhoria da terapia de suporte pode levar a que a terapia curativa diminua a importância que tem actualmente.<sup>15</sup>

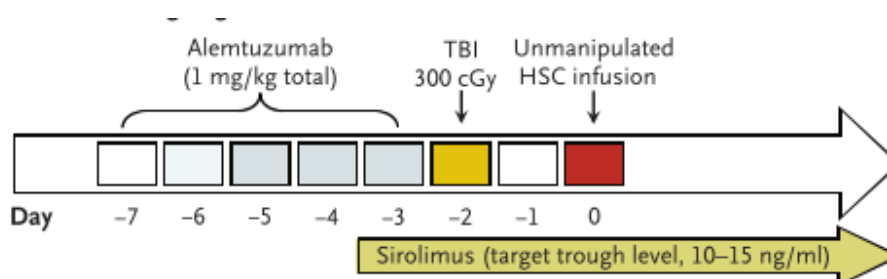
Se fosse possível prever que crianças desenvolveriam mais tarde complicações relacionadas com a doença e as que teriam uma vida livre de complicações, o transplante provavelmente seria apenas considerado no primeiro grupo, nas crianças que mais tarde iriam desenvolver complicações.<sup>15</sup> Infelizmente, e apesar da pesquisa nesse sentido, a capacidade de prever a severidade da doença é limitada, sendo apenas conhecidos que níveis de HbF elevados, estão associados a um menor número de crises vaso-oclusivas.<sup>7</sup> Ao longo das décadas foram sendo propostos vários modelos preditivos de risco de doença, mas sendo uma doença caracteristicamente imprevisível, é quase impossível prever a extensão de complicações secundárias à hemoglobinopatia numa criança. Uns dos parâmetros eram dactilite, hemoglobina <7 g/dL e leucocitose. Nenhum dos modelos preditivos de severidade podem ser usados para direccionar a terapêutica em crianças assintomáticas.<sup>3</sup>

Relativamente aos casos assintomáticos e tendo em conta as incertezas de obtenção de máximo benefício dependendo daquela que é a escolha terapêutica, seja terapia de suporte ou transplante de medula óssea, os especialistas defendem que o transplante de células hematopoiéticas proveniente da medula óssea de irmão-dador com compatibilidade HLA pode ser utilizado nestes doentes, de preferência o mais cedo possível, em idade pré-escolar.<sup>11</sup> Já fontes alternativas de células hematopoiéticas, estas devem ser reservadas a doentes com fenótipos mais severos da doença, uma vez que estas fontes alternativas estão mais propensas a causar dano, quer seja por uma taxa de mortalidade superior, quer seja por uma maior probabilidade de rejeição ou de Doença Enxerto-Hospedeiro.<sup>15,28</sup>

## Regimes de condicionamento

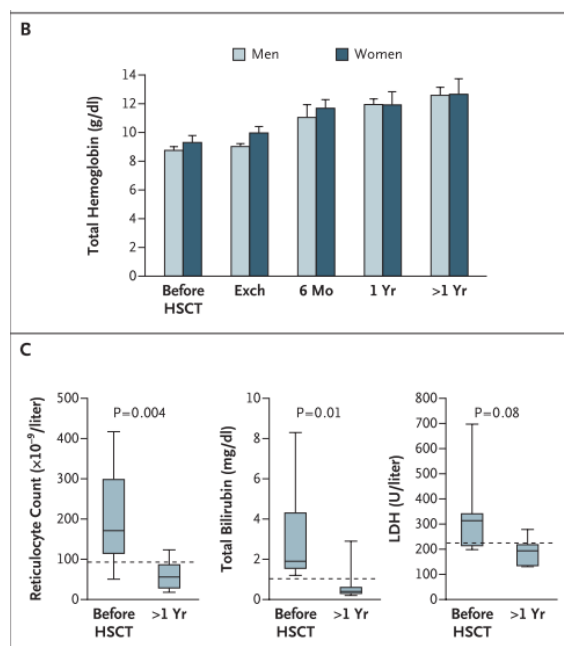
Numa tentativa de reduzir a toxicidade precoce e tardia associada aos transplantes, tem sido explorada a possibilidade de utilização de regimes de condicionamento de intensidade reduzida, entre os quais se integram os regimes não-mieloablativos.<sup>3</sup>

Um grupo de 10 doentes adultos, com idades compreendidas entre os 16 e os 45 anos, foi submetido a este regime, recebendo um transplante proveniente de um dador-irmão com compatibilidade HLA. O regime de condicionamento consistiu em alemtuzumab em doses gradualmente superiores (sendo a dose total o equivalente a 1 mg/Kg) dado entre o dia 7 e o dia 3 antes do transplante; irradiação corporal total de 300 cGy em dose única, no dia 2 antes do transplante; e sirolimus oral no dia 1 antes do transplante<sup>29</sup>



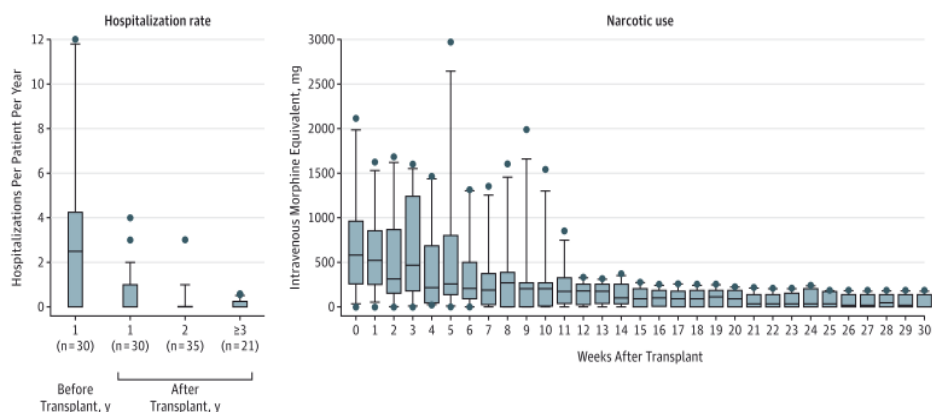
**Figura 2:** Esquema de regime de condicionamento não-mieloablativo. Retirado de Hsieh, M. Matthew; & et al. Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation for Sickle Cell Disease. *N. Engl. J. Med.* 2309–2316 (2009).

A irradiação corporal total permite criar espaço na medula óssea suficiente para permitir que haja hematopoiese proveniente das células provenientes do dador. Alemtuzumab é um fármaco linfocitotóxico que contribui para reduzir o número de linfócitos circulantes no recipiente previamente ao transplante, que contribuiriam para a Doença Enxerto-Hospedeiro. Sirolimus promove a diferenciação de células T reguladoras e células T CD4+, que auxiliam na minimização do risco da Doença Enxerto-Hospedeiro.<sup>29,30</sup> Após um *follow up* de 30 meses, verificaram-se resultados extremamente positivos. Houve um aumento gradual dos níveis de hemoglobina: os valores pré-transplante nas mulheres eram de  $8.8 \pm 0.3$  e nos homens  $9.3 \pm 0.5$  g/dL e após o transplante passaram a ser  $12.6 \pm 0.6$  e  $12.7 \pm 1.1$  g/dL, respectivamente. Foi realizada avaliação electroforética 6 meses após o transplante tendo-se constatado a mesma percentagem de hemoglobina S que os dadores. Os marcadores de hemólise (contagem de reticulócitos, níveis de bilirrubina e LDH) diminuíram.<sup>29</sup>



**Figura 3:** Evolução dos valores de hemoglobina e marcadores de hemólise mais de 1 ano após o transplante. Retirado de Hsieh, M. Matthew; & et al. Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation for Sickle Cell Disease. *N. Engl. J. Med.* 2309–2316 (2009)

Um estudo semelhante realizado entre 2004 e 2013, com 30 doentes, obteve resultados semelhantes e constatou-se uma redução do número de internamentos e do uso de analgésicos.<sup>30</sup>



**Figura 4:** Evolução da necessidade de hospitalização 3 anos ou mais após o transplante e do uso de analgésicos até 30 semanas após o transplante. Retirado de Hsieh, M. Matthew; et al. Nonmyeloablative HLA-matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for severe sickle cell phenotype. *Jama* (2014)

Relativamente ao regime não mieloablativo, este não exclui doentes com lesão órgão-alvo e por isso encontra-se mais disponível para adultos com a doença, comparativamente ao regime mieloablativo. Tem associada uma taxa de sobrevivência de 95% e uma taxa de sobrevivência sem intercorrências de 79%, com um *follow up* de



5 a 10 anos.<sup>3</sup> Um estudo realizado entre 2003 e 2014 com 43 crianças com Drepanocitose, que foram submetidas a um regime de condicionamento de intensidade reduzida e transplante proveniente de irmão-dador, concluiu que os resultados para a taxa de sobrevivência sem intercorrência (*event free survival*) foram de 92%, comparáveis aos resultados relativos ao regime mieloablativo.<sup>22,30,31</sup> Conclui-se assim que os regimes de condicionamento de intensidade reduzida em crianças seguidos de transplante proveniente de dador-irmão têm *outcomes* semelhantes ao regime mieloablativo, com a vantagem adicional de ser um regime menos tóxico e por isso não comprometer a função de vários órgãos.<sup>31</sup>

No regime não-mieloblatoivo verifica-se um maior risco de falência do transplante, com uma taxa de rejeição de cerca de 11 a 50%, superior à existente no regime mieloablatoivo. Por ser um regime menos tóxico, a taxa de mortalidade é inferior à relacionada com o regime mieloablatoivo, sendo inferior a 5%.<sup>3</sup>

Relativamente ao regime mieloablatoivo com compatibilidade HLA, este tem uma taxa de sobrevivência global de 97% e uma taxa de sobrevivência sem intercorrências de 85%, com um *follow up* de 10 a 15 anos. Os doentes com lesão de órgão-alvo estão geralmente excluídos e raramente é um regime efectuado em pessoas com mais de 16 anos. Existe um risco de rejeição do transplante de cerca de 7 a 10% e a mortalidade associada ao transplante é de 7%.<sup>3</sup>

Este regime associa-se a efeitos tóxicos precoces que correspondem a hepatite tóxica, em particular em pacientes com *overload* de ferro; eventos neurológicos e aplasia medular fatal. Os efeitos tóxicos tardios incluem lesão pulmonar aguda, falência ovárica precoce em até 70% das mulheres, esterilidade nos homens, diminuição da função renal, compromisso do crescimento em doentes que se encontram na puberdade e neoplasias tardias.<sup>24,31,32,33</sup>

A preferência por regimes mieloablatoivos têm sido determinada pela maior incidência de rejeição do transplante associada a regimes de condicionamento de intensidade reduzida.<sup>31,32</sup> No entanto, uma razão para continuar a explorar a vertente dos regimes de intensidade de condicionamento reduzido é o facto de se associarem a um menor nível de toxicidade.

O regime não-mieloablativo é válido não só para adultos, mas também para crianças, em especial as que têm maior risco de sofrer as consequências de um regime mieloablativo.<sup>34</sup>

## **Quimerismo misto**

Apesar de estar mais associado ao regime não-mieloablativo, também no regime mieloablativo, alguns doentes apresentam quimerismo misto – uma mistura de células hematopoiéticas do doente e de células do dador. O quimerismo misto suscitou preocupações relacionadas com produção inadequada e deficiente de HbA. No entanto, verificou-se que doentes com quimerismo misto produzem Hb do dador (e por isso HbA) suficiente para reverter o fenótipo da Drepanocitose e, simultaneamente, Hb próprio para diminuir o risco de Doença Enxerto-Hospedeiro (GVHD).<sup>7,35</sup>

O regime não-mieloablativo está associado a menor toxicidade e lesão de órgão a longo prazo, pelo que pode ser utilizado por doentes mais velhos que se encontram com a função orgânica comprometida e que por isso podem não tolerar o regime mieloablativo.<sup>7,14,18</sup> Uma vez que o quimerismo misto não compromete o desaparecimento do fenótipo drepanocítico, este regime não-mieloablativo tem vantagens face ao mieloablativo, principalmente nestes doentes.<sup>7</sup>

Níveis de quimerismo misto podem oscilar entre 11% e 74% e dentro destes valores garantir níveis suficientes de HbA para converter o fenótipo de Drepanocitose para um fenótipo normal.<sup>18</sup> Não está definido a partir de que percentagem de células do dador é possível curar hemoglobinopatias como a drepanocitose, mas é sugerido que níveis de quimerismo de 10% podem reverter a situação.<sup>14,36</sup>

Assim, regimes de condicionamento não-mieloablativo têm sido desenvolvidos para criar um estado de quimerismo misto que seja mais seguro para adultos elegíveis para transplante.<sup>30</sup>

## **Tipos de dador e fonte de células hematopoiéticas**

O **dador-irmão com compatibilidade HLA** é o tipo de dador preferencial por ter uma taxa de sobrevivência global associada de 100% e uma taxa de sobrevivência sem intercorrências de 90%, bem como um menor risco de rejeição e uma menor probabilidade de Doença Enxerto-Hospedeiro. Defende-se que deve ser estudada, o quanto antes, a compatibilidade HLA entre familiares de um doente com Drepanocitose. Se existir um irmão-dador com compatibilidade HLA o transplante deverá ser efectuado antes dos 17 anos, antes que as complicações do doença se manifestem.<sup>7, 31,37,38</sup>

Esta é uma opção viável para poucos doentes, sendo estimado que apenas 14-20% dos doentes têm um irmão-dador com compatibilidade HLA, sem genótipo ou fenótipo drepanocítico. Tem-se procurado assim estudar a viabilidade de dadores alternativos para aumentar a oferta de dadores aptos para a realização de transplante.<sup>7,37,38</sup>

As células estaminais podem ser recolhidas do sangue periférico, da medula óssea ou do cordão umbilical. Existem 3 opções alternativas ao irmão-dador com compatibilidade HLA: dador de sangue de cordão umbilical (*umbilical cord blood stem cell product*), dador sem parentesco com compatibilidade HLA (*matched unrelated donor*) e dador com parentesco com compatibilidade HLA (*haploidentical related donor*).<sup>39,40</sup>

Os transplantes provenientes de **dadores sem parentesco com compatibilidade HLA** têm sido o *gold standard* relativamente aos dadores alternativos a irmão-dador e por isso verifica-se uma grande experiência associada. Associa-se uma reconstituição do sistema imunitário mais rápida.<sup>3</sup> Por exigir uma compatibilidade 8/8 HLA a probabilidade de encontrar um dador sem parentesco com esse grau de compatibilidade é limitada. A disponibilidade é maior entre os europeus caucasianos (75%), menor entre os indivíduos de raça negra da América Central e do Sul (16%) e intermédia entre os afro-americanos e os africanos com 19% e 18% de disponibilidade, respectivamente. Conclui-se infelizmente que, os indivíduos entre os quais existe uma maior prevalência de Drepanocitose são aqueles cuja probabilidade de encontrar um dador sem parentesco com compatibilidade 8/8 HLA é menor.<sup>7</sup> Além disso, é um tipo de transplante mais caro.<sup>41</sup>

Este tipo de transplante tem tido uns resultados promissores e comparáveis com os obtidos com irmãos-dadores com compatibilidade HLA. A taxa de sobrevivência

global, taxa de sobrevivência livre de eventos, a taxa de mortalidade associada ao transplante e a falência do transplante é de 79%, 66%, 20% e 13%, respectivamente. Estes resultados semelhantes entre estes dois tipos de dador foram obtidos seguindo um regime não-mieloablativo com alta-dose de ciclofosfamida pós-transplante.<sup>37</sup>

Diversos estudos comparam a utilização de células hematopoiéticas provenientes de dadores sem parentesco com compatibilidade HLA com de dadores com parentesco e com compatibilidade HLA. Por um lado, o transplante proveniente de dadores com parentesco tem associado taxas inferiores de Doença Enxerto-Hospedeiro mas taxas superiores, entre 40 e 50%, de rejeição do transplante. Por outro lado, proveniente de dadores sem parentesco, verifica-se uma baixa incidência de rejeição mas taxas superiores Doença Enxerto-Hospedeiro.<sup>42</sup>

Transplantes de **dadores com parentesco e com compatibilidade HLA** referem-se geralmente a um *mismatch* 3/6 ou 4/8 alelos relativo a um dador com parentesco, sendo precisamente essa disparidade HLA a grande desvantagem deste tipo de dadores.<sup>40</sup> Estes transplantes têm elevada disponibilidade, são menos dispendiosos e verifica-se uma reconstituição do sistema imunitário rápida. Está associada, no entanto, a menor experiência e tem uma taxa de rejeição de transplante superior, comparativamente ao transplante de dadores sem parentesco com compatibilidade HLA.<sup>41,42</sup>

Relativamente às células hematopoiéticas provenientes de **sangue do cordão umbilical**, estas têm sido cada vez mais utilizadas em pacientes pediátricos quer no contexto de doenças malignas, quer em não-malignas. São várias as vantagens associadas a este tipo de fonte de células hematopoiéticas tais como o baixo risco de contaminação viral do enxerto, elevada disponibilidade (>95%) e uma incidência e severidade reduzidas de Doença Enxerto-Hospedeiro aguda e crónica. A taxa de sobrevivência livre de eventos a 2 anos foi de cerca de 90%.<sup>37,41</sup>

No entanto, entre as várias fontes alternativas de dador, o transplante de sangue do cordão umbilical é aquele que tem associado maiores taxas de rejeição do transplante.<sup>40</sup> Além desta existem outras desvantagens associadas: o baixo número de células hematopoiéticas recolhidas, uma reconstituição do sistema imunitário mais lenta pós-transplante e o facto de ser uma técnica dispendiosa.<sup>41</sup> O facto de se associar a uma reconstituição imunitária mais lenta e não haver transferência passiva de imunidade

celular com o transplante, pode ser uma fonte menos desejável em doentes com infecções prévias, como infecção por citomegalovírus ou vírus Epstein-Barr.<sup>40</sup>

Deste modo, na ausência de um irmão-dador deve ser considerado um dador sem parentesco na presença de critérios de severidade.<sup>18</sup> A probabilidade de encontrar um dador adequado ao doente depende do nível de *mismatching* relativamente ao dador que é considerado aceitável. À medida que aumenta a severidade do fenótipo do doente, os critérios de inclusão de dadores tornam-se mais amplos e conseqüentemente, é aceite um *mismatching* superior.<sup>18</sup>

Entre os dadores alternativos é dada preferência a um dador sem parentesco com compatibilidade HLA, posteriormente a sangue de cordão umbilical de dador sem parentesco e por fim, a um dador com parentesco com compatibilidade HLA.<sup>18,40</sup>

Tendo em conta as fontes alternativas de dador preferenciais, estas servirão para determinadas complicações secundárias à Drepanocitose, havendo uma expansão dos critérios de elegibilidade para transplante. A utilização de células hematopoiéticas de dador sem parentesco com compatibilidade HLA e de sangue de cordão umbilical, constituem critérios o AVC, velocidade elevada no doppler transcraniano, aloimunização, hipertensão pulmonar, síndrome torácico agudo e crises vaso-oclusivas recorrentes apesar da terapia de suporte. Já casos mais severos de AVCs recorrentes apesar de terapia transfusional adequada crónica, constituem indicação para transplante proveniente de dador com parentesco e com compatibilidade HLA.<sup>18</sup>

## Conclusão

A esperança média de vida dos doentes com Drepanocitose tem melhorado no último meio século, com a maioria dos doentes a atingir a 5ª década nos dias de hoje. Isto foi possível devido a um melhor conhecimento da doença e reconhecimento das suas complicações, bem como pela utilização de penicilina para profilaxia de infecções, a vacinação contra *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae tipo b*, e a melhoria do tratamento de base com a hidroxiureia. O único tratamento curativo é o transplante de células hematopoiéticas, que verifica uma taxa de sobrevivência pós-transplante superior a 93%.

Existem diferentes génotipos relacionados com Drepanocitose aos quais se associam diferentes complicações e repercussões na esperança média de vida. Na doença SC e no traço talassémico  $\beta$  a esperança média de vida é superior, com menos mortes associadas à doença e menos AVCs, comparativamente ao que se verifica em doentes homozigóticos e doentes com traço talassémico  $\alpha$ . Sob este prisma, abre-se um paradigma que considera razoável a utilização de transplante como terapêutica em crianças assintomáticas, quer em doentes homozigóticos, quer em doentes com traço talassémico  $\alpha$ .

No entanto, crianças com traço talassémico  $\beta$  e com doença SC sofrem igualmente de complicações drepanocíticas major, crises vaso-oclusivas tem uma redução significativa da qualidade de vida. Além disso, o conceito de Drepanocitose “assintomática” é falacioso pois, apesar de não manifestarem sintomas, os doentes sofrem de lesões de órgão-alvo. A lesão crónica inicia-se na infância com evidências de enfartes cerebrais silenciosos associados a repercursões na *performance* escolar e na capacidade intelectual. Verifica-se ainda, disfunção renal e esplénica, estando a maioria das crianças asplénicas aos 5 anos de idade. Assim, existe uma enorme contorvêrsia relacionada com os critérios de elegibilidade para transplante em casos assintomáticos.

Constatou-se que o transplante tem melhores resultados se efectuado previamente ao estabelecimento das lesões de órgão-alvo, quando o doente ainda preserva um bom estado funcional, sendo que a mortalidade associada ao transplante aumenta com a idade. Igualmente, há uma redução da tolerância do regime de condicionamento com o avançar da idade. Verifica-se que o risco de mortalidade em transplantes provenientes

de irmão-dador com compatibilidade HLA não atinge os 5%, valor possivelmente inferior em doentes com fenótipos menos severos.

O regime não-mieloablatoivo está associado a menor toxicidade e por isso não exclui doentes com lesão de órgão-alvo, sendo o regime recomendado para doentes adultos. Por ser menos agressivo, é um regime que cursa com uma menor taxa de mortalidade e um risco rejeição superior, comparativamente com o regime mieloablatoivo. No entanto, verificou-se que os regimes de condicionamento de intensidade reduzida em crianças seguidos de transplante proveniente de dador-irmão têm *outcomes* semelhantes ao regime mieloablatoivo. A escolha de um regime de intensidade reduzida pode ser uma opção em crianças, nomeadamente as assintomáticas, obtendo os benefícios do transplante e simultaneamente sujeitando a criança a uma menor toxicidade.

O quimerismo misto, que consiste na mistura de células hematopoiéticas do doente com as do dador, apesar de estar associado ao regime não-mieloablatoivo, surge igualmente após o regime mieloablatoivo. Embora a hemoglobina do doente esteja ainda presente, é produzida hemoglobina do dador (HbA) em quantidades suficientes para reverter o fenótipo da Drepanocitose. Igualmente, com o estado de quimerismo misto existe a vantagem adicional de haver menor risco de desenvolvimento da Doença Enxerto-Hospedeiro, por haver alguma hemoglobina do doente presente.

O tipo de dador *gold standart* é o irmão-dador com compatibilidade HLA, mas, infelizmente, apenas uma minoria de doentes tem um irmão-dador sem genótipo ou fenótipo drepanocítico. Assim, é necessário tornar os critérios de selecção de dador mais abrangentes, de forma a garantir uma maior possibilidade de transplante aos doentes.

Entre as várias fontes alternativas de dador, o transplante de dadores sem parentesco com compatibilidade HLA tem tido resultados comparáveis com os obtidos com irmãos-dadores, sendo o preferido entre os dadores alternativos. Os dadores sem parentesco com compatibilidade HLA devem ser considerados na presença de critérios de severidade e à medida que aumenta a severidade do fenótipo do doente, é aceite um *mismatching* superior, utilizando sangue de cordão umbilical de dador sem parentesco e em último caso, recorrendo a um dador com parentesco com compatibilidade HLA.

Para concluir, tendo em conta os riscos e benefícios, questiona-se se os doentes assintomáticos e com fenótipo menos severo estão a ser prejudicados, ao ser limitado o



acesso precoce ao transplante de medula óssea. Trata-se de uma doença crónica que cursa com elevada morbilidade e mortalidade precoce que tem um tratamento curativo disponível que se associa a uma elevada taxa de sobrevivência e a uma toxicidade menor, consoante o regime de condicionamento escolhido. Desta forma, é defendido que o transplante de células hematopoiéticas proveniente de irmão-dador com compatibilidade HLA pode ser utilizado nestes doentes, o mais cedo possível, estudando a compatibilidade de familiares.

## **Agradecimentos**

O Trabalho Final de Mestrado marca o fim de um capítulo e por isso, invariavelmente, faz-nos repensar em todo o caminho que percorremos até aos dias de hoje.

Agradeço a disponibilidade, auxílio e inspiração do Doutor Carlos Martins e do Professor Doutor João Lacerda para a realização deste trabalho.

Agradeço imensamente aos meus pais, Loraine e Rui, os meus pilares, a minha inspiração e quem me permitiu ter as oportunidades que tive e com elas voar mais alto.

Ao Carlos, obrigada pelo carinho, pelo apoio e por me inspirares a superar as adversidades.

Aos meus amigos, obrigada por ajudarem a construir quem sou hoje e serem amigos incondicionais.

## **Bibliografia**

1. Chaturvedi, S. & Debaun, M. R. Evolution of sickle cell disease from a life-threatening disease of children to a chronic disease of adults: The last 40 years. *Am. J. Hematol.* **91**, 5–14 (2016).
2. Weatherall, J. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. **115**, 4331–4337 (2017).
3. Kassim, A. a & Debaun, M. R. The case for and against initiating either hydroxyurea therapy, blood transfusion therapy or hematopoietic stem cell transplant in asymptomatic children with sickle cell disease. *Expert Opin. Pharmacother.* **15**, 325–36 (2014).
4. Azar, S. & Wong, T. E. Sickle Cell Disease A Brief Update. *Med. Clin. NA* **101**, 375–393 (2017).
5. Quinn, C. T., Rogers, Z. R., Mccavit, T. L. & Buchanan, G. R. Improved survival of children and adolescents with sickle cell disease. **115**, 1–3 (2017).
6. Orah, S. P. et al. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. (1994).
7. Bhatia, M. & Sheth, S. Hematopoietic stem cell transplantation in sickle cell disease: patient selection and special considerations. *J. Blood Med.* **6**, 229–238 (2015).
8. Yawn, B. P. et al. Management of Sickle Cell Disease. *Jama* **312**, 1033 (2014).
9. Kasper, D. L. & et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine.* (2015).
10. Gill, B. F. M. et al. Clinical events in the first decade in a cohort of infants with sickle cell disease. **2**, 776–783 (1995).
11. Walters, M. C. et al. Indications and Results of HLA-Identical Sibling Hematopoietic Cell Transplantation for Sickle Cell Disease. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **22**, 207–211 (2016).
12. Pace, B. *Renaissance of sickle cell disease research in the genome era.*
13. Matthes-Martin, S. et al. Stem cell transplantation after reduced-intensity conditioning for sickle cell disease. *Eur. J. Haematol.* **90**, 308–312 (2013).
14. Hsieh, M. M., Fitzhugh, C. D. & Tisdale, J. F. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for sickle cell disease: The time is now. *Blood* (2011). doi:10.1182/blood-2011-01-332510
15. Nickel, R. S., Hendrickson, J. E. & Haight, A. E. The ethics of a proposed study

- of hematopoietic stem cell transplant for children with ‘ less severe ’ sickle cell disease. *Perspectives (Montclair)*. **124**, 861–866 (2014).
16. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. (1991).
  17. Walters MC, Patience M, L. W. & Al, E. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. **335**, 369–376 (1996).
  18. Shenoy, S. Hematopoietic stem cell transplantation for sickle cell disease: current practice and emerging trends. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* **2011**, 273–9 (2011).
  19. Schatz, J., Brown, R. T., Pascual, J. M., Hsu, L. & DeBaun, M. R. Poor school and cognitive functioning with silent cerebral infarcts and sickle cell disease. *Neurology* **56**, 1109–1111 (2001).
  20. Debaun, M. R. *et al.* Silent cerebral infarcts: a review on a prevalent and progressive cause of neurological injury in sickle cell anemia Silent cerebral infarcts: a review on a prevalent and progressive cause of neurological injury in sickle cell anemia Department of Pedia. *Blood* **119**, 4587–4597 (2012).
  21. Sheth, S., Licursi, M. & Bhatia, M. Sickle cell disease: time for a closer look at treatment options? 455–464 (2013). doi:10.1111/bjh.12413
  22. Walters MC, Patience M, L. W. & Al, E. Stable Mixed Hematopoietic Chimerism After Bone Marrow Transplantation for Sickle Cell Anemia. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **7**, 665–673 (2001).
  23. Gluckman, E. Allogeneic transplantation strategies including haploidentical transplantation in sickle cell disease. *Hematology* **2013**, 370–376 (2013).
  24. Walters, M. C. *et al.* Pulmonary, Gonadal, and Central Nervous System Status after Bone Marrow Transplantation for Sickle Cell Disease. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **16**, 263–272 (2010).
  25. Berthaut, I. *et al.* Influence of sickle cell disease and treatment with hydroxyurea on sperm parameters and fertility of human males. *Haematologica* **93**, 988–993 (2008).
  26. Lanzkron, S., Carroll, C. P., Haywood, C. & Jr. Mortality rates and age at death from sickle cell disease: U.S., 1979-2005. *Public Health Rep.* **128**, 110–6 (2013).
  27. Kamani, N., Lantos, J. D., Myers, D. & Kahn, J. P. Ethical Considerations in Pediatric BMT Donors and Recipients. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **17**, S132–S136 (2011).
  28. Kamani, N. R. *et al.* Unrelated Donor Cord Blood Transplantation for Children

- with Severe Sickle Cell Disease: Results of One Cohort from the Phase II Study from the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN). *Biol. Blood Marrow Transplant.* **18**, 1265–1272 (2012).
29. Hsieh, M. M. & et al. Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation for Sickle Cell Disease. *N. Engl. J. Med.* 2309–2316 (2009). doi:10.1056/NEJMoa0904327
  30. Hsieh, M. M. *et al.* Nonmyeloablative HLA-matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for severe sickle cell phenotype. *Jama* **312**, 48–56 (2014).
  31. King, A. A. *et al.* Successful matched sibling donor marrow transplantation following reduced intensity conditioning in children with hemoglobinopathies. *Am. J. Hematol.* **90**, 1093–1098 (2015).
  32. Bernaudin, F. *et al.* Long-term results of related myeloablative stem-cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood* **110**, 2749–2756 (2007).
  33. Mcpherson, M. E. *et al.* Safety and efficacy of targeted busulfan therapy in children undergoing myeloablative matched sibling donor BMT for sickle cell disease. *Bone Marrow Transplant.* **46**, 27–33 (2010).
  34. Sodani, P., Gaziev, J., Lucarelli, G. & Isgro, A. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Thalassemia and Sickle Cell Anemia. 1–12 (2012).
  35. Board-approved, I. R. Mixed haematopoietic chimerism for sickle cell disease prevents intravascular haemolysis. 504–507 (2007). doi:10.1111/j.1365-2141.2007.06803.x
  36. Locatelli, Franco; Pagliara, D. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children With Sickle Cell Disease. *Pediatr. Blood Cancer* (2012). doi:10.1002/pbc
  37. Alfraih, F., Aljurf, M., Fitzhugh, C. D. & Kassim, A. A. Alternative donor allogeneic hematopoietic cell transplantation for hemoglobinopathies. *Semin. Hematol.* **53**, 120–128 (2016).
  38. Bolaños-Meade, J. *et al.* HLA-haploidentical bone marrow transplantation with posttransplant cyclophosphamide expands the donor pool for patients with sickle cell disease. **120**, 4285–4291 (2012).
  39. Hoffbrand, A. V. M. P. A. . *Fundamentos em Hematologia.* (artmed, 2013).
  40. Kekre, N. & Antin, J. H. Hematopoietic stem cell transplantation donor sources in the 21st century : choosing the ideal donor when a perfect match does not exist

- Hematopoietic stem cell transplantation donor sources in the 21st century: choosing the ideal donor when a perfect ma. *Hematology* **124**, 334–343 (2014).
41. Tolar, J., Sodani, P. & Symons, H. Alternative donor transplant of benign primary hematologic disorders. *Bone Marrow Transplant.* **50**, 619–27 (2015).
  42. Meier, E. R. & Rampersad, A. Pediatric sickle cell disease: Past successes and future challenges. *Pediatr. Res.* **81**, 249–258 (2017).