

Renata Bizzetto

Mestrado

Transplante de sangue de cordão umbilical aparentado e não
aparentado para pacientes com síndromes de insuficiência
medular hereditárias, excluindo a anemia de Fanconi.

Campinas

2010

Renata Bizzetto

Transplante de sangue de cordão umbilical aparentado e não
aparentado para pacientes com síndromes de insuficiência
medular hereditárias, excluindo anemia de Fanconi.

Tese de Mestrado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de
ciências médicas, da Univesidade
Estadual de Campinas, para
obtenção do título de mestre em
Clínica médica, área de
concentração Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Carmino Antonio de Souza

Co-Orientador: Dr. Vanderson Rocha

Campinas

Unicamp

2010

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

Bibliotecário: Rosana Evangelista Poderoso – CRB-8ª / 6652

B554t Bizzetto, Renata
 Transplante de sangue de cordão umbilical aparentado e não
 aparentado para pacientes com síndromes de insuficiência medular
 hereditárias, excluindo anemia de Fanconi / Renata Bizzetto.
 Campinas, SP : [s.n.], 2010.

Orientadores: Carmino Antonio de Souza; Vanderson Rocha
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Transplante de medula óssea. 2. Cordão umbilical. I.
Souza, Carmino Antonio de . II. Rocha, Vanderson. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.
IV. Título.

**Título em inglês : Outcomes after related and unrelated umbilical cord
blood transplantation for hereditary bone marrow failure syndromes other
than Fanconi anemia**

Keywords: • Bone marrow transplantation
• Umbilical Cord blood

Titulação: Mestre em Clínica Médica
Área de Concentração: Clínica Médica

Banca examinadora:

Profº. Drº. Carmino Antonio de Souza
Profº. Drº. Celso Arrais Rodrigues
Profº. Drº. Afonso Celso Vigorito

Data da defesa: 20-12-2010

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Renata Bizzetto

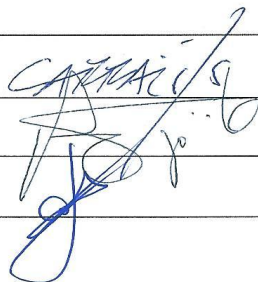
Orientador: Prof. Dr. Cármino Antônio de Souza

Membros:

1. Prof. Dr. Celso Arrais Rodrigues

2. Prof. Dr. Afonso Celso Vigorito

3. Prof. Dr. Cármino Antônio de Souza



Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 20/12/2010

DEDICATÓRIA

À minha mãe Arlete, meu pai Edison, meus irmãos, Patricia, Katia e Armando, pelo apoio que deram durante todos os momentos da minha vida.

Ao meu querido Henrique, pelo companherismo e amor com que compartilha todas as experiências da minha vida.

Agradecimentos

Ao **Prof. Dr. Carmino Antônio de Souza**, por ter prontamente aceitado ser o orientador deste trabalho, pela atenção e pelos ensinamentos durante o desenvolvimento desta tese.

Ao **Dr. Vanderson Rocha e Dra. Eliane Gluckman** por terem me recebido no Eurocord e terem iniciado a idéia deste projeto, e à **toda equipe do Eurocord** pelas orientações durante o período em que estive em Paris para a coleta de dados.

À **Eliana Miranda** pela disponibilidade, pelo carinho e orientações estatísticas durante a execução deste trabalho.

Aos médicos **Dr. Afonso Celso Vigoritto, Dr. Franscisco José Penteado Aranha e Dra. Gislaine Borba Oliveira, Dra. Ellen Cristina Carnevalli**, pela convivência, pela atenção e pelos ensinamentos durante todo o meu estágio no serviço de transplante de medula óssea da Unicamp.

À **toda a equipe do serviço de transplante de medula óssea da Unicamp** pela convivência sempre agradável e pela ajuda durante o período em que realizei o estágio no serviço.

Aos **pacientes** que depositam toda confiança e esperança em nossas condutas e que nos ensinam a valorizar cada dia de nossas vidas.

Aos **familiares e amigos** que de maneira direta ou indireta vivenciaram comigo a realização deste trabalho.

Resumo

O transplante com células tronco hematopéticas é a única opção curativa para os pacientes com síndromes de insuficiência medular hereditárias (SIMH). O sangue de cordão umbilical é uma fonte alternativa de células tronco hematopoéticas para o transplante alogênico.

Pacientes e métodos: Este estudo retrospectivo e multicêntrico é baseado em dados do registro Eurocord sobre pacientes com SIMH, excluindo os paciente com anemia de Fanconi, que receberam transplante de sangue de cordão umbilical (TCU).

Resultados: Sessenta e quatro pacientes com SIMH foram transplantados com doador aparentado (n=20) e não aparentado (n=44). Os diagnósticos foram: anemia de Blackfan Diamond (21 pacientes), trombocitopenia amegacariocítica congênita (16 pacientes), disqueratose congênita (8 pacientes), síndrome de Shwachman-Diamond (2 pacientes), neutropenia congênita grave (16 pacientes) e SIMH inclassificável (1 paciente). No grupo aparentado, 19 pacientes receberam transplante HLA compatível do irmão. A mediana de células nucleadas totais (CNT) infundidas foi $5 \times 10^7/\text{kg}$. A incidência cumulativa da recuperação de neutrófilos em 60 dias foi 95%, 2 pacientes tiveram doença do enxerto contra hospedeiro (DECH) grau II a IV e a incidência cumulativa em 2 anos de DECH crônica foi 11%. A sobrevida global (SG) em 3 anos foi 95%. No grupo não aparentado, 86% dos pacientes receberam enxerto com incompatibilidade HLA e 3 receberam duas unidades de cordão umbilical. A mediana de CNT infundidas foi $6,1 \times 10^7/\text{kg}$. A incidência cumulativa da recuperação de neutrófilos em 60 dias foi 55%; de DECH grau II a IV em 100 dias foi 24% e de DECH crônica em 2 anos foi 53%. A SG em 3 anos foi 61%; melhor SG foi associada com idade < 5 anos ($p=0,01$) e número CNT infundidas $\geq 6.1 \times 10^7/\text{kg}$ ($p=0,03$).

Conclusão: em pacientes com SIMH, TCU aparentado é associado com excelentes resultados enquanto no TCU não aparentado o aumento no número de células promove melhores resultados.

Abstract

Background: Allogeneic stem cell transplantation is the only curative option for patients with hereditary bone marrow failure syndromes (HBMFS). Umbilical cord blood (UCB) cells is an alternative stem cell source for allotransplantation.

Design and Methods: This multicenter, retrospective study is based on data reported to Eurocord Registry about patients with HBMFS other than Fanconi anemia who received UCB transplantation (UCBT).

Results: Sixty four patients with HBMFS were transplanted from related (n=20) or unrelated donors (n=44). Diagnoses were: Diamond-Blackfan anemia (21 patients), congenital amegakaryocytic thrombocytopenia (16 patients), dyskeratosis congenita (8 patients), Shwachman-Diamond syndrome (2 patients), severe congenital neutropenia (16 patients) and unclassified HBMFS (1 patient). In the related group, all patients but one received an HLA-matched sibling transplant. Median total nucleated cells (TNC) infused was $5 \times 10^7/\text{kg}$. Cumulative incidence (CI) of 60-day neutrophil recovery was 95%, 2 patients had grade II-IV acute graft-versus-host disease (GVHD), while the 3-year CI of chronic GVHD was 11%. The 3-year overall survival (OS) was 95%. In the unrelated group, 86% of patients had HLA mismatched grafts and 3 received two UCB units. Median TNC infused was $6.1 \times 10^7/\text{kg}$. Day-60 CI of neutrophil recovery was 55%; 100-day CI of grade II-IV acute GVHD was 24%, while 2-year CI of chronic GVHD was 53%. The 3-year OS was 61%; better OS was associated with age < 5 years ($p=0.01$) and a number of TNC infused $\geq 6.1 \times 10^7/\text{kg}$ ($p=0.03$).

Conclusion: in patients with HBMFS, related UCBT is associated with excellent outcomes while in unrelated UCBT increasing cell dose might provide better results.

Lista de Tabelas:

Tabela 1 - Características clínicas das insuficiências medulares hereditárias.	20
Tabela 2 - Neoplasias associadas às síndromes de insuficiência medular hereditárias.....	21
Tabela 3 – Genes envolvidos nas SIMH	21
Tabela 4 – Padrão de herança na DC e genes envolvidos	27
Tabela 5 – Características clínicas dos pacientes com DC – Frequência publicada pelo Registro de Disqueratose Congênita.....	27
Tabela 6 – Anormalidades congênitas presentes em pacientes com ABD	31
Tabela 7 – Diagnóstico diferencial: ABD e eritroblastose transitória da infância	31
Tabela 8 – Recomendações do Eurocord para TCU com relação ao diagnóstico (doenças malignas e não malignas), tipagem HLA e número de células infundidas.....	39
Tabela 9 – Características dos pacientes e das doenças analisadas	46
Tabela 10- Características do enxerto e do transplante.....	47
Tabela 11 – Cinética do transplante, DECH aguda e crônica.	56
Tabela 12– <i>Follow up</i> , Sobrevida Global e causas de morte por diagnóstico. .	57
Tabela 13 – Análise univariada (Modelo de regressão COX) – Grupo Não Aparentado (n=44)	60
Tabela 14 – Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Anemia de Blackfan Diamond.	63
Tabela 15 – Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Disqueratose Congênita.....	64
Tabela 16 - Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Trombocitopenia Amegacariocítica Congênita.	65

Tabela 17 – Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Neutropenia Congênita Grave..... 66

Tabela 18 – Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Síndrome de Shwachman Diamond..... 67

Lista de Figuras:

Figura 1 - Incidência cumulativa de DECH aguda em 100 dias.	58
Figura 2 - Incidência Cumulativa de DECH crônica em 2 anos.....	58
Figura 3 – Sobrevida Global nos grupos aparentado e não aparentado	59
Figura 4 – Sobrevida Global em pacientes submetidos a TCU não aparentado de acordo com o número de células infundidas.	59

Lista de abreviaturas e siglas:

ABD	Anemia de Blackfan Diamond
ATG	Globulina anti-timocítica
CMV	Citomegalovírus
DC	Disqueratose congênita
DECH	Doença do enxerto contra o hospedeiro
EBV	Epstein Barr vírus
Eurocord	Registro europeu de transplantes de sangue de cordão umbilical
G-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos
HLA	Antígenos leucocitários humanos
LMA	Leucemia mielóide aguda
MAC	Mieloablativo
NCG	Neutropenia congênita grave
RIC	Condicionamento de intensidade reduzida
SIMH	Síndromes de insuficiência medular hereditárias
SMD	Síndrome mielodisplásica
SSD	Síndrome de Shwachman Diamond
TAC	Trombocitopenia amegacariocítica congênita
TBI	<i>total body irradiation</i> (irradiação corporal total)
TCTH	Transplante de células tronco hematopoéticas
TCU	Transplante de sangue de cordão umbilical

Lista de notações:

g/dl – gramas por decilitro

kg – quilogramas

mg – miligramas

m² – metro quadrado

mm³ – milímetro cúbico

Sumário:

Resumo	vii
Abstract	viii
1 Introdução.....	16
2 Revisão de literatura.....	22
2.1 Síndromes de insuficiência medular hereditárias avaliadas.....	23
2.1.1 Disqueratose congênita	23
2.1.2 Anemia de Blackfan Diamond	28
2.1.3 Neutropenia Congênita Grave	32
2.1.4 Trombocitopenia amegacariocítica congênita	33
2.1.5 Síndrome de Shwachman-Diamond	35
2.2 Transplante de sangue de cordão umbilical	37
3 Objetivos.....	40
4 Casuística e métodos	42
5 Resultados.....	48
5.1 Resultados do grupo aparentado	49
5.1.1 Características dos pacientes, das doenças e do transplante.....	49
5.1.2 Enxertia	50
5.1.3 DECH	51
5.1.4 Sobrevida Global	51
5.2 Resultados do grupo não aparentado	51
5.2.1 Características dos pacientes, das doenças e do transplante.....	51
5.2.2 Enxertia	53
5.2.3 DECH	54

5.2.4	Sobrevida Global	54
5.3	Resultados TCU aparentado e não aparentado pelo tipo de doença.....	61
6	Discussão	68
7	Conclusão.....	72
8	Referências.....	74
9	ANEXOS.....	83
	ANEXO 1- Questionários aplicados aos centros transplantadores pelo Eurocord	84
	ANEXO 2 - Termo de consentimento enviado aos centros transplantadores participantes.....	89
	ANEXO 3 – Centros transplantadores que incluíram pacientes no estudo e número de pacientes incluídos por cada centro.....	90
	ANEXO 4 – Artigo referente a tese de mestrado publicado na revista Haematologica.	92

1 Introdução

As síndromes de insuficiência medular hereditárias (SIMH) são doenças raras que são caracterizadas por insuficiência medular e predisposição a neoplasia (1, 2). As principais doenças pertencentes a este grupo são: anemia de Fanconi, disqueratose congênita, anemia de Blackfan-Diamond, neutropenia congênita grave, trombocitopenia amegacariocítica congênita e síndrome de Shwachman Diamond. São tradicionalmente consideradas como doenças pediátricas, mas muitos pacientes são diagnosticados quando adultos. Além disso, muitos pacientes quando diagnosticados na infância vivem até a idade adulta, portanto não é somente um grupo de doenças tratado por hematologistas pediátras. Entre os pacientes que recebem o diagnóstico de anemia aplástica, aproximadamente 25% dos pacientes pediátricos e 10% dos adultos jovens têm diagnóstico de SIMH, sendo que a etiologia hereditária pode estar presente mesmo diante da ausência de achados clínicos característicos. O diagnóstico de SIMH traz profundas implicações na escolha da terapia, no manejo clínico, na indicação do transplante de células tronco hematopoéticas, na escolha do condicionamento e do doador, na monitorização de neoplasias e no aconselhamento familiar (1, 3-5).

Portanto, sempre que um paciente recebe diagnóstico de anemia aplástica, deve-se buscar alterações clínicas características e realizar exames laboratoriais para diagnosticar SIMH (1, 3, 6). A tabela 1 faz uma referência às principais características clínicas que no contexto de um paciente com insuficiência medular leva o médico a suspeitar de origem hereditária (3).

A história familiar também tem grande importância no diagnóstico das SIMH. Uma história familiar de câncer em indivíduos jovens sem aparente etiologia ou fator de risco e o tipo de câncer também deve ser levado em consideração no diagnóstico destas síndromes (3, 5, 7). A tabela 2 descreve os principais tipos de neoplasias associados as SIMH.

Os exames laboratoriais têm avançado e melhorado a capacidade de diagnosticar este grupo de doenças. O atual exame *gold standard* para

diagnosticar anemia de Fanconi é a demonstração do aumento de quebra cromossômica após exposição a agentes clastrogênicos, tais como mitomicina C ou diepoxibutano (DEB). A avaliação do comprimento de telômero é útil como teste de triagem para diagnóstico de disqueratose congênita nos pacientes com suspeita clínica. Os testes para identificar as mutações genéticas características de disqueratose congênita são necessários para confirmar o diagnóstico. Um dos marcadores da síndrome de Shwachman Diamond é a atresia pancreática exócrina, sendo a medida do tripsinogênio sérico e isoamilase pancreática testes úteis para avaliar disfunção pancreática exócrina. Níveis elevados de adenosina deaminase eritrocitária (ADAe) auxilia o diagnóstico de anemia de Blackfan Diamond. Muitos genes envolvidos nestas síndromes já foram identificados e podem ser avaliados por testes genéticos para complementação diagnóstica (Tabela 3). Porém, testes genéticos negativos não afastam o diagnóstico, pois muitos genes envolvidos ainda podem ser identificados (1, 3).

O tratamento com transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) é curativo para estes pacientes, porém trata apenas a doença medular, as anormalidades em outros sistemas e a predisposição a neoplasias permanecem. Além disso, são pacientes que apresentam grande toxicidade ao transplante, sendo necessário o uso de condicionamento de intensidade reduzida para diminuir a excessiva morbidade e mortalidade (6, 8, 9).

A fonte clássica de células tronco hematopoéticas para transplante nos pacientes com SIMH é a medula óssea, uma vez que células de sangue periférico estão associadas com risco aumentado de doença do enxerto contra o hospedeiro crônica e menores taxas de sobrevida nas doenças não malignas (10). O transplante de sangue de cordão umbilical oferece uma alternativa para pacientes sem doador na família ou sem doador HLA compatível não aparentado (11).

Este trabalho mostra os dados de transplante de sangue de cordão umbilical aparentado e não aparentado realizado em pacientes com SIMH, exceto os pacientes com anemia de Fanconi. Os pacientes com anemia de Fanconi foram

excluídos do estudo, pois os dados destes pacientes já foram previamente analisados e publicados pela equipe do Eurocord (12).

A importância deste trabalho baseia-se no fato de ser um grupo de pacientes com doenças muito raras submetidos a um transplante com fonte alternativa de células tronco hematopoéticas o que também é muito raro. A realização deste trabalho somente foi possível com a utilização de dados de registro do grupo europeu de transplante de sangue de cordão umbilical (Eurocord) e com o envolvimento de vários centros transplantadores do mundo.

Tabela 1 - Características clínicas das insuficiências medulares hereditárias.

Alterações	Anemia de Fanconi	Disqueratose congênita	Síndrome de Shwachman Diamond	Trombocitopenia amegacaiocítica congênita	Anemia de Blackfan Diamond
Crescimento	X	X	X		X
Pele	X	X	X		
Face	X				X
Ocular	X	X			
Audição	X				
Dentes	X	X	X		
Leucoplaquia		X			
Alopécia		X			
Distrofia ungueal		X			
Pulmonar		X			
Cardíaca	X	X	X		X
Gastrointestinal	X	X	X		
Fígado	X	X	X		
Genitourinária	X	X			X
Endocrinopatias	X	X	X		
Hipogonadismo	X	X			
Esqueleto	X	X	X		
Polegar/radial	X				X
Osteopenia	X	X	X		X
Neurológicas	X	X	X	X	X
Imunológicas		X	X		

Dados retirados de: Shimamura A. Clinical approach to marrow failure. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009:329-37.

Tabela 2 - Neoplasias associadas às síndromes de insuficiência medular hereditárias.

	Anemia de Fanconi	Disqueratose congênita	Síndrome de Shwachman Diamond	Trombocitopenia amegacariocítica congênita	Anemia de Blackfan Diamond
Leucemia	X	X	X	X	X
Linfoma		X			
Carcinoma de células escamosas [#]	X	X			
Adenoca* TGI	X	X			
Adenoca* pulmão/pele		X			
Tumor hepático	X	X			
Tumor SNC	X				
Tumor de Wilms	X				
Osteosarcoma					X
Sarcomas de partes moles					X

[#]Carcinoma de células escamosas: cabeça e pescoço, trato gastrointestinal, trato genital feminino;

*Adenocarcinoma; TGI - trato gastrointestinal; SNC – Sistema nervoso central. Dados retirados de: Shimamura A. Clinical approach to marrow failure. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009:329-37.

Tabela 3 – Genes envolvidos nas SIMH

Síndromes					
	Anemia de Fanconi	Disqueratose congênita	Síndrome de Shwachman Diamond	Trombocitopenia amegacariocítica congênita	Anemia de Blackfan Diamond
Genes	FANCA	DKC1	SBDS	C-MPL	RPS19
	FANCC	TERC			RPS17
	FANCD1	TERT			RPS24
	FANCD2	TINF2			RPL35A
	FANCE	NHP2			RPL11
	FANCF	NOLA2			RPS7
	FANCG FANCI	NOP10			RPL5
	FANCI	NOLA3			
	FANCL FANCM				
	FANCN FANCB				

2 Revisão de literatura

2.1 Síndromes de insuficiência medular hereditárias avaliadas

2.1.1 Disqueratose congênita

A denominação disqueratose congênita (DC) surgiu a partir da descrição feita por Zinsser, em 1910, de dois irmãos com distrofia ungueal, leucoplaquia oral e anormalidades na pigmentação da pele. Posteriormente, novas descrições de pacientes com características similares foram realizadas por Egman e Cole, levando a denominação de síndrome de Zinsser-Egman-Cole. Os primeiros relatos mantiveram o foco nas alterações dermatológicas, porém, conforme os casos eram descritos na literatura, ficava claro que se tratava de uma doença complexa, multisistêmica (13-15).

A DC é uma SIMH causada por defeito na biologia do telômero. Mutações em genes que ocasionam encurtamento de telômero foram identificadas nos pacientes com diagnóstico de DC (14, 16).

O padrão de herança da DC pode ser recessivo ligado ao X, autossômico dominante ou autossômico recessivo (17). Existe um grande número de casos esporádicos, os quais presumivelmente ocorrem devido a novas mutações em genes dominantes. Seis genes foram identificados até o momento com mutações em pacientes com DC: *DKC1*, *TERC*, *TERT*, *TINF2*, *NOLA2* e *NOLA3*. Aproximadamente metade dos casos de pacientes com diagnóstico de DC tem mutações nestes genes, a outra metade aguarda por descoberta de mutações em outros genes (14). A tabela 4 mostra a correlação entre o padrão de herança na DC e as mutações gênicas.

As características clínicas são bastante heterogêneas. O diagnóstico clínico da DC clássica requer a presença de, pelo menos, duas alterações da tríade clássica que é: distrofia ungueal, alteração de pigmentação da pele e leucoplaquia. Porém, outras características clínicas devem ser consideradas. A

tabela 5 lista as principais características clínicas observadas pelo Registro de DC. As manifestações clínicas geralmente aparecem na infância. As alterações de pigmentação da pele e ungueal são, frequentemente, as primeiras manifestações e surgem até os 10 anos de idade. A insuficiência medular, na maioria dos casos, ocorre antes dos 20 anos de idade e cerca de 80-90% dos pacientes terão anormalidades em medula óssea até os 30 anos (16, 17).

O registro de DC fica localizado no Royal London Hospital e até o momento têm registrado 280 famílias. Entre as famílias registradas até julho de 2007, 41 foram caracterizadas como recessiva ligada ao X, 15 como autossômica dominante e 34 como autossômica recessiva, sendo as 194 remanescentes classificadas como casos esporádicos; 63% dos casos permaneceram geneticamente não caracterizados. Geralmente, o padrão de herança determina a gravidade da doença. A forma de doença recessiva ligada ao X tende a ser mais grave do que a forma autossômica dominante. As características clínicas são bem variadas em gravidade nos pacientes com a forma de doença autossômica recessiva (15).

O diagnóstico de DC baseia-se nas características clínicas, na presença de pelo menos dois sinais clínicos da tríade clássica ou pelo menos um sinal e pelo menos outras duas características descritas na tabela 5 associados a testes que avaliam o encurtamento do telômero e alterações nos genes descritos como envolvidos na DC (14, 17).

Os pacientes podem apresentar insuficiência medular sem outras características clínicas associadas. Portanto, quando um paciente recebe o diagnóstico de anemia aplástica, deve ser realizada análise de quebra cromossômica com mitomicina C ou diepoxibutano (DEB) para excluir anemia de Fanconi. Se a análise de quebra cromossômica é normal, deve ser avaliado comprimento de telômero em leucócitos utilizando a técnica de citometria de fluxo com hibridização in situ com fluorescência (flow-FISH) (1, 4, 14).

A frequência de doenças malignas nos pacientes com DC é entre 9-10%, segundo o registro de DC. A maioria é carcinoma, particularmente de cabeça, pescoço e esôfago em 60% dos casos e de cólon e ânus em 15%. Estes pacientes têm risco aumentado de síndrome mielodisplásica e leucemia mielóide aguda (LMA), porém a incidência de tumores sólidos é maior do que de neoplasias hematológicas. A mediana de idade para o surgimento de câncer é 28 anos e a incidência cumulativa de câncer na idade de 50 anos é 35% para todas as malignidades (1, 14, 18).

As variantes da DC consideradas mais graves são: síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson e síndrome de Revez. A síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson é caracterizada por hipoplasia cerebelar, microcefalia, retardo no desenvolvimento, imunodeficiência, retardo no crescimento intrauterino e insuficiência medular. Até o momento foram descritos 30 casos e estudos recentes mostram que estes pacientes têm telômero muito curto e mutações nos genes *DKC1*, *TINF2* ou *TERT*. A síndrome de Revez é caracterizada por retinopatia exsudativa associado a retardo no crescimento intrauterino, insuficiência medular, calcificações em sistema nervoso central, cabelos finos e exparsos e, em alguns casos, presença de distrofia ungueal e leucoplaquia oral. Nestes pacientes foram verificadas alterações no comprimento do telômero e mutações no gene *TINF2* (1, 14, 17, 19-22).

O manejo clínico destes pacientes é complexo e precisa basear-se nas necessidades específicas de cada caso. Pacientes com DC e insuficiência medular não respondem a terapia imunossupressora. O tratamento de insuficiência medular é recomendado se a hemoglobina é menor que 8g/dl, a contagem de plaquetas menor que 30.000/mm³ e a contagem de neutrófilos menor que 1000/mm³ (14). O TCTH é o único tratamento curativo para a insuficiência medular nos paciente com DC. As principais indicações de TCTH para estes pacientes são insuficiência medular grave, LMA e síndrome mielodisplásica (SMD). Embora esteja claro que o TCTH é uma medida importante para os pacientes com DC, eles têm grande risco de toxicidade decorrente do

condicionamento. Os principais problemas relatados com o transplante são: rejeição, DECH, fibrose pulmonar, cirrose, síndrome oclusiva sinusoidal, devido em parte às doenças hepáticas e pulmonares de base. Como resultado, a sobrevida ao longo prazo dos pacientes com DC depois de submetidos a TCTH é pobre. Melhores resultados têm sido obtidos com condicionamento de intensidade reduzida, porém estudos ainda estão em andamento (6, 8, 9, 23, 24).

O TCTH pode ser realizado se o paciente tiver um doador aparentado compatível, porém a seleção de doadores na família é complicada pela variabilidade fenotípica, incluindo os portadores silenciosos. Um doador não aparentado pode ser considerado, porém, antes disso, a terapia com andrógenos deve ser avaliada para o tratamento da insuficiência medular nesses pacientes. O uso de fatores de crescimento não é recomendado. Os pacientes com DC têm risco aumentado de ruptura esplênica com o uso do fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF) associado a andrógenos (1, 14, 25).

Como estes pacientes têm risco aumentado de carcinoma de cabeça, pescoço e anorretal e de malignidades hematológicas recomenda-se frequente monitorização para detecção precoce destas complicações (14).

Tabela 4 – Padrão de herança na DC e genes envolvidos

Padrão de Herança	Gene
Recessivo ligado ao X	DKC1
Autossômico dominante	TERC, TERT, TINF2
Autossômico recessivo	NOLA2, NOLA3

Tabela 5 – Características clínicas dos pacientes com DC – Frequência publicada pelo Registro de Disqueratose Congênita (15)

Características	% de pacientes
Pigmentação anormal da pele	89
Distrofia ungueal	88
Insuficiência medular	86
Leucoplaquia	78
Epífora	30
Dificuldade de aprendizado/Retardo de crescimento e mental	25
Doença pulmonar	20
Baixa estatura	19
Extensiva cárie/perda dentária	17
Estenose esofageana	17
Perda/embranquecimento prematuro de cabelo	16
Hiperhidrose	15
Malignidade	10
Retardo de crescimento intrauterino	8
Doença hepática, úlcera péptica, enteropatia	7
Hipoplasia/ataxia cerebelar	7
Hipogonadismo	6
Microcefalia	6
Estenose uretral/fimose	5
Osteoporose/necrose asséptica/escoliose	5
Surdez	1

2.1.2 Anemia de Blackfan Diamond

A anemia de Blackfan Diamond (ABD) foi primeiramente descrita em 1936 por Joseph e posteriormente descrita como entidade clínica por Diamond e Blackfan em 1938 (26). É caracterizada por aplasia de série eritrocítica, presença de anormalidades congênicas e predisposição a câncer (27).

A biologia molecular da ABD tem sido extensamente estudada e, em mais de 50% dos casos, está associada a uma haploinsuficiência de subunidade proteica do ribossomo. Porém, o exato mecanismo pelo qual a haploinsuficiência ribossômica leva à aplasia eritróide, assim como às outras manifestações clínicas, permanece incerto. A ABD enquadra-se no grupo das SIMH e das ribossomopatias (1, 26, 27).

A apresentação clínica clássica inclui anemia, macrocítica ou normocítica, com reticulocitopenia, contagem de neutrófilos e plaquetas normais e medula óssea com pobreza de precursores eritróides em criança com menos de 1 ano de idade. A maioria dos casos descritos em literatura manifesta-se em pacientes com menos de 1 ano de idade (90%), porém há relatos de casos diagnosticados na idade adulta (26, 27).

O padrão de herança é autossômico dominante com penetrância e expressividade variável. A ABD é causada por mutações em genes que codificam componentes proteicos de subunidades ribossômicas pequenas 40S (do inglês, *small*, exemplo RPS19) e grandes 60S (do inglês, *large*, exemplo RPL35a). As mutações descritas até o momento envolvem os genes *RPS19*, *RPS17*, *RPS24*, *RPS7*, *RPL35a*, *RPL5*, *RPL11*, *RPS10* e *RPS26* (1, 4, 26-29).

As anormalidades congênicas foram descritas em pelo menos 50% dos pacientes e envolvem principalmente cabeça, membros superiores, sistema cardíaco e geniturinário. Mais de uma anormalidade foi descrita em pelo menos 25% dos casos e a gravidade delas também é variável entre os pacientes e

mesmo no próprio paciente. As características clínicas estão descritas na tabela 6. Atualmente correlação entre alterações genotípicas e fenotípicas tem sido descrita. No Registro de ABD nenhum paciente com mutação *RPS19* apresentou anormalidades faciais e todos os pacientes com mutação em *RPL5* apresentaram fissura palatina. Recentemente, dois pacientes com mutação em *RPL11* e *RPL26*, respectivamente, tinham fissura orofacial. Pacientes com mutações em *RPL11* também têm alterações em membros (26-28, 30, 31).

O hemograma, usualmente, apresenta anemia macrocítica, com reticulocitopenia. Os pacientes, frequentemente, apresentam aumento de hemoglobina F e, cerca de, 85% dos pacientes apresentam aumento de adenosina deaminase eritrocítica (ADAe). A medula óssea, geralmente, apresenta eritroblastopenia e linhagens megacariocítica e mielóide normais. O principal diagnóstico diferencial é com eritroblastopenia transitória da infância. A tabela 7 mostra as principais características que diferenciam estes dois diagnósticos (4, 32).

O tratamento de escolha é corticóide, na dose de 2mg/kg/dia de prednisona. Cerca de 80% dos pacientes respondem inicialmente a terapia com corticóide e alguns pacientes tornam-se refratários ao longo do tempo. Como o uso de esteróides em crianças com idade inferior a 1 ano pode provocar retardo no crescimento e desenvolvimento, geralmente não se recomenda o uso em crianças com idade menor que 6 meses e muitos autores orientam a não começar antes de 1 ano de idade, mas não há um consenso definido.

A terapia transfusional faz parte do manejo clínico destes pacientes antes do diagnóstico ser estabelecido e, mesmo após o diagnóstico, quando os pacientes não respondem ou se tornam refratários ao corticóide. Os principais problemas são acesso venoso, risco de aloimunização e de transmissão de infecções e sobrecarga de ferro. Um nível de hemoglobina igual a 8g/dl é suficiente para estes pacientes manterem bom crescimento e desenvolvimento e é o alvo para indicar a transfusão. Quando ocorre sobrecarga de ferro, a quelação é

realizada com desferoxamina em bomba de infusão por 8-12 horas de 4 a 6 dias na semana, como tradicionalmente indicado para os pacientes com beta-talassemia (27, 32).

Embora o TCTH seja a única medida curativa para o problema hematológico, como a doença em geral tem um curso benigno, a indicação de transplante é a não resposta ao corticóide e dependência transfusional ou a evolução para síndrome mielodisplásica ou LMA. O TCTH com doador aparentado HLA compatível mostrou sobrevida global de 81% com plateau de 2 anos, enquanto com doador não aparentado sobrevida de 48% com um plateau de 4 anos (4, 26, 33).

O prognóstico dos pacientes com diagnóstico de ABD é melhor do que dos pacientes com diagnóstico de anemia de Fanconi ou disqueratose congênita. A mediana de sobrevida destes pacientes é 40 anos. O risco de malignidade é baixo, com incidência de 4% descrita em literatura, e de anemia aplástica o risco é ainda menor (4).

Tabela 6 – Anormalidades congênitas presentes em pacientes com ABD (26, 27)

Anomalias Congênitas	%
Craniofacial (hipertelorismo/ponte nasal larga e plana)	50
Baixo peso ao nascer	25
Alterações em polegar	9-19
Geniturinária	38
Retardo de crescimento	30
Membros superiores e mãos	39
Cardíaca	30

Tabela 7 – Diagnóstico diferencial – ABD e eritroblastose transitória da infância (32)

Características	Anemia Blackfan Diamond	Eritroblastose transitória da infância
Aplasia pura de SV	Presente	Presente
Idade	< 1 ano	>1 ano
Hereditariedade	AD ou esporádico	Não tem
Anomalias congênitas	Presente	Ausente
VCM	Aumentado	Normal*
Hemoglobina Fetal	Aumentado	Normal *
Atividade de ADAe	Aumentado	Normal
Outras citopenias	Pode estar presente	Pode estar presente

*Pode estar elevada na recuperação. SV – Série Vermelha; AD – Autossômico dominante

2.1.3 Neutropenia Congênita Grave

A neutropenia congênita grave foi primeiramente descrita por Kostmann como uma doença autossômica recessiva numa população isolada da Suécia (34, 35). Posteriormente, outros padrões de herança foram descritos, ocorrência esporádica ou autossômica dominante. Embora a nomenclatura doença de Kostmann ainda esteja em uso, há uma preferência na literatura pela denominação neutropenia congênita grave (NCG) e reserva-se o uso de doença de Kostmann para o subtipo autossômico recessivo e que apresenta a mutação HAX1 (36).

A NCG caracteriza-se por contagem de neutrófilos menor que $200/\text{mm}^3$, com infecções recorrentes desenvolvidas no primeiro mês de vida. O exame da medula óssea caracteristicamente mostra parada de maturação em mielócitos. Antes do uso da terapia com G-CSF a maioria dos pacientes morria antes de 2 anos de idade. Não há descrição de anomalias congênitas associadas e é necessário o diagnóstico diferencial com outras causas de neutropenia, principalmente neutropenia cíclica (1, 2, 35, 37).

As mutações no gene *ELA2* são responsáveis por 60% dos casos de NCG esporádicos ou autossômico dominante. Outras mutações foram descritas nos genes *GFI1*, *PRDM5* e *PFAAP5*. As mutações na maioria dos casos com padrão de herança autossômico recessivo, incluindo aqueles originalmente descritos por Kostmann, foram identificadas no gene *HAX1* (35).

Mais de 90% dos pacientes respondem ao G-CSF, com aumento do número de neutrófilos e redução do número de infecções, melhorando a qualidade de vida. Existe a suspeita que durante longo período de terapia com G-CSF ocorra um aumento na proporção de pacientes com mutações adquiridas no gene do receptor de G-CSF, podendo ocorrer mielodisplasia, geralmente caracterizada pela monossomia no cromossomo 7 e LMA, porém ainda não está muito claro esta

relação (1, 35, 37-40). Além disso, os respondedores ao G-CSF também apresentam um risco de morte por sepse mesmo com adequada contagem de neutrófilos, provavelmente pela presença de neutrófilos não funcionantes (41).

Os pacientes que não respondem ao G-CSF (10%) têm indicação de TCTH como única opção curativa. Os pacientes que evoluem para SMD ou LMA (10%) também têm indicação de TCTH, porém com resultados ruins. A evolução para mielodisplasia ou LMA geralmente está associada à aquisição de mutação secundária incluindo as mutações no receptor de G-CSF. O TCTH em pacientes cuja indicação foi a não resposta ao G-CSF têm resultados muito melhores do que aqueles que recebem TCTH por transformação para SMD ou LMA. Não há relatos de associação com o desenvolvimento de tumores sólidos (1, 42, 43).

2.1.4 Trombocitopenia amegacariocítica congênita

A trombocitopenia amegacariocítica congênita (TAC) foi primeiramente descrita em 1929 por Greenwald e Sherman. É uma doença extremamente rara que pertence ao grupo das síndromes de insuficiência medular hereditária, caracterizada por trombocitopenia grave ao nascimento devido a um reduzido ou mesmo ausente número de megacariócitos (44).

O diagnóstico de TAC é um diagnóstico de exclusão baseado nos achados de trombocitopenia grave desde o nascimento com número de megacariócitos na medula óssea reduzido ou mesmo ausente. Se os parâmetros clínicos e laboratoriais sugerem TAC é fortemente recomendado fazer a pesquisa da mutação no gene *MPL* que, não é positivo em todos os casos, mas pode servir como uma confirmação molecular dos casos de TAC (44-46).

O diagnóstico diferencial deve ser feito com outras síndromes congênicas que pode levar a trombocitopenia, como anemia de Fanconi, trombocitopenia com

ausência de rádio e trombocitopenia congênita com sinostose rádio-ulnar (caracterizadas por alterações esqueléticas), disqueratose congênita e síndrome de Shwachman-Diamond (44).

De acordo com a evolução da trombocitopenia, os pacientes com diagnóstico de TAC podem ser divididos em dois grupos: o tipo I, que se caracteriza por uma contagem de plaquetas constantemente abaixo de $50.000/\text{mm}^3$ desde o nascimento, e o tipo II, que apresenta uma melhora transitória dos níveis de plaquetas nos primeiros meses de vida. Um pequeno número de pacientes apresenta-se assintomático ao nascimento e, posteriormente, desenvolve trombocitopenia ou pancitopenia na infância. Consequentemente, o diagnóstico de TAC deve ser considerado mesmo nos casos de pacientes que apresentam trombocitopenia ou anemia aplástica depois do primeiro ano de vida (44, 47).

O desenvolvimento de insuficiência medular com consequente pancitopenia é uma importante característica dos pacientes com diagnóstico de TAC. Como outras SIMH, a TAC é considerada uma doença pré-maligna com risco de evolução para leucemia aguda. Porém, o risco de transformação maligna é muito baixo quando consideramos as outras SIMH, como anemia de Fanconi, disqueratose congênita, neutropenia congênita grave e anemia de Blackfan Diamond. Os pacientes com TAC, geralmente, não apresentam anomalias congênitas, embora malformações cardíacas, oculares e em sistema nervoso central já tenham sido descritas (44).

Desde a primeira descrição de mutação no gene *MPL*, 36 diferentes mutações já foram descritas neste gene que codifica o receptor de trombopoetina. O padrão de herança é autossômico recessivo. Estudos sugerem uma correlação entre genótipo-fenótipo, sendo as mutações completas relacionadas com a perda de função completa do receptor de trombopoetina demonstrando um grave curso da doença com desenvolvimento precoce de pancitopenia, ou seja, comportando-se como tipo I. Já as mutações *missense* mostram o fenótipo tipo II, com transitório aumento da contagem de plaquetas durante o primeiro ano de vida e

um menor desenvolvimento de insuficiência medular. A principal hipótese que justifica esta evolução é a presença de uma função residual do receptor de trombopoetina (45, 48).

As opções de tratamento para os pacientes com TAC são muito restritas. O tratamento de escolha é o suporte transfusional sendo que outros tratamentos, com imunoglobulinas, corticóides, andrógenos ou esplenectomia, se mostraram inefetivos. O TCTH é o único tratamento curativo. Os melhores resultados foram obtidos com doadores aparentados, porém os resultados têm melhorado com o TCTH não aparentado. O sangue de cordão umbilical tem sido utilizado com sucesso como fonte de células tronco hematopoéticas, sendo uma opção para os pacientes que não possuem doador HLA compatível (44, 49-52).

2.1.5 Síndrome de Shwachman-Diamond

A síndrome de Shwachman Diamond (SSD) é uma doença multissistêmica, rara, autossômica recessiva, caracterizada principalmente por insuficiência pancreática, insuficiência medular e predisposição a leucemia. Outras características clínicas incluem alterações hepáticas, esqueléticas, imunológicas e cardíacas. A anormalidade hematológica mais comum é a neutropenia definida como contagem de neutrófilos menor que $1500/\text{mm}^3$, mas anemia, trombocitopenia e anemia aplástica podem ocorrer. A apresentação ocorre, geralmente, na infância com raros casos na idade adulta, sendo a malabsorção o principal sintoma, caracterizado por excesso de gordura nas fezes. Outras características frequentes são as anormalidades esqueléticas, sendo mais comum baixa estatura, disostose em metáfises, principalmente em fêmur e quadril, e distrofia torácica (1).

Assim como nas outras SIMH ocorre o risco de desenvolvimento de síndrome mielodisplásica e leucemia aguda, principalmente LMA. O risco de

desenvolver LMA aumenta com a idade, com incidência cumulativa de 70% aos 18 anos de idade. Diferente da anemia de Fanconi e disqueratose congênita não foi relatada associação entre a SSD e o desenvolvimento de tumores sólidos (1, 53).

A síndrome de malabsorção dos pacientes com diagnóstico de SSD ocorre por insuficiência pancreática exócrina, sendo que o diagnóstico pode ser feito pela demonstração de diminuição dos níveis séricos de tripsinogênio e isoamilase e/ou pela demonstração de gordura pancreática pelo exame de ultrassonografia, tomografia computadorizada ou ressonância magnética. A neutropenia deve ser documentada em mais de uma ocasião (54, 55).

Mais de 95% dos pacientes com diagnóstico de SSD apresentam mutação no gene *SBDS* (*Shwachman-Bodian-Diamond syndrome*). De maneira semelhante aos genes *RPS* na anemia de Blackfan Diamond, o gene *SBDS* também têm uma função na formação ribossômica, neste caso envolvendo a subunidade 60S. Porém, a razão para o desenvolvimento de neutropenia e insuficiência medular permanece desconhecida. Os pacientes com SSD, frequentemente, apresentam anormalidades citogenéticas, particularmente envolvendo o cromossomo 7 [monossomia 7, der(7) e i(7q)] e del(20q), porém, não se sabe o valor prognóstico destas alterações com relação ao desenvolvimento de insuficiência medular, mielodisplasia ou leucemia aguda (1, 56).

A malabsorção é tratada com a administração de enzimas pancreáticas com a adição de vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K). Todo paciente com SSD deve ser acompanhado por um hematologista, sendo recomendado monitorar as citopenias com hemograma a cada 3-4 meses. Avaliação medular com mielograma ou biópsia de medula óssea, incluindo exame de citogenética, é importante para avaliar celularidade, SMD ou leucemia aguda e deve ser realizada anualmente ou sempre que clinicamente indicado. Para os pacientes neutropênicos que apresentam infecções graves ou recorrentes pode ser utilizado o G-CSF. Dados sobre aumento da transformação em SMD ou LMA após o uso

de G-CSF permanecem incertos. Medidas periódicas de densidade óssea determinarão as reposições de cálcio e vitamina D (53).

As principais causas de morte destes pacientes durante a infância estão relacionadas a malabsorção, infecções e distrofia torácica. Com o avançar da idade, as principais causas de morte se relacionam com anemia aplástica, mielodisplasia e leucemia aguda. O tratamento destes pacientes envolve medidas de suporte com transfusões, uso de G-CSF e de enzimas pancreáticas.

O único tratamento curativo para as alterações medulares é o TCTH. Devido à raridade da doença, há poucos dados na literatura sobre TCTH em pacientes com SSD. Dados de registro do grupo europeu (EBMT) mostrou sobrevida global em 1,1 anos de 65% em pacientes submetidos a TCTH. Significativa toxicidade cardíaca com os regimes de condicionamento a base de ciclofosfamida foi relatada, sendo que melhores resultados foram obtidos com condicionamento de intensidade reduzida. As indicações para TCTH nos pacientes com SSD são: citopenia sintomática ou grave persistente, síndrome mielodisplásica com excesso de blastos (5-20%) e leucemia aguda de alto risco (53, 57).

2.2 Transplante de sangue de cordão umbilical

O primeiro TCU foi realizado em 1988, pela equipe da Dra Eliane Gluckman, em Paris, num paciente com diagnóstico de anemia de Fanconi, cujo doador era o irmão HLA compatível (58). Atualmente o cordão umbilical é considerado uma fonte alternativa de células tronco hematopoéticas para pacientes que não têm doador de medula óssea HLA compatível (59).

As principais vantagens do cordão umbilical como fonte de células tronco hematopoéticas são: a menor restrição com relação a compatibilidade HLA,

podendo ser realizado o TCU com até 2 incompatibilidades (HLA 4/6); menor incidência e gravidade da DECH aguda e crônica; disponibilidade para uso imediato e menor risco de transmitir infecções por vírus latente, como EBV e CMV (11, 60).

Porém, apesar das vantagens citadas, o cordão umbilical é uma fonte de célula de utilização única, o que gera um problema em caso de recaída da doença hematológica e têm um menor número de células tronco hematopoéticas quando comparado com outras fontes de células, o que gera maior risco de rejeição e aumento do risco de morte precoce pós- transplante além de atraso na recuperação dos sistemas imune e hematopoético (60).

Para melhorar a enxertia no TCU, várias medidas têm sido estudadas, como o uso de duplo cordão (61), injeção intra-óssea de cordão umbilical (62), amplificação *in vitro* das células de cordão umbilical (63) e co-infusão de enxerto haploidêntico com depleção de células T ou co-infusão de células mesenquimais (64, 65).

Os dois principais fatores que influenciam no resultado do TCU são: número de células infundidas e compatibilidade HLA. A tipagem HLA é realizada através da tipagem antigênica de HLA-A e -B e alélica HLA DRB1, sendo preferível a incompatibilidade em –A ou –B do que em DRB1. Com relação ao número de células e tipagem HLA para doenças malignas e não malignas as recomendações do Eurocord estão especificadas na tabela 8 (60).

Tabela 8 – Recomendações do Eurocord para TCU com relação ao diagnóstico (doenças malignas e não malignas), tipagem HLA e número de células infundidas.

HLA*	Células nucleadas totais infundidas		Células CD34+ infundidas	
	Doenças malignas	Doenças não malignas	Doenças malignas	Doenças não malignas
6/6 e 5/6	2-2,5 x10 ⁷ /kg	2-2,5 x10 ⁷ /kg	1,2-1,7 x10 ⁵ /kg	1,2-1,7 x10 ⁵ /kg
4/6	3 x10 ⁷ /kg	3,5 x10 ⁷ /kg	1,7 x10 ⁵ /kg	2-2,5 x10 ⁵ /kg
3/6	Maior número de células	Não recomendado	Maior número de células	Não recomendado

*Tipagem HLA –A e –B antigênica e –DRB1 alélica

3 Objetivos

O objetivo deste trabalho é analisar os resultados do transplante com células de cordão umbilical em pacientes com SIMH, excluindo a anemia de Fanconi.

O objetivo principal é:

- avaliar a sobrevida global.

Os objetivos secundários são:

- analisar a recuperação de neutrófilos e plaquetas,
- avaliar falha de enxertia,
- verificar incidência de DECH aguda e crônica.

4 Casuística e métodos

Os pacientes com diagnóstico de SIMH, excluindo os pacientes com anemia de Fanconi, que receberam TCU registrados no Eurocord, foram incluídos no estudo.

O estudo é retrospectivo baseado em dados relatados ao registro Eurocord através de questionário contendo características do paciente, da doença, da unidade de cordão umbilical, do enxerto e resultados do transplante (anexo 1). O Eurocord registra dados de transplante de sangue de cordão umbilical realizados na Europa e em países não europeus desde 1989 e, desde esta data, mais de 7.000 transplantes foram registrados. A partir destes dados, os centros que realizaram TCU para pacientes com diagnóstico de SIMH foram identificados e foi solicitada permissão para utilizar os dados de maneira retrospectiva. Trinta e dois centros deram o consentimento para participação no estudo. O termo de consentimento está no anexo 2. A lista dos centros transplantadores participantes e o número de pacientes incluídos por cada centro está no anexo 3. Todos os dados foram conferidos e foi solicitada complementação dos dados faltantes para os centros transplantadores. Posteriormente, estes dados foram complementados no banco de dados do Eurocord e analisados.

A sobrevida global foi definida como o intervalo de tempo entre a data do transplante e a data do óbito por qualquer causa ou a data do último follow up para os pacientes que estão vivos.

A recuperação de neutrófilos foi definida como primeiro de três dias consecutivos com contagem de neutrófilos maior que $500/\text{mm}^3$ e recuperação de plaquetas foi definida como o primeiro de sete dias consecutivos com contagem de plaquetas maior que $20.000/\text{mm}^3$ sem suporte transfusional. A recuperação hematopoética foi considerada utilizando a recuperação de neutrófilos como referência. Falha de enxertia foi definida como ausência de recuperação hematopoética 60 dias pós-transplante, segundo transplante ou reconstituição autóloga. DECH aguda foi definida e graduada de acordo com critérios internacionais (66). DECH crônica foi avaliada considerando apenas pacientes que

sobreviveram mais do que 100 dias depois do transplante com sustentada enxertia do doador, utilizando critérios previamente publicados (67, 68), não foram utilizados neste estudo os critérios do National Institutes of Health (69, 70).

O regime de condicionamento foi dividido em mieloablativo (MAC) e condicionamento de intensidade reduzida (RIC). O regime de condicionamento foi considerado MAC quando o paciente recebeu dose de bussulfano $\geq 8\text{mg/kg}$ ou TBI numa dose cumulativa total $>6\text{ Gy}$; todos os outros regimes foram considerados como RIC (71).

O quimerismo foi avaliado nos primeiros 3 meses conforme relatado pelos centros transplantadores. Quimerismo completo foi definido como a presença de mais do que 95% de células do doador; quimerismo misto foi definido na presença de menos do que 95% e mais do que 5% de células do doador; enquanto que recuperação autóloga foi definida como a presença de menos do que 5% de células do doador. O método utilizado para a determinação do quimerismo variou de acordo com os centros transplantadores e incluiu PCR/STR, tipagem HLA, citogenética e FISH.

A data de referência para a análise foi março de 2010, sendo esta a data de atualização do último follow up na base de dados. Incidência cumulativa, tendo morte como evento competitivo, foi utilizada para estimar a recuperação de neutrófilos e plaquetas e a ocorrência de DECH aguda e crônica. O método de Kaplan-Meyer foi utilizado para estimar a sobrevida global. A mediana foi utilizada como cut-off para as variáveis contínuas.

O modelo de regressão Cox foi utilizado para realizar a análise univariada com o objetivo de avaliar fatores prognósticos na recuperação de neutrófilos e sobrevida global no grupo de pacientes submetidos a TCU não aparentado. As seguintes variáveis foram avaliadas: idade ($<5\text{anos}$ versus $\geq 5\text{anos}$), compatibilidade HLA (6/6 e 5/6 versus 4/6 e 3/6), compatibilidade ABO (compatível versus incompatibilidade maior e menor), número de transfusões prévias (<20 versus ≥ 20 concentrados de hemácias e/ou plaquetas), tempo entre diagnóstico e

transplante (<29,5 versus $\geq 29,5$ meses), número de células nucleadas totais infundidas (<6,1x10⁷/kg versus $\geq 6,1 \times 10^7$ /kg). Método *stepwise backward (Wald)* foi utilizado para construir um grupo de fatores independentes em cada resultado. Todos os preditores que obtiveram $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Análise multivariada não foi realizada devido ao limitado número de pacientes.

As análises estatísticas foram realizadas com os programas SPSS 15.0 (SPSS Inc. Chicago, IL) e R versão 2.9.0 (R Development Core Team (2009), Viena, Áustria).

Na tabela 9 estão representadas as características dos pacientes e doenças analisadas e na tabela 10 os dados referentes ao enxerto e ao transplante .

Tabela 9 – Características dos pacientes e das doenças analisadas

Variáveis	Aparentado n=20	Não Aparentado n=44
Idade (anos) – (total=20/44), mediana (range)	5,7 (2-12)	5 (0,3-26)
Sexo – masculino (total=20/44), n(%)	12 (60)	28 (64)
Peso (kg) – (total=20/36)*	19 (9-30)	14 (5-60)
CMV positivo (paciente) – (total=20/44), n(%)	10 (52)	28 (64)
Doenças, n (%)		
Anemia de Blackfan Diamond	13 (65)	08 (18)
Trombocitemia amegacariocítica	03 (15)	13 (30)
Disqueratose congênita	02 (10)	06 (14)
Neutropenia congênita grave	01 (5)	15 (34)
Síndrome de Shwachman Diamond	01 (5)	01 (2)
SIMH inclassificável	0	01 (2)
Transfusões (CH e/ou plaquetas), n(%)*		
0-20 unidades	08 (48)	22 (51)
>20 unidades	09 (52)	21 (49)
Tratamento prévio, n(%)*		
Nenhum tratamento	04 (22)	03 (7)
A base de prednisona	12 (67)	17 (41)
Outros (G-CSF/CsA/ATG/Andrógeno/Ig)	02 (11)	22 (52)

CMV – citomegalovírus; CH – concentrado de hemácias; G-CSF – fator estimulador de colônia de granulócitos; CsA – ciclosporina; ATG – globulina anti-timocítica, Ig – Imunoglobulina; *alguns dados faltantes nestas variáveis.

Tabela 10- Características do enxerto e do transplante

Variáveis	Aparentado n=20	Não aparentado n=44
ABO doador/paciente, n(%)*		
ABO compatível	10 (56)	21 (49)
Incompatibilidade maior	04 (22)	12 (28)
Incompatibilidade menor	04 (22)	10 (23)
Compatibilidade HLA¹ – cordão único (total=20/40*), n(%)		
6/6	19 (95)	04 (10)
5/6	0	23 (58)
4/6	0	12 (30)
3/6	01 (5)	1 (3)
Compatibilidade HLA¹ – duplo cordão (total=3), n		
02 unidades 6/6	0	1
01 unidade 5/6 e 01 unidade 4/6	0	1
02 unidades 4/6	0	1
Tempo: diagnóstico – transplante (meses)		
Mediana (range)	64 (5-149)	29,5 (1,75- 239)
Regime de condicionamento, n (%)		
RIC	04 (20)	14 (32)
MAC	16 (80)	30 (68)
Profilaxia de DECH, n (%)*		
CsA	09 (47)	6 (14)
CsA + MTX/Esteróide/MMF	10 (53)	34 (77)
Outros	0	4 (9)
Células infundidas, mediana (range)²		
CNT (x10 ⁷ /kg); (total=19/42)*	5,0 (0,8-10)	6,1 (0,32-18) ²
CD34 (x10 ⁵ /kg); (total=15/28)*	1,7 (0,35-10)	3,0 (0,06-9,4) ²

RIC – condicionamento de intensidade reduzida; MAC- regime de condicionamento mieloablativo; DECH – doença do enxerto contra hospedeiro; CsA - ciclosporina; MTX – metotrexate; MMF – micofenolato mofetil; CNT – células nucleadas totais; ¹ HLA – nível antigênico HLA-A e -B e alélico HLA-DRB1; ² O número de células incluiu o duplo enxerto.*alguns dados faltantes nestas variáveis.

5 Resultados

De 1994 a 2008, 64 pacientes com SIMH provenientes de 32 centros transplantadores foram inseridos na base de dados Eurocord. Os pacientes foram separados em dois grupos: 20 pacientes que receberam TCU aparentado e 44 pacientes que receberam TCU não aparentado. Eles foram analisados separadamente sem nenhuma intenção de comparação entre os grupos, pois os dois grupos não são comparáveis em termos de características dos pacientes e de resultados dos dois tipos de transplante.

5.1 Resultados do grupo aparentado

5.1.1 Características dos pacientes, das doenças e do transplante (Tabelas 9 e 10)

A mediana de idade foi 5,7 anos (variando entre 2-12 anos), com 60% dos pacientes do sexo masculino, mediana de peso de 19kg (variando entre 9-30kg) e 52% dos paciente apresentando CMV positivo.

Com relação ao diagnóstico, 13 pacientes apresentavam ABD, 3 TAC, 2 DC, 1 NCG e 1 SSD. Cinquenta e dois por cento dos pacientes receberam ≥ 20 transfusões de concentrado de hemácias e/ou plaquetas e 67% receberam tratamento a base de prednisona previamente ao transplante; 56% apresentavam compatibilidade ABO doador/receptor.

Com relação à compatibilidade HLA, 95% dos paciente receberam transplante com compatibilidade HLA 6/6. A mediana de tempo entre o diagnóstico e transplante foi de 64 meses (variando entre 5 e 149 meses) e a profilaxia para DECH foi realizada apenas com ciclosporina ou em associação com outros medicamentos (metotrexate, micofenolato mofetil e/ou corticóide). A mediana de

células nucleadas totais infundidas foi $5 \times 10^7/\text{Kg}$ ($0,8-10 \times 10^7/\text{kg}$) e a mediana de células CD34 infundidas foi $1,7 \times 10^5/\text{kg}$ ($0,35-10 \times 10^5/\text{kg}$).

O regime de condicionamento variou de acordo com o centro transplantador e a doença: 16 (80%) pacientes receberam MAC baseado em bussulfano ($n=16$, com dose variando entre 14 e 20 mg/kg) associado a ciclofosfamida ($n=14$) e/ou fludarabina ($n=4$) e/ou tiotepa ($n=5$). Globulina anti-timocítica (ATG) foi associada a MAC em 7 pacientes. O condicionamento de intensidade reduzida foi administrado a 4 pacientes: em 2 casos incluiu ciclofosfamida (dose total menor que 200mg/kg) associada a ATG, 1 caso incluiu ciclofosfamida, anticorpo monoclonal e ATG e o outro paciente recebeu fludarabina, ciclofosfamida e ATG.

5.1.2 Enxertia

Dezenove de 20 pacientes apresentaram enxertia. Um paciente morreu no dia +43 sem ter atingido recuperação de neutrófilos. A incidência cumulativa da recuperação de neutrófilos em 60 dias foi de 95% com mediana de tempo de 25 dias (variando entre 8 e 43 dias). A incidência cumulativa da recuperação de plaquetas foi 85% no dia 180 com mediana de tempo de 38 dias (variando entre 13 e 97 dias). Estes dados estão demonstrados na tabela 11.

Quatorze pacientes tinham resultado de quimerismo, sendo que em 12 pacientes o quimerismo era completo e 2 pacientes apresentavam quimerismo misto. Um paciente com diagnóstico de TAC apresentou quimerismo misto na primeira análise seguido de falha de enxertia secundária, recebeu um segundo transplante de medula óssea do mesmo doador 208 dias após o TCU e está vivo após 25 meses do segundo transplante. O outro paciente, com diagnóstico de ABD, está vivo 65 meses após o TCU com reconstituição autóloga e recuperação hematológica. Com relação ao condicionamento, o paciente com diagnóstico de

TAC recebeu MAC e o paciente com diagnóstico de ABD recebeu RIC. O paciente com falha de enxertia primária recebeu MAC.

5.1.3 DECH

DECH aguda foi observada em apenas 2 pacientes. Um apresentou grau III e o outro apresentou grau IV. A incidência cumulativa de DECH crônica em dois anos foi de 11%, sendo que os dois pacientes apresentaram DECH crônica extensa. Tabela 11, figura 1 e 2.

5.1.4 Sobrevida Global

A sobrevida global estimada em 3 anos foi de 95% (IC95%: 85-100%), tabela 12, figura 3. A mediana de *follow up* foi 62 meses (variando entre 12 e 186 meses). Dois pacientes morreram. Um paciente com diagnóstico de DC morreu de rejeição e infecção e o outro paciente com diagnóstico de TAC morreu 10 anos após o transplante, de fibrose pulmonar. Os dois pacientes que morreram receberam MAC, porém o pequeno número de pacientes não permite estabelecer correlação entre o regime de condicionamento e a sobrevida.

5.2 Resultados do grupo não aparentado

5.2.1 Características dos pacientes, das doenças e do transplante (Tabelas 9 e 10)

A mediana de idade foi 5 anos (variando entre 0,3-26 anos), com 64% dos pacientes do sexo masculino, mediana de peso de 14kg (variando entre 5-60kg) e 64% dos paciente apresentando CMV positivo.

Com relação ao diagnóstico, 15 pacientes apresentavam NCG, 13 TAC, 8 ABD, 6 DC, 1 SSD e 1 SIMH inclassificável. Quarenta e nove por cento dos pacientes receberam número maior ou igual a 20 transfusões de concentrado de hemácias e/ou plaquetas e 41% receberam tratamento a base de prednisona previamente ao transplante; 49% apresentavam compatibilidade ABO doador/receptor.

Com relação a compatibilidade HLA, quando se avalia TCU com único cordão e com duplo cordão, 86% dos pacientes receberam transplante com 1 ou 2 incompatibilidades. Três pacientes receberam duplo cordão. A mediana de tempo entre o diagnóstico e o transplante foi de 29,5 meses (variando entre 1,75 e 239 meses) e a profilaxia para DECH foi realizada apenas com ciclosporina ou em associação com outros medicamentos (metotrexate, micofenolato mofetil e/ou corticóide) em 91% dos pacientes. A mediana de células nucleadas totais infundidas foi $6,1 \times 10^7/\text{kg}$ ($0,32\text{-}18 \times 10^7/\text{kg}$) e a mediana de células CD34 infundidas foi $3,0 \times 10^5/\text{kg}$ ($0,06\text{-}9,4 \times 10^5/\text{kg}$).

Dois pacientes com DC e TAC receberam TCU não aparentado como resgate por falha de enxertia após um transplante de medula óssea não aparentado. O paciente com DC morreu 32 dias após o TCU de infecção fúngica sem ter apresentado recuperação de neutrófilos. O paciente com TAC apresentou enxertia e, está vivo 89 meses após o TCU. Os tratamentos pré-transplante estão listados na tabela 10. Todos os pacientes com NCG receberam G-CSF como tratamento prévio ao TCU.

Os regimes de condicionamento variaram de acordo com o centro transplantador e com a doença de base. Trinta pacientes receberam MAC baseado em TBI > 6Gy (n=2) ou bussulfano com dose variando entre 8 e 20mg/kg (n=28) associado a ciclofosfamida (n=23) ou fludarabina (n=4) ou melfalano (n=1).

ATG foi associado a MAC em 23 pacientes. RIC foi administrado a 14 pacientes: em 6 casos incluiu ciclofosfamida (dose total < 200mg/kg) com ATG (n=2) ou associado a bussulfano com dose total < 6mg/kg (n=2) ou fludarabina (n=2); nos 8 casos restantes foi baseado em fludarabina com melfalano e ATG (n=5) ou fludarabina associado a ATG (n=2) ou a anticorpo monoclonal (Alemtuzumabe) (n=1). MAC foi dado a 5 pacientes com ABD, 5 com DC, 6 TAC, 13 NCG, 1 SSD enquanto que RIC foi administrado a 3 pacientes com ABD, 1 DC, 7 TAC, 2 NCG e 1 com SIMH inclassificável.

5.2.2 Enxertia

A incidência cumulativa da recuperação de neutrófilo em 60 dias foi 55% com mediana de tempo de 24 dias (variando entre 7 e 67 dias). A incidência cumulativa para recuperação de plaquetas em 180 dias foi 50% com mediana de tempo de 51 dias (variando entre 11 e 152 dias). Estes dados estão demonstrados na tabela 11.

Trinta e um pacientes apresentavam resultado de quimerismo, sendo que 20 pacientes apresentavam quimerismo completo, 4 pacientes quimerismo misto e 7 recuperação autóloga. Em 3 pacientes o quimerismo misto foi transitório evoluindo posteriormente para quimerismo completo; 1 paciente com quimerismo misto (NCG) teve falha de enxertia secundária 1 mês pós transplante e recebeu duplo TCU estando vivo 39 meses pós transplante. Três pacientes (1 NCG, 1 TAC e 1 ABD) com reconstituição autóloga morreram, dois devido à infecção e insuficiência medular (TAC e ABD) e um devido à infecção viral (NCG). Um paciente (TAC) com reconstituição autóloga recebeu um TCTH haploidêntico e está vivo 44 meses pós transplante. Dois pacientes estão vivos depois de 4 meses (NCG) e 84 meses (TAC) após o TCU sem informação sobre o quimerismo e 1

ABD está vivo 30 meses pós TCU e tem 70% do doador no quimerismo de reavaliação de 1 ano.

Falha de enxertia primária ocorreu em 17 pacientes (39%), 12 deles morreram. Entre os 5 pacientes que sobreviveram, 4 tiveram recuperação autóloga e 1 está vivo 122 meses após um segundo transplante. Além disso, um paciente morreu 1 dia pós TCU e o outro paciente apresentou recuperação de neutrófilos com 67 dias pós TCU. Destes dezenove pacientes, 10 receberam MAC e 9 receberam RIC; entre os 7 pacientes com reconstituição autóloga, 3 receberam MAC e 4 RIC. O número de pacientes é muito pequeno para que seja feita uma correlação entre enxertia, compatibilidade HLA, número de células infundidas e regime de condicionamento.

5.2.3 DECH

A incidência cumulativa em 100 dias de DECH aguda grau II a IV foi 24%. A incidência cumulativa em 2 anos de DECH crônica foi 53%; Treze de 25 pacientes avaliáveis apresentaram DECH crônica e foi de grau extenso em 8 pacientes. Tabela 11, figuras 1 e 2.

5.2.4 Sobrevida Global

A sobrevida global em 3 anos foi 61% (IC95%: 47-75%), com mediana de *follow up* de 45 meses (variando de 4 a 147 meses). Tabela 12, figura 3.

As causas de morte estão descritas na tabela 12. Dezenove pacientes morreram, 13 receberam MAC e 6 receberam RIC. Devido ao grupo heterogêneo de doenças, às alterações das práticas do transplante ao longo do tempo e ao

pequeno número de pacientes não foi possível estabelecer uma correlação entre os resultados e o regime de condicionamento adotado.

Dois pacientes apresentaram leucemia aguda antes do transplante. Um paciente tinha o diagnóstico de NCG e realizou o TCU em remissão completa; 83 meses após o transplante o paciente está vivo, em remissão e com DECH crônica limitada. O outro paciente tinha diagnóstico de ABD e realizou o transplante com doença refratária; morreu com falha de enxertia. Dois pacientes apresentavam diagnóstico de SMD antes do transplante. Um paciente com o diagnóstico de NCG no momento do transplante apresentava anemia refratária com excesso de blastos, ele evoluiu com DECH crônica limitada e morreu 1 ano pós transplante, com infecção fúngica. O outro paciente também com NCG apresentava leucemia mielomonocítica juvenil e morreu com falha de enxertia 2 meses pós-transplante.

Na análise univariada, as seguintes variáveis foram associadas com melhora da sobrevida global: idade <5 anos (RR: 0,29, variando de 0,1-0,8, $p=0,018$) e número de células nucleadas totais infundidas $\geq 6,1 \times 10^7/\text{Kg}$ (RR: 0,31, variando de 0,11-0,86, $p=0,03$). A sobrevida global em 3 anos foi 37% (IC95%: 17-57%) em pacientes que receberam $< 6,1 \times 10^7/\text{kg}$ e 81% (IC95%: 63-99%) para aqueles que receberam $\geq 6,1 \times 10^7/\text{kg}$ ($p=0,01$). Tabela 13, Figura 4.

Tabela 11 – Cinética do transplante, DECH aguda e crônica.

Variáveis	Aparentado n=20	Não Aparentado n=44
Recuperação de neutrófilos – n(%)	19 (95)	25 (57)
Tempo, dias, mediana (range)	25 (8-43)	24 (7-67)
IC no dia 60, %	95	55
Recuperação de plaquetas – n(%)	18 (90)	23 (52)
Tempo – dias, mediana (range)	38 (13-97)	51 (11-152)
IC no dia 180, %	85	50
Quimerismo antes do dia 100 - n(%)		
Completo	12 (86)	20 (65)
Misto	2 (14)	4 (13)
Reconstituição autóloga	-	7 (22)
DECH aguda - n(%)		
0-I	18 (90)	29 (66)
II	0	8 (18)
III	1 (5)	2 (5)
IV	1 (5)	5 (11)
IC de DECH aguda no dia 100 ¹ , %	5	24
DECH crônica, total=19/25, n	2	13
Limitada	-	5
Extensa	2	8
IC de DECH crônica em 2 anos	11	53

DECH – doença do enxerto contra hospedeiro; IC – incidência cumulativa; ¹DECH aguda grau II –IV;

Tabela 12– *Follow up*, Sobrevida Global e causas de morte por diagnóstico.

Variáveis	Aparentado n=20	Não Aparentado n=44
<i>Follow up</i> – meses, mediana (range)	62 (12-186)	45 (4-147)
Sobrevida Global em 3 anos, %	95 (IC95%#: 85-100)	61 (IC95%#: 47-75)
Causas de morte por diagnóstico		
Rejeição	1DC	3ABD, 1NCG, 2TAC, 1 DC
DECH	-	1DC
Toxicidade ¹	-	2 ABD
Hemorragia	-	2DC, 1TAC
Infecções	-	3NCG, 1DC, 1TAC
Fibrose Pulmonar	1TAC	-
Desconhecida	-	1DC

ABD – anemia de Blackfan Diamond; TAC – Trombocitopenia amegacariocítica congênita; DC – Disqueratose congênita; NCG – Neutropenia congênita grave; SSD – Síndrome de Shwachman Diamond; # IC: Intervalo de confiança; ¹Doença veno-oclusiva e síndrome de angústia respiratória aguda.

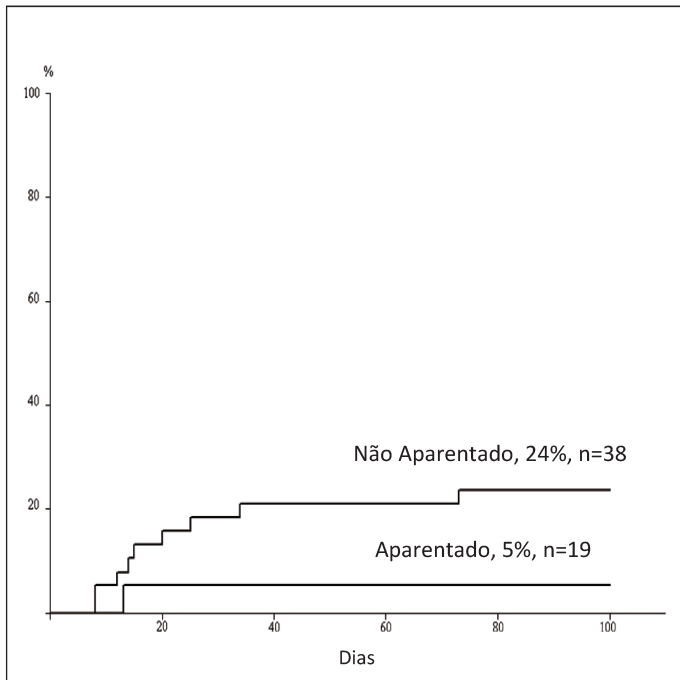


Figura 1 -Incidência cumulativa de DECH aguda em 100 dias no grupo aparentado (5%, n=19) e não aparentado (24%, n=38).

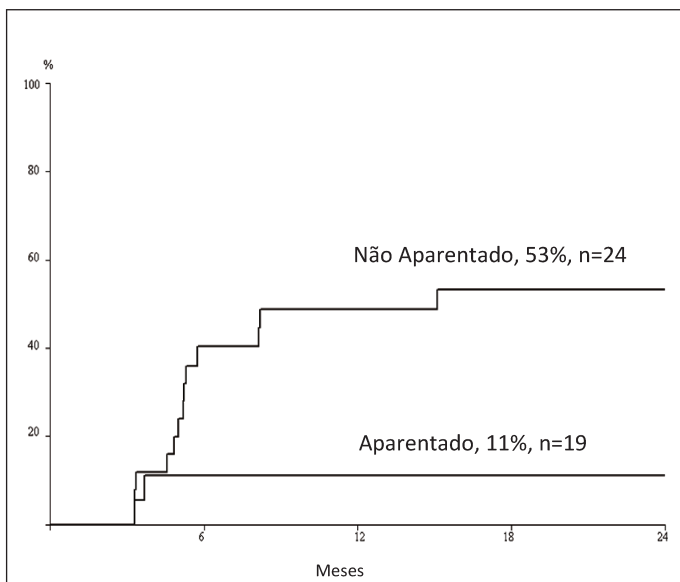


Figura 2 - Incidência Cumulativa de DECH crônica em 2 anos no grupo aparentado (11%, n=19) e não aparentado (53%, n=24).

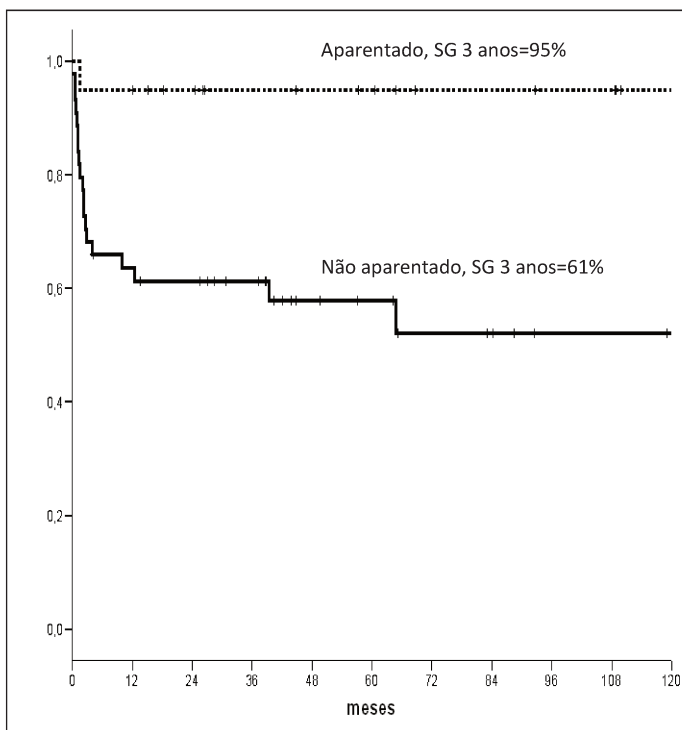


Figura 3 - Sobrevida Global (SG) nos grupos aparentado e não aparentado. A SG em 3 anos no grupo aparentado foi 95% (IC: 85-100%) e no grupo não aparentado foi 61% (IC: 47-75%).

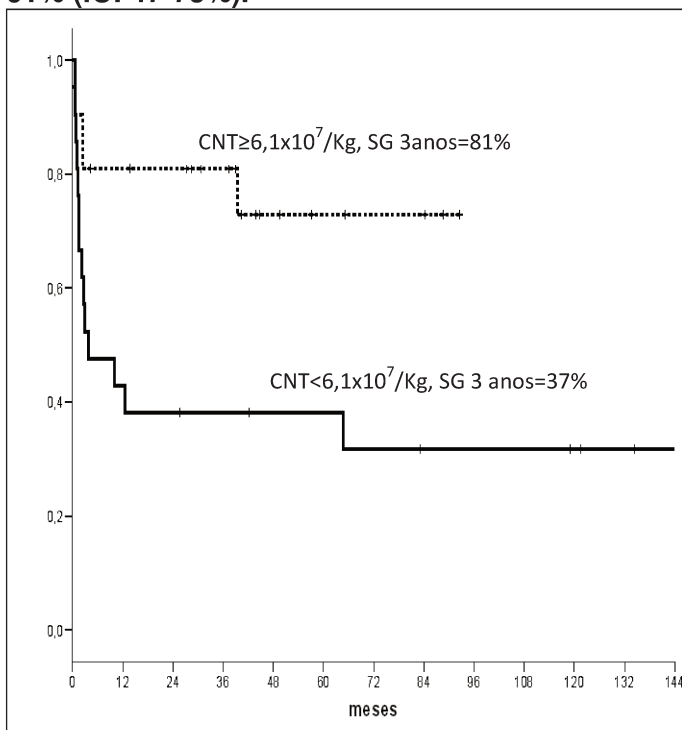


Figura 4- Sobrevida Global (SG) em pacientes submetidos a TCU não aparentado de acordo com o número de células nucleadas totais (CNT) infundidas. A SG em 3 anos foi 37% (IC95%: 17-57%) para pacientes que receberam CNT < 6,1x10⁷/Kg e 81% (IC95%: 63-99%) para CNT ≥ 6,1 x10⁷/Kg. *P*=0,01.

Tabela 13 – Análise univariada (Modelo de regressão COX) – Grupo Não Aparentado (n=44)

Variáveis	Recuperação de neutrófilos	Sobrevida Global
Idade < 5 anos (n=44)		
RR (IC95%)	1,54 (0,70-3,40)	0,29 (0,10 – 0,80)
P	0,28	0,01
HLA (6/6 or 5/6) – (n=43)		
RR (IC95%)	0,87 (0,38-1,98)	0,51 (0,21-1,27)
P	0,73	0,14
Compatibilidade ABO (n=43)		
RR (IC95%)	0,92 (0,42-2)	0,90 (0,35 – 2,29)
P	0,83	0,83
CMV positivo (paciente) – (n=43)		
RR (IC95%)	0,84 (0,38-1,88)	1,24 (0,48-3,17)
P	0,68	0,65
Transfusão <20* (n=43)		
RR (IC95%)	1,24 (0,55-2,78)	0,52 (0,20-1,31)
P	0,60	0,17
Tempo: diagnóstico – transplante (< 29,5 meses) - (n=43)		
RR (IC95%)	1,77 (0,78-3,97)	0,59 (0,23-1,51)
P	0,17	0,27
Número de células nucleadas totais infundidas $\geq 6,1 \times 10^7/\text{kg}$ (n=42)		
RR (IC95%)	1,65 (0,84-4,3)	0,31 (0,11-0,86)
P	0,12	0,03
Número de células CD34 infundidas $\geq 3,0 \times 10^5/\text{kg}$ (n=28)		
RR (IC95%)	1,73 (0,68-4,4)	0,96 (0,28-3,45)
P	0,25	0,95

* concentrado de hemácias e/ou plaquetas pre transplante

5.3 Resultados TCU aparentado e não aparentado pelo tipo de doença

Vinte e um pacientes apresentavam diagnóstico de ABD: 13 receberam TCU aparentado e 8 não aparentado. No grupo aparentado, todos os pacientes com ABD estão vivos com uma mediana de *follow up* de 65 meses (variando de 12 a 186 meses). No grupo não aparentado, 3 pacientes estão vivos com uma mediana de *follow up* de 31 meses (variando de 26 a 57 meses).

No grupo com DC, 7 dos 8 pacientes morreram. No grupo aparentado havia 2 pacientes, um morreu 1 mês após o transplante devido a uma infecção fúngica e o outro está vivo 126 meses após o transplante com enxerto HLA totalmente compatível e do irmão. No grupo não aparentado, 3 pacientes receberam condicionamento com ciclofosfamida (120mg/kg), bussulfano (16mg/kg) e ATG e morreram com 4, 3 e 39 meses pós-transplante de DECH, causa desconhecida e hemorragia proveniente de angiodisplasia intestinal, respectivamente. Dois pacientes receberam Fludarabina (100-125 mg/m²), bussulfano (8mg/kg) e ATG; estes pacientes morreram de rejeição e hemorragia 2 meses após o transplante. Um paciente recebeu Fludarabina (150mg/m²), ciclofosfamida e ATG e morreu 1 mês após o transplante de infecção fúngica.

Havia 16 pacientes com diagnóstico de NCG, 1 no grupo aparentado e 15 no grupo não aparentado. Três pacientes foram transplantados por leucemia ou síndrome mielodisplásica (2 morreram), os outros 13 receberam o transplante por não resposta ao G-CSF (2 morreram). O paciente do grupo aparentado está vivo 142 meses pós transplante. Onze dos 15 pacientes no grupo não aparentado estão vivos com mediana de *follow up* de 40 meses (variando de 4 a 134 meses).

No grupo TAC havia 16 pacientes (3 no grupo aparentado e 13 no grupo não aparentado). No grupo aparentado 2 pacientes estão vivos com 18 e 25 meses pós-transplante e 1 morreu 124 meses após o transplante. No grupo não aparentado, 4 pacientes morreram nos primeiros 2 meses pós-transplante e os

outros estão vivos com uma mediana de follow up de 65 meses (variando de 25 a 121 meses).

Os dados sobre o TCU nos grupos de doença estão descritos nas tabelas 14 -18.

Tabela 14 – Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Anemia de Blackfan Diamond.

Paciente	Condicionamento	HLA	Tipo de Doador	Numero de Células		DECH		Morte	Tempo Follow up (meses)
				CNT [#]	CD34 [#]	aguda	crônica		
1	MAC	6/6	Aparentado	*	*	Não	Não	Não	69
2	MAC	6/6	Aparentado	6,7	1,3	Não	Não	Não	187
3	MAC	6/6	Aparentado	4,7	2,0	Não	Não	Não	109
4	MAC	6/6	Aparentado	7,0	3,0	Não	Não	Não	109
5	RIC	6/6	Aparentado	0,9	4,0	Não	Não	Não	57
6	MAC	6/6	Aparentado	10,0	*	Não	Não	Não	26
7	MAC	6/6	Aparentado	5,3	0,35	Não	Não	Não	93
8	MAC	6/6	Aparentado	0,8	1,3	Não	Não	Não	12
9	MAC	6/6	Aparentado	1,4	4,5	Sim	Não	Não	15
10	MAC	6/6	Aparentado	5,1	*	Não	Sim	Não	110
11	MAC	6/6	Aparentado	2,7	1,0	Sim	Sim	Não	61
12	RIC	6/6	Aparentado	5,0	3,4	Não	Não	Não	45
13	MAC	6/6	Aparentado	2,1	0,95	Não	Não	Não	65
14	MAC	5/6	Não aparentado	2	0,11	Não	-	Sim	0,66
15	MAC	4/6	Não aparentado	4	*	Sim	-	Sim	1
16	MAC	5/6	Não aparentado	5,7	*	Não	-	Sim	1
17	MAC	3/6	Não aparentado	6,5	*	Sim	Sim	Não	57
18	RIC	4/6	Não aparentado	3,6	*	Sim	Sim	Sim	10
19	RIC	*	Não aparentado	6,9	9,4	Sim	Sim	Não	28
20	MAC	6/6	Não aparentado	3,0	*	Não	Não	Sim	65
21	RIC	5/6	Não aparentado	5,7	3,0	Não	Sim	Não	30

*Dados não disponíveis; [#] CNT x10⁷/Kg e CD34 x10⁵/Kg; MAC- condicionamento mieloablativo; RIC- condicionamento de intensidade reduzida; CNT – células nucleadas totais; DECH – doença do enxerto contra hospedeiro.

Tabela 15 – Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Disqueratose Congênita.

Paciente	Condicionamento	HLA	Tipo de Doador	Numero de Células		DECH		Morte	Tempo Follow up (meses)
				CNT [#]	CD34 [#]	Aguda	Crônica		
1	MAC	3/6	Aparentado	8,1	*	Não	*	Sim	1,4
2	RIC	6/6	Aparentado	2,1	2,0	Não	Não	Não	126,5
3	MAC	5/6	Não Aparentado	3,9	*	Sim	Não	Sim	4
4	MAC	4/6	Não Aparentado	10,9	3,3	Não	Não	Sim	39,4
5 ⁺	MAC	5/6 4/6	Não Aparentado	10,7	3,5	Não	*	Sim	2,1
6 ⁺	RIC	6/6 6/6	Não Aparentado	1,8	0,56	Não	*	Sim	1,2
7	MAC	4/6	Não Aparentado	2,2	1,4	Sim	*	Sim	2,7
8	MAC	5/6	Não Aparentado	6,5	3,3	Não	*	Sim	2,3

*Dados não disponíveis; [#] CNT $\times 10^7/\text{Kg}$ e CD34 $\times 10^5/\text{Kg}$; ⁺ Duplo cordão; MAC- condicionamento mieloablativo; RIC- condicionamento de intensidade reduzida; CNT – células nucleadas totais; DECH – doença do enxerto contra hospedeiro.

Tabela 16 - Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Trombocitopenia Amegacariocítica Congênita.

Paciente	Condicionamento	HLA	Tipo de Doador	Numero de Células		DECH		Morte	Tempo Follow up (meses)
				CNT [#]	CD34 [#]	aguda	crônica		
1	MAC	6/6	Aparentado	6,5	1,7	Não	Não	Sim	124
2	MAC	6/6	Aparentado	8,0	1,1	Não	Não	Não	18
3	RIC	6/6	Aparentado	4,8	*	Não	Não	Não	25
4	RIC	5/6	Não Aparentado	0,9	0,06	Não	*	Não	121
5	RIC	4/6	Não Aparentado	6,9	7,8	Não	*	Sim	0,03
6	RIC	4/6	Não Aparentado	2,7	*	Não	*	Sim	1,5
7	MAC	6/6	Não Aparentado	6,1	*	Não	*	Sim	0,5
8	RIC	5/6	Não Aparentado	6,37	3,47	Não	Não	Não	50
9	MAC	5/6	Não Aparentado	9,3	*	Não	Não	Não	65
10	MAC	5/6	Não Aparentado	9,6	1,46	Sim	Sim	Não	37
11	MAC	5/6	Não Aparentado	2,8	0,17	Sim	Não	Não	26
12	MAC	5/6	Não Aparentado	18,1	*	Sim	Sim	Não	92
13	RIC	4/6	Não Aparentado	13,0	6,6	Não	Sim	Não	89
14	RIC	4/6	Não Aparentado	2,0	*	Não	*	Sim	2
15	RIC	5/6	Não Aparentado	9,5	9,1	Não	*	Não	84
16	MAC	5/6	Não Aparentado	6,1	0,66	Não	*	Não	44

*Dados não disponíveis; [#]CNT x10⁶/Kg e CD34 x10⁵/Kg; MAC- condicionamento mieloablativo; RIC- condicionamento de intensidade reduzida; CNT – células nucleadas totais; DECH – doença do enxerto contra hospedeiro.

Tabela 17 – Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Neutropenia Congênita Grave.

Paciente	Condicionamento	HLA	Tipo de Doador	Numero de Células		DECH		Morte	Tempo Follow up (meses)
				CNT [#]	CD34 [#]	aguda	crônica		
1	MAC	6/6	Aparentado	2,63	0,6	Não	Não	Não	142
2	MAC	5/6	Não aparentado	0,32	*	Sim	*	Sim	0,9
3 ⁺	RIC	4/6 4/6	Não aparentado	7,5	3,3	Não	*	Sim	0,56
4	MAC	4/6	Não aparentado	5,6	0,11	Não	Não	Não	134
5	MAC	4/6	Não aparentado	1,5	0,6	Não	Não	Sim	12,5
6	MAC	5/6	Não aparentado	2,8	1,3	Sim	Sim	Não	119
7	MAC	4/6	Não aparentado	5,2	1,7	Não	Sim	Não	83
8	MAC	4/6	Não aparentado	5,5	6	Não	Não	Não	42
9	MAC	6/6	Não aparentado	13,4	3,5	Sim	Sim	Não	14
10	MAC	5/6	Não aparentado	10,2	*	Sim	Sim	Não	39
11	MAC	5/6	Não aparentado	8,8	5,3	Não	Não	Não	45
12	MAC	5/6	Não aparentado	12,1	3	Não	Não	Não	27
13	MAC	6/6	Não aparentado	6,2	3,7	Não	Não	Não	40
14	MAC	5/6	Não aparentado	*	*	Não	Não	Não	38,5
15	MAC	5/6	Não aparentado	12,2	2,2	Não	*	Sim	2
16	MAC	5/6	Não aparentado	6,5	*	Não	*	Não	4

*Dados não disponíveis; # CNT $\times 10^7/\text{Kg}$ e CD34 $\times 10^5/\text{Kg}$; + Duplo cordão; MAC- condicionamento mieloablativo; RIC- condicionamento de intensidade reduzida; CNT – células nucleadas totais; DECH – doença do enxerto contra hospedeiro.

Tabela 18 – Condicionamento, HLA, tipo de doador, número de células, DECH aguda e crônica, sobrevida e tempo de follow up de pacientes com diagnóstico de Síndrome de Shwachman Diamond.

Paciente	Condicionamento	HLA	Tipo de Doador	Numero de Células		DECH		Morte	Tempo Follow up (meses)
				CNT [#]	CD34 [#]	Aguda	Crônica		
1	MAC	6/6	Aparentado	6,7	10	Não	Não	Não	26,6
2	MAC	5/6	Não Aparentado	5,4	0,27	Sim	Sim	Não	147

[#] CNT x10⁶/Kg e CD34 x10⁵/Kg; MAC- condicionamento mieloablativo; RIC- condicionamento de intensidade reduzida; CNT – células nucleadas totais; DECH – doença do enxerto contra hospedeiro.

6 Discussão

As SIMH, excluindo anemia de Fanconi, são doenças muito raras e isto explica o pequeno número de pacientes submetidos a TCU alogênico. Este estudo, embora seja um relato único deste grupo de pacientes, sofre de algumas limitações relacionadas ao pequeno número de pacientes, à natureza retrospectiva do estudo e ao período longo de tempo em que os transplantes foram realizados (1994-2008). Durante este período de tempo muitas mudanças foram observadas, incluindo seleção de pacientes, novos métodos de condicionamento, prevenção e tratamento de DECH e melhora do suporte clínico dos pacientes submetidos ao transplante. Mesmo diante destas limitações, este relato é importante, pois, de outra forma, não conseguiríamos analisar este grupo de pacientes.

Os dados do presente estudo mostram que TCU é uma excelente opção para pacientes com SIMH quando o doador é irmão HLA compatível. Esta observação é compatível com dados publicados previamente na literatura, em que análises comparando TCU e transplante de medula óssea mostram resultados semelhantes quando o doador é irmão HLA compatível, tanto para doenças malignas como para doenças não malignas (72).

Uma importante observação é que depois de TCU não aparentado um alto risco de falha de enxertia foi observado neste grupo de pacientes. O risco de rejeição pode ser diminuído por uma melhor seleção das unidades de cordão umbilical e modificações nos regimes de condicionamento. Já foi previamente descrito pelo grupo do Eurocord que, em doenças não malignas, é necessário aumentar o número de células nucleadas totais e de células CD34 infundidas e diminuir o número de incompatibilidades HLA (60). A recomendação atual é: a infusão de mais do que 4×10^7 /kg de células nucleadas totais e a escolha de doador com 0 a 1 incompatibilidade HLA, definido por tipagem antigênica para HLA classe I e tipagem alélica para HLA-DRB1. Nesta série de pacientes foi confirmado que o maior número de células nucleadas totais está associado com melhor sobrevida global. Com relação à compatibilidade HLA, o número de

pacientes é muito pequeno para avaliar o impacto desta variável na sobrevida global.

O transplante utilizando duplo cordão pode ser considerado se não for encontrado uma unidade de cordão umbilical com número suficiente de células. Neste estudo, 3 pacientes receberam dupla unidade de cordão umbilical e morreram sem ter sinais de enxertia, porém, maiores estudos precisam ser realizados prospectivamente para analisar o resultado do duplo cordão neste grupo de pacientes. Outras medidas também podem ser consideradas para melhorar a enxertia e podem ser utilizadas em protocolos de estudos fase I e II, incluindo expansão *ex-vivo* com queladores e citocinas ou injeções intra-ósseas de enxerto de sangue de cordão umbilical (62, 63, 73).

As modificações no regime de condicionamento também podem contribuir para melhorar os resultados. Como os regimes de condicionamento utilizando fludarabina, baixas doses de TBI e de ciclofosfamida melhoraram os resultados de TCU não aparentado nos pacientes com anemia de Fanconi (12, 74), é possível especular que um regime de condicionamento similar possa ser utilizado em pacientes com as outras SIMH. Neste estudo, esta hipótese não pode ser analisada devido à grande variedade dos regimes de condicionamento utilizados em um pequeno número de pacientes. No futuro, seria importante avaliar um consenso com a utilização de um protocolo de condicionamento comum para cada categoria de doença.

Na ABD, os resultados encontrados no presente estudo é comparável a resultados publicados em transplante utilizando outras fontes de células tronco hematopoéticas (75, 76). No grupo de pacientes analisados neste estudo, todos os 13 pacientes com ABD que receberam TCU aparentado e 3 de 8 pacientes que receberam TCU não aparentado estão vivos. O CIBMTR (Center of International Blood and Marrow Transplant Registry) publicou os resultados de 61 pacientes com diagnóstico de ABD, 41 (67%) receberam transplante de irmão HLA compatível e 20 (33%) de doador de medula óssea não aparentado, resultando

numa sobrevida global em 3 anos de 76% para os pacientes que realizaram transplante HLA idêntico do irmão e 39% para os que realizaram transplante não aparentado (75).

Os resultados de TCTH em pacientes com diagnóstico de DC são pobres devido à doença de base a qual é associada à alta incidência de complicações precoces e tardias de origem pulmonar e vascular (23, 24, 77). Nesta série de 8 pacientes, 7 morreram, resultado que é similar ao que já foi publicado em literatura em que poucos pacientes sobrevivem a longo prazo após TCTH. A indicação de TCTH para pacientes com diagnóstico de DC é controverso e ainda com métodos não bem definidos para prevenir complicações tardias devido à doença genética de base.

As indicações de TCTH em pacientes com NCG são: não resposta ao tratamento com G-CSF e/ou evolução para leucemia aguda/mielodisplasia. Os resultados deste estudo mostram resultados comparáveis aos obtidos com transplante de medula óssea, mostrando que o sangue de cordão umbilical é uma fonte possível de células para estes pacientes (42, 43).

Os resultados de pacientes com diagnóstico de TAC e SSD também mostram o sangue de cordão umbilical como uma fonte de células tronco hematopoéticas para estes pacientes, com resultados comparáveis aos encontrados em literatura para TCTH não aparentado (49, 52, 57, 78).

7 Conclusão

Com relação aos resultados do transplante de sangue de cordão umbilical para pacientes com SIMH, excluindo os paciente com anemia de Fanconi, este estudo mostra uma sobrevida global em 3 anos no grupo que recebeu TCU aparentado de 95% (IC95%: 85-100%), sendo a mediana de *follow up* foi 62 meses (variando entre 12 e 186 meses). A sobrevida global no grupo que recebeu TCU não aparentado foi 61% (IC95%: 47-75%) com mediana de *follow up* de 45 meses (variando de 4 a 147 meses). Tabela 12

A incidência cumulativa da recuperação de neutrófilo em 60 dias no grupo aparentado foi 85% com mediana de tempo de 25 dias (variando entre 8 e 43 dias). A incidência cumulativa da recuperação de plaquetas foi 85% no dia 180 com mediana de tempo de 38 dias (variando entre 13 e 97 dias). No grupo não aparentado, a incidência cumulativa da recuperação de neutrófilo no dia 60 foi 55% com mediana de tempo de 24 dias (variando entre 7 e 67 dias). A incidência cumulativa para recuperação de plaquetas em 180 dias foi 50% com mediana de tempo de 51 dias (variando entre 11 e 152 dias). Tabela 11.

No grupo aparentado, DECH aguda foi observada em apenas 2 pacientes. A incidência cumulativa de DECH crônica em 2 anos foi de 11%. No grupo não aparentado, a incidência cumulativa de DECH aguda em 100 dias foi 24%. A incidência cumulativa em 2 anos de DECH crônica foi 53%. Tabela 11.

Concluindo, os resultados deste estudo mostram que o TCU é uma boa opção de tratamento para os pacientes com SIMH, excluindo anemia de Fanconi, principalmente se um doador aparentado é utilizado. Em pacientes que necessitam de TCU não aparentado, somente unidades de cordão umbilical contendo maior número de células e com o maior grau de compatibilidade HLA deve ser considerado para melhorar os resultados do transplante.

8 Referências

1. Alter BP. Diagnosis, genetics, and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007;2007:29-39.
2. Dokal I, Vulliamy T. Inherited bone marrow failure syndromes. *Haematologica*. 2010 Aug;95(8):1236-40.
3. Shimamura A. Clinical approach to marrow failure. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009:329-37.
4. Shimamura A, Alter BP. Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev*. 2010 May;24(3):101-22.
5. Alter BP, Giri N, Savage SA, Peters JA, Loud JT, Leathwood L, et al. Malignancies and survival patterns in the National Cancer Institute inherited bone marrow failure syndromes cohort study. *Br J Haematol*. 2010 Jul;150(2):179-88.
6. Myers KC, Davies SM. Hematopoietic stem cell transplantation for bone marrow failure syndromes in children. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Mar;15(3):279-92.
7. Alter BP. Bone marrow failure syndromes in children. *Pediatr Clin North Am*. 2002 Oct;49(5):973-88.
8. Gluckman E, Wagner JE. Hematopoietic stem cell transplantation in childhood inherited bone marrow failure syndrome. *Bone Marrow Transplant*. 2008 Jan;41(2):127-32.
9. Mehta P, Locatelli F, Stary J, Smith FO. Bone marrow transplantation for inherited bone marrow failure syndromes. *Pediatr Clin North Am*. 2010 Feb;57(1):147-70.
10. Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, Bacigalupo A, Bredeson CN, Bullorsky E, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood*. 2007 Aug 15;110(4):1397-400.
11. Rocha V, Gluckman E. Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006 Jan;12(1 Suppl 1):34-41.
12. Gluckman E, Rocha V, Ionescu I, Bierings M, Harris RE, Wagner J, et al. Results of unrelated cord blood transplant in fanconi anemia patients: risk factor analysis for engraftment and survival. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007 Sep;13(9):1073-82.

13. Drachtman RA, Alter BP. Dyskeratosis congenita: clinical and genetic heterogeneity. Report of a new case and review of the literature. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1992 Nov;14(4):297-304.
14. Savage SA, Alter BP. Dyskeratosis congenita. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009 Apr;23(2):215-31.
15. Walne AJ, Dokal I. Dyskeratosis Congenita: a historical perspective. *Mech Ageing Dev*. 2008 Jan-Feb;129(1-2):48-59.
16. Dokal I, Vulliamy T. Dyskeratosis congenita: its link to telomerase and aplastic anaemia. *Blood Rev*. 2003 Dec;17(4):217-25.
17. Handley TP, McCaul JA, Ogden GR. Dyskeratosis congenita. *Oral Oncol*. 2006 Apr;42(4):331-6.
18. Alter BP, Giri N, Savage SA, Rosenberg PS. Cancer in dyskeratosis congenita. *Blood*. 2009 Jun 25;113(26):6549-57.
19. Aalfs CM, van den Berg H, Barth PG, Hennekam RC. The Hoyeraal-Hreidarsson syndrome: the fourth case of a separate entity with prenatal growth retardation, progressive pancytopenia and cerebellar hypoplasia. *Eur J Pediatr*. 1995 Apr;154(4):304-8.
20. Hoyeraal HM, Lamvik J, Moe PJ. Congenital hypoplastic thrombocytopenia and cerebral malformations in two brothers. *Acta Paediatr Scand*. 1970 Mar;59(2):185-91.
21. Hreidarsson S, Kristjansson K, Johannesson G, Johannsson JH. A syndrome of progressive pancytopenia with microcephaly, cerebellar hypoplasia and growth failure. *Acta Paediatr Scand*. 1988 Sep;77(5):773-5.
22. Sznajer Y, Baumann C, David A, Journel H, Lacombe D, Perel Y, et al. Further delineation of the congenital form of X-linked dyskeratosis congenita (Hoyeraal-Hreidarsson syndrome). *Eur J Pediatr*. 2003 Dec;162(12):863-7.
23. Rocha V, Devergie A, Socie G, Ribaud P, Esperou H, Parquet N, et al. Unusual complications after bone marrow transplantation for dyskeratosis congenita. *Br J Haematol*. 1998 Oct;103(1):243-8.
24. Gungor T, Corbacioglu S, Storb R, Seger RA. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for treatment of Dyskeratosis congenita. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Mar;31(5):407-10.

25. Giri N, Pitel PA, Green D, Alter BP. Splenic peliosis and rupture in patients with dyskeratosis congenita on androgens and granulocyte colony-stimulating factor. *Br J Haematol*. 2007 Sep;138(6):815-7.
26. Vlachos A, Ball S, Dahl N, Alter BP, Sheth S, Ramenghi U, et al. Diagnosing and treating Diamond Blackfan anaemia: results of an international clinical consensus conference. *Br J Haematol*. 2008 Sep;142(6):859-76.
27. Vlachos A, Muir E. How I treat Diamond Blackfan anemia. *Blood*. 2010 Jul 22.
28. Doherty L, Sheen MR, Vlachos A, Choesmel V, O'Donohue MF, Clinton C, et al. Ribosomal protein genes RPS10 and RPS26 are commonly mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Am J Hum Genet*. 2010 Feb 12;86(2):222-8.
29. Cmejla R, Blafkova J, Stopka T, Zavadil J, Pospisilova D, Mihal V, et al. Ribosomal protein S19 gene mutations in patients with diamond-blackfan anemia and identification of ribosomal protein S19 pseudogenes. *Blood Cells Mol Dis*. 2000 Apr;26(2):124-32.
30. Gazda HT, Sheen MR, Vlachos A, Choesmel V, O'Donohue MF, Schneider H, et al. Ribosomal protein L5 and L11 mutations are associated with cleft palate and abnormal thumbs in Diamond-Blackfan anemia patients. *Am J Hum Genet*. 2008 Dec;83(6):769-80.
31. Quarello P, Garelli E, Carando A, Brusco A, Calabrese R, Dufour C, et al. Diamond-Blackfan anemia: genotype-phenotype correlations in Italian patients with RPL5 and RPL11 mutations. *Haematologica*. 2010 Feb;95(2):206-13.
32. Lipton JM, Ellis SR. Diamond-Blackfan anemia: diagnosis, treatment, and molecular pathogenesis. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009 Apr;23(2):261-82.
33. Vlachos A, Federman N, Reyes-Haley C, Abramson J, Lipton JM. Hematopoietic stem cell transplantation for Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry. *Bone Marrow Transplant*. 2001 Feb;27(4):381-6.
34. Kostmann R. Infantile genetic agranulocytosis; agranulocytosis infantilis hereditaria. *Acta Paediatr Suppl*. 1956 Feb;45(Suppl 105):1-78.
35. Boxer LA, Newburger PE. A molecular classification of congenital neutropenia syndromes. *Pediatr Blood Cancer*. 2007 Oct 15;49(5):609-14.

36. Klein C, Grudzien M, Appaswamy G, Germeshausen M, Sandrock I, Schaffer AA, et al. HAX1 deficiency causes autosomal recessive severe congenital neutropenia (Kostmann disease). *Nat Genet.* 2007 Jan;39(1):86-92.
37. Dale DC, Bonilla MA, Davis MW, Nakanishi AM, Hammond WP, Kurtzberg J, et al. A randomized controlled phase III trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) for treatment of severe chronic neutropenia. *Blood.* 1993 May 15;81(10):2496-502.
38. Dale DC, Cottle TE, Fier CJ, Bolyard AA, Bonilla MA, Boxer LA, et al. Severe chronic neutropenia: treatment and follow-up of patients in the Severe Chronic Neutropenia International Registry. *Am J Hematol.* 2003 Feb;72(2):82-93.
39. Bonilla MA, Gillio AP, Ruggeiro M, Kernan NA, Brochstein JA, Abboud M, et al. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia in patients with congenital agranulocytosis. *N Engl J Med.* 1989 Jun 15;320(24):1574-80.
40. Donadieu J, Leblanc T, Bader Meunier B, Barkaoui M, Fenneteau O, Bertrand Y, et al. Analysis of risk factors for myelodysplasias, leukemias and death from infection among patients with congenital neutropenia. Experience of the French Severe Chronic Neutropenia Study Group. *Haematologica.* 2005 Jan;90(1):45-53.
41. Rosenberg PS, Alter BP, Bolyard AA, Bonilla MA, Boxer LA, Cham B, et al. The incidence of leukemia and mortality from sepsis in patients with severe congenital neutropenia receiving long-term G-CSF therapy. *Blood.* 2006 Jun 15;107(12):4628-35.
42. Ferry C, Ouachee M, Leblanc T, Michel G, Notz-Carrere A, Tabrizi R, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in severe congenital neutropenia: experience of the French SCN register. *Bone Marrow Transplant.* 2005 Jan;35(1):45-50.
43. Zeidler C, Welte K, Barak Y, Barriga F, Bolyard AA, Boxer L, et al. Stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia without evidence of leukemic transformation. *Blood.* 2000 Feb 15;95(4):1195-8.
44. Ballmaier M, Germeshausen M. Advances in the understanding of congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 2009 Jun;146(1):3-16.

45. Ballmaier M, Germeshausen M, Schulze H, Cherkaoui K, Lang S, Gaudig A, et al. c-mpl mutations are the cause of congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *Blood*. 2001 Jan 1;97(1):139-46.
46. Bastida Eizaguirre M, Pereda Vicandi A, Pujana Zaldegui I. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia in a 12 year old boy with no signs of pancytopenia: molecular analysis. *An Pediatr (Barc)*. 2008 Apr;68(4):353-6.
47. Gandhi MJ, Pendergrass TW, Cummings CC, Ihara K, Blau CA, Drachman JG. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia in three siblings: molecular analysis of atypical clinical presentation. *Exp Hematol*. 2005 Oct;33(10):1215-21.
48. Germeshausen M, Ballmaier M, Welte K. MPL mutations in 23 patients suffering from congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: the type of mutation predicts the course of the disease. *Hum Mutat*. 2006 Mar;27(3):296.
49. Al-Ahmari A, Ayas M, Al-Jefri A, Al-Mahr M, Rifai S, El-Solh H. Allogeneic stem cell transplantation for patients with congenital amegakaryocytic thrombocytopenia (CAT). *Bone Marrow Transplant*. 2004 Apr;33(8):829-31.
50. Kudo K, Kato K, Matsuyama T, Kojima S. Successful engraftment of unrelated donor stem cells in two children with congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2002 Jan;24(1):79-80.
51. Lackner A, Basu O, Bierings M, Lassay L, Schaefer UW, Revesz T, et al. Haematopoietic stem cell transplantation for amegakaryocytic thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 2000 Jun;109(4):773-5.
52. King S, Germeshausen M, Strauss G, Welte K, Ballmaier M. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: a retrospective clinical analysis of 20 patients. *Br J Haematol*. 2005 Dec;131(5):636-44.
53. Burroughs L, Woolfrey A, Shimamura A. Shwachman-Diamond syndrome: a review of the clinical presentation, molecular pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009 Apr;23(2):233-48.
54. Ip WF, Dupuis A, Ellis L, Beharry S, Morrison J, Stormon MO, et al. Serum pancreatic enzymes define the pancreatic phenotype in patients with Shwachman-Diamond syndrome. *J Pediatr*. 2002 Aug;141(2):259-65.
55. Rothbaum R, Perrault J, Vlachos A, Cipolli M, Alter BP, Burroughs S, et al. Shwachman-Diamond syndrome: report from an international conference. *J Pediatr*. 2002 Aug;141(2):266-70.

56. Boocock GR, Morrison JA, Popovic M, Richards N, Ellis L, Durie PR, et al. Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Genet.* 2003 Jan;33(1):97-101.
57. Cesaro S, Oneto R, Messina C, Gibson BE, Buzyn A, Steward C, et al. Haematopoietic stem cell transplantation for Shwachman-Diamond disease: a study from the European Group for blood and marrow transplantation. *Br J Haematol.* 2005 Oct;131(2):231-6.
58. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* 1989 Oct 26;321(17):1174-8.
59. Cairo MS, Rocha V, Gluckman E, Hale G, Wagner J. Alternative allogeneic donor sources for transplantation for childhood diseases: unrelated cord blood and haploidentical family donors. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008 Jan;14(1 Suppl 1):44-53.
60. Rocha V, Gluckman E. Improving outcomes of cord blood transplantation: HLA matching, cell dose and other graft- and transplantation-related factors. *Br J Haematol.* 2009 Oct;147(2):262-74.
61. Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, Blazar BR, McGlave PB, Miller JS, et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood.* 2005 Feb 1;105(3):1343-7.
62. Frassoni F, Gualandi F, Podesta M, Raiola AM, Ibatucci A, Piaggio G, et al. Direct intrabone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I/II study. *Lancet Oncol.* 2008 Sep;9(9):831-9.
63. de Lima M, McMannis J, Gee A, Komanduri K, Couriel D, Andersson BS, et al. Transplantation of ex vivo expanded cord blood cells using the copper chelator tetraethylenepentamine: a phase I/II clinical trial. *Bone Marrow Transplant.* 2008 May;41(9):771-8.
64. Fernandez MN, Regidor C, Cabrera R, Garcia-Marco JA, Fores R, Sanjuan I, et al. Unrelated umbilical cord blood transplants in adults: Early recovery of neutrophils by supportive co-transplantation of a low number of highly purified peripheral blood CD34+ cells from an HLA-haploidentical donor. *Exp Hematol.* 2003 Jun;31(6):535-44.

65. Macmillan ML, Blazar BR, DeFor TE, Wagner JE. Transplantation of ex-vivo culture-expanded parental haploidentical mesenchymal stem cells to promote engraftment in pediatric recipients of unrelated donor umbilical cord blood: results of a phase I-II clinical trial. *Bone Marrow Transplant*. 2009 Mar;43(6):447-54.
66. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*. 1974 Oct;18(4):295-304.
67. Flowers ME, Kansu E, Sullivan KM. Pathophysiology and treatment of graft-versus-host disease. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1999 Oct;13(5):1091-112, viii-ix.
68. Martin PJ, Carpenter PA, Sanders JE, Flowers ME. Diagnosis and clinical management of chronic graft-versus-host disease. *Int J Hematol*. 2004 Apr;79(3):221-8.
69. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005 Dec;11(12):945-56.
70. Vigorito AC, Campregher PV, Storer BE, Carpenter PA, Moravec CK, Kiem HP, et al. Evaluation of NIH consensus criteria for classification of late acute and chronic GVHD. *Blood*. 2009 Jul 16;114(3):702-8.
71. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Dec;15(12):1628-33.
72. Rocha V, Wagner JE, Jr., Sobocinski KA, Klein JP, Zhang MJ, Horowitz MM, et al. Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. *N Engl J Med*. 2000 Jun 22;342(25):1846-54.
73. Rocha V, Broxmeyer HE. New approaches for improving engraftment after cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010 Jan;16(1 Suppl):S126-32.
74. MacMillan ML, Walters MC, Gluckman E. Transplant outcomes in bone marrow failure syndromes and hemoglobinopathies. *Semin Hematol*. 2010 Jan;47(1):37-45.

75. Roy V, Perez WS, Eapen M, Marsh JC, Pasquini M, Pasquini R, et al. Bone marrow transplantation for diamond-blackfan anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005 Aug;11(8):600-8.
76. Mugishima H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Fujisawa K, Tsukimoto I. Hematopoietic stem cell transplantation for Diamond-Blackfan anemia: a report from the Aplastic Anemia Committee of the Japanese Society of Pediatric Hematology. *Pediatr Transplant*. 2007 Sep;11(6):601-7.
77. Nobili B, Rossi G, De Stefano P, Zecca M, Giorgiani G, Perrotta S, et al. Successful umbilical cord blood transplantation in a child with dyskeratosis congenita after a fludarabine-based reduced-intensity conditioning regimen. *Br J Haematol*. 2002 Nov;119(2):573-4.
78. Donadieu J, Michel G, Merlin E, Bordigoni P, Monteux B, Beaupain B, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for Shwachman-Diamond syndrome: experience of the French neutropenia registry. *Bone Marrow Transplant*. 2005 Nov;36(9):787-92.

9 ANEXOS

ANEXO 1- Questionários aplicados aos centros transplantadores pelo Eurocord.

CORD BLOOD TRANSPLANTATION INITIAL REGISTRATION FORM			
Please, send to EUROCORD (c/o Pr. E. GLUCKMAN), Hôpital St-Louis, 1 Av. Claude Vellefaux, 75010 Paris, Fax: 33 1 42492899			
Hospital: _____ Reporter: _____ e-mail: _____ Center Code CIC: _____ ID: _____		MYELODYSPLASIA Type 1) myeloproliferative syndrome 2) myelodysplastic syndrome If MDS, specify (WHO or FAB classification) 1) de novo 2) secondary	
ORGANS INVOLVED AT DIAGNOSIS 0) no 1) liver 2) spleen 4) lymph nodes 8) mediastinum 16) CNS 32) others:		IMMUNOPHENOTYPE 0) not done 1) B cell 2) pre B cell 3) T cell 4) null cell 5) biphenotypic 6) others:	
FAB MORPHOLOGY If myeloblastic leukemia, from 0 to 7 KARYOTYPE 0) not done 1) not evaluable 2) normal 3) abnormal If abnormal:		MYELODYSPLASIA Cytogenetics (at diagnosis) 1) normal 2) abnormal Classification at initial treatment 1) AL 2) MDS/MPs Treatment* 1) Chemotherapy 2) Growth factors 4) low dose A/aC 8) Hormones 16) others:	
REMISSION AND RELAPSE Date of first complete remission (CR) (dd/mm/yy): Date of first relapse (dd/mm/yy):		STATUS AT TRANSPLANT 1) AL 2) myeloproliferative syndrome 3) myelodysplastic syndrome specify (WHO or FAB classification)	
MOLECULAR BIOLOGY IDENTIFICATION: 1) on therapy 2) off therapy site*: 1) blood 2) bone marrow 4) CNS 8) Gonads 16) other:		IF AL, status of disease (see code n°1): CML Philadelphia chromosome 1) negative 2) positive Status at diagnosis 1) chronic phase 2) accelerated phase 3) blast crisis Blasts in the bone marrow (%)	
REASON FOR THIS NEW TRANSPLANT: 1)UCB 2)PBSC 4)BM 1)Rejection 2)Relapse		Treatment* 1) Hydroxyurea 2) Busulfan 4) Interferon α 8) Splenic irradiation 16) A/aC 32) Splenectomy 64) Imatinib (Gleevec®) If Splenectomy, date (dd/mm/yyyy)	
WHO classification: 0) Lymphoblastic 1) Diffuse Large B-Cell 2) Follicular 3) Peripheral T 4) Other (specify):		AT TRANSPLANTATION Philadelphia chromosome 0) negative 1) positive positivity %	
5) Hodgkin (specify histology): Date of first complete remission (CR) (dd/mm/yy): Date of first relapse (dd/mm/yy): Date of last complete remission (dd/mm/yy):		STATUS AT TRANSPLANTATION Hematologic remission 0) no 1) yes Cylogenetic remission 0) no 1) partial (1-35%) 2) complete (0) Molecular remission 0) no 1) yes 9) unknown	
6) Very good PR (>90%) 7) PR 8) refractory disease		LEVEL OF BCR-ABL Chronic phase 0) no 1) first 2) second 3) subsequent Accelerated phase 0) no 1) first 2) second 3) subsequent Blast crisis 0) no 1) first 2) second 3) subsequent	
APLASTIC ANEMIA Subclassification 1) aplastic anemia 2) PNH 3) Fanconi 4) other: Previous treatment* 1) Prednisone 2) ALG/ATG 4) Growth factors 8) CsA 16) Androgens 32) other:		HEMOGLOBINOPATHIES Type 1) Thalassemia 2) sickle cell disease If thalassemia: 1) B+ 2) B- 3) BE 4) other Chelation pre-transplant* 0) no 1) regular 2) irregular Post-transplant classification at transplant 1) no hemoglobinopathy (or < 3cm), no fibrosis in the liver, regular chelation 2) one or two of these conditions 3) hemoglobinopathy (>= 3cm) fibrosis in the liver and irregular chelation If sickle cell disease: presence of stroke or CNS hemorrhage 0) no 2) yes	
TRANSFUSIONS: Red blood cell transf. 0) no 1) < 20 2) >= 20 Platelet transf. 0) no 1) < 20 2) >= 20		DIAGNOSIS Hemoglobin (g/dl) Neutrophils (10e9/L) Platelets (10e9/L)	
ACUTE LEUKEMIA Diagnosis type: 1) de novo 2) secondary to: If sec AL, date of transformation (dd/mm/yy): WBC (10e9/L) Hb (g/100ml) Platelets (10e9/L) Blasts in blood (%)		BIOLICAL FINDINGS AT DIAGNOSIS WBC (10e9/L) Hb (g/100ml) Platelets (10e9/L) Blasts in blood (%)	

**IF MULTICORD, CHARACTERISTICS OF THE 2nd CORD BLOOD									
Cord blood bank (2nd unit)									
CB unit identification (2nd unit)									
date of cord blood collection									
AT COLLECTION									
Volume (including anticoagulant)									
Total number of NC (10e8)									
Total number of CFU-GM (10e5)									
Total number of CD34 (10e6)									
AFTER VOLUME REDUCTION									
Method									
0) no 1) Ficoll-Hypaque 2) Mechanical cell separator									
3) gelatine 4) Hydroxy ethyl starch 5) other									
Volume reduction 1) yes 2) no									
Method used									
Total number of NC (10e8)									
Total number of CFU-GM (10e5)									
Total number of CD34 (10e6)									
Cryopreservant 1) DMSO 2) glycerol 3) other									
DONOR INFORMATION									
Viral status									
CMV 1) negative 2) positive 9) unknown									
HBV 1) negative 2) positive 9) unknown									
HCV 1) negative 2) positive 9) unknown									
EBV 1) negative 2) positive 9) unknown									
ABO group 1) A 2) B 3) AB 4) O									
Rh 1) negative 2) positive									
Sex 1) Male 2) Female									
HLA TYPING									
HLA match 4) identical unrelated 6) non identical unrelated									
HLA compatibility code: 0) Match 1) one difference 2) two differences 9) not tested									
Class I (serology) A B C									
Class I (DNA) A B C									
Class II (DNA generic) DR DQ DP									
Class II (DNA specific) DR DQ DP									
Class II (serology) Class II (DNA generic)									
A B C									
B C									
C									
Class I (DNA) DRB1									
A B C									
B C									
C									

CHARACTERISTICS OF THE CORD BLOOD									
Type of Donor									
Type of graft:									
1) single, unmanipulated unit									
2) single expanded unit									
3) CBU + bone marrow									
4) multicord, if yes number of units infused									
** IF MULTICORD, please complete characteristics of the 2nd unit									
Cord blood bank (Name)									
CBU unit identification									
Date of cord blood collection									
AT COLLECTION									
Volume (including anticoagulant)									
Total number of NC (10e8)									
Total number of CFU-GM (10e5)									
Total number of CD34 (10e6)									
Method of in vitro manipulation									
0) no 1) Ficoll-Hypaque 2) Mechanical cell separator									
3) gelatine 4) Hydroxy ethyl starch 5) other									
Volume reduction 1) yes 2) no									
Method used									
BEFORE FREEZING									
Total number of NC (10e8)									
Total number of CFU-GM (10e5)									
Total number of CD34 (10e6)									
Cryopreservant 1) DMSO 2) glycerol 3) other									
DONOR INFORMATION									
Viral status									
CMV 1) negative 2) positive 9) unknown									
HBV 1) negative 2) positive 9) unknown									
HCV 1) negative 2) positive 9) unknown									
EBV 1) negative 2) positive 9) unknown									
ABO group 1) A 2) B 3) AB 4) O									
Rh 1) negative 2) positive									
Sex 1) Male 2) Female									
PATIENTS VIRAL STATUS (before transplant)									
CMV 1) negative 2) positive 9) unknown									
HBV 1) negative 2) positive 9) unknown									
HCV 1) negative 2) positive 9) unknown									
HIV 1) negative 2) positive 9) unknown									
HTLV1 1) negative 2) positive 9) unknown									
EBV 1) negative 2) positive 9) unknown									



CORD BLOOD TRANSPLANTATION - Report at 100 days Please, send to EUROCORD (c/o Pr.E. GLUCKMAN), Hôpital St-Louis, 1 Av. Claude Vellefaux, 75010 Paris, Fax: 33 1 42492699

Hospital: _____
Reporter: _____
e-mail: _____

OBS/UPN: _____

Center Code CIC: _____

Family Name: _____

First Name: _____

CENTER CHARACTERISTICS

Room * 0) conventional 1) HEPA 2) laminar airflow

TRANSPLANTATION

Date of this transplant (dd/mm/yy) _____
Reduced Intensity Conditioning 0) no 1) yes
Conditioning (specify total dose mg/kg or total dose mg/m²) *
1) Cyclophosphamide 2) Melphalan
4) Ara-C 8) Thiotepa
16) Busulfan 32) VP-16
64) Fludarabine 128) Other _____
Total dose (Gy) _____
TBI 0) no 1) yes
TLI 0) no 1) yes
Serotherapy 0) no 1) ALG/ATG (before day 0)
2) monoclonal antibody _____
Weight at time of transplant (kg) _____
Body surface area (m²) _____

INFUSION OF CORD BLOOD CELLS

1) Infused with DMSO
2) Cells washed with Rubenstein's method
3) Other method: _____
Viability of cells (%), method _____
If multicord, Viability of cells (%) 2nd Unit _____
Time
If multicord, Chronological Order of Infusion
First infused CBU identification _____
Second infused CBU identification _____
Cells infused per Kg of recipient's body weight
1st Unit _____
2nd Unit _____

- Total number of NC (10⁶/kg)
- Total number of CFU-GM (10⁶/kg)
- Total number of CD34 (10⁶/kg)
- Total number of CD3 (10⁶/kg)
Serious adverse reactions during post-infusion *
0) no 1) bradycardia 2) hypotension 4) anaphylaxis 8) hypertension
16) dyspnea 32) acute renal failure 64) other _____

Haematopoietic growth factors *

0) no 1) G-CSF 2) GM-CSF 4) EPO 8) other _____
Day of onset of growth factors _____

ACUTE GVH

Prophylaxis *
0) No 1) CSA 2) Steroids 4) Methotrexate 8) ALG/ATG (after day 0)
16) Monoclonal Antibody 32) FK 506 64) MMF 128) Other _____
Steroids dose 1) < 2mg/kg/d 2) >= 2mg/kg/d
Date of onset (dd/mm/yy) _____
Maximum grade 0) absent 1) mild 2) moderate
(Glucksberg) 3) moderate/severe 4) severe
Skin stage _____ Liver stage _____ Gastro-intestinal stage _____
Diagnosis was based on:
Histological evidence 0) no 1) yes
Clinical evidence 0) no 1) yes
Treatment * 0) no 1) Steroids 2) ALG/ATG
4) Monoclonal Antibody 6) Tacrolimus 16) MMF 32) Sirolimus
64) other _____

HEMATOPOIETIC RECONSTITUTION

Neutrophils 1) engraftment 2) no engraftment 3) NE
Never dropped 0.5x10⁹/L 0) no 1) yes
Date ANC > 0.5x10⁹/L _____
Date ANC > 1x10⁹/L _____
Platelets 1) engraftment 2) no engraftment 3) NE
Never dropped 20x10⁹/L 0) no 1) yes
Date platelets > 20x10⁹/L _____
Date platelets > 60x10⁹/L _____

Chimerism _____ Date _____
0) Not done 1) Unknown 2) Full (donor 100%) 3) Mixed 4) Recipient 100%
Method _____
Donor _____ % If multicord, Donor 2
CBU identification CBU2 identification
If graft failure, Date
Treatment * 0) no 1) autograft 2) allograft
If allograft, type of donor
If cord blood, name of the CB bank
Cord blood identification
If multicord, name of the CB bank (2nd unit)
Cord blood identification (2nd unit)

* Means: addition of codes is possible; ex: if GVHD prophylaxis consists in (1) CSA + (2) Steroids then write (3)

INFECTIONS COMPLICATIONS

VIRAL PROPHYLAXIS
Drugs used _____ Date of onset _____ Last day _____
Aciclovir (mg/kg/day) _____ dose _____ Number of days/week _____
Ganciclovir (mg/kg/day) _____
Foscavir (mg/kg/day) _____
Immunoglobulins (g/kg/day) _____

CMV INFECTION

CMV MONITORING
Method of detection * 1) conventional cell culture 2) Site Shell vial assay
4) CMV pp65 antigenemia 8) PCR, type _____ 16) Other _____
Frequency of monitoring 1) once a week 2) twice a week
3) only if presence of symptoms 4) other _____
CMV INFECTION 0) no 1) yes 1 First positive test
Site detection * 1) blood 2) urine 4) throat 8) other _____
Treatment pre-emptive Date of onset _____ Date of last day _____
Drugs used (IV) _____ dose _____ Number of days/week _____
Ganciclovir (mg/kg/day) _____
Foscavir (mg/kg/day) _____
Immunoglobulins (g/kg/day) _____
Other, specify _____
Date of diagnosis of subsequent reactivations 2nd
3rd
4th

CMV DISEASE

Site of detection * 1) blood 2) urine 4) bronchoalveolar lavage
8) G-tract (biopsy) 16) stool 32) other _____ date of diagnosis (last)
Number of episodes _____
Pneumonitis _____
Gastro-intestinal _____
Hepatitis _____
Retinitis _____
Other _____
Treatment Date of onset _____ Date of end _____
Drugs used (IV) _____ dose _____ Number of days/week _____
Ganciclovir (mg/kg/day) _____
Foscavir (mg/kg/day) _____
Cidofovir (mg/kg/day) _____
Immunoglobulins (g/kg/day) _____
Other, specify _____
Response to treatment: 1) progression 2) resolution 3) not evaluable 4) still present

FOLLOW-UP FORM AFTER day 100

Eurocord Hôpital St-Louis, 1 Av. Claude Vellefaux, 75010 Paris, Fax: 33-1-42492699 Website: www.eurocord.org

OBS _____

Family Name or Initial _____

First Name or Initial _____

Date of CB Transplantation _____

Reporter _____

E-mail _____

Hospital _____

Date of this report (dd/mm/yy) _____

HEMATOPOIETIC RECONSTITUTION

**** Please provide dates if recipient achieved initial platelets recovery after the last report.**

Date platelets >20x10e9/L (dd/mm/yy) _____

Date platelets >50x10e9/L (dd/mm/yy) _____

CHIMERISM

Donor _____ %

Date _____

Method _____

If multicord, Donor #1 _____ %

Donor # 2 _____ %

Donor # 1 Identification _____

Donor # 2 Identification _____

COMPLICATIONS (AFTER DAY +100)

*** Infections (number of episodes)**

Bacterial sepsis _____

Bacterial pneumonia _____

CMV-disease _____

CMV-antigenemia _____

Date (dd/mm/yyyy) _____

HepatitisC _____

Other severe viral infection _____

Other fungal infection _____

Parasitic infection _____

*** Other Complications** 0) no 1) yes

Interstitial pneumonitis _____

ARDS _____

VOD _____

Hemorrhagic cystitis _____

Other _____

Other _____

CHRONIC GvHD

0) no 1) yes 2) not evaluable _____

If yes, 1) limited 2) extensive _____

date of onset (dd/mm/yyyy) _____

Diagnosis was based on:

Histologic evidence 0) no 1) yes _____

Clinical evidence 0) no 1) yes _____

Outcome _____

1) resolved 2) improved 3) stabilized 4) progressive

SECONDARY BONE MARROW FAILURE

Secondary Neutropenia 0) no 1) yes _____

If yes, Date of ANC < 500 _____

Date of ANC >= 500 _____

Hematopoietic growth factors *

0) No 1) G-CSF 2) GM-CSF 4) EPO 8) Other _____

Date of onset _____

Date of last day _____

RELAPSE

Relapse after CBT 0) no 1) yes 9) NE _____

Date (dd/mm/yyyy) _____

If minimal residual disease. _____

Date of molecular relapse _____

TREATMENT OF RELAPSE

Date _____

Type of treatment *

0) no 1) Chemotherapy 2) transplant _____

if 2, type of transplant _____

if cord blood, name of CB Bank _____

CBU Identification _____

4) Lymphocytes Infusion 8) IL2 16) IFN _____

32) Other, specify _____

If 4, Number of CD3+ cells (10e7)/Kg _____

FOLLOW UP

Last Follow-Up Date (dd/mm/yyyy) _____

Disease status 1) CR 2) Relapse 9) NE _____

Secondary Malignancy

0) no 1) lymphoma 2) cancer _____

Status 1) alive 2) dead _____

If dead, Date (dd/mm/yyyy) _____

Cause(s) of death*

1) relapse or progression 2) transplant related cause _____

4) secondary malignancy (specify if LPD-EBV) _____

8) unknown 16) Other, specify _____

If death related to transplantation

Main cause of death _____

Contributing cause _____

1) GVH

3) Veno-occlusive disease

5) Rejection

7) Viral infection

9) Parasitic infection

11) Cardiac toxicity

13) Secondary malignancy

15) Multiorgan Failure

2) Idiopathic pneumonia synd

4) Hemorrhage

6) Bacterial infection

8) Fungal infection

10) Unknown infection

12) Acute Resp Distress

14) unknown

16) Other

* means that addition of codes is possible

ANEXO 2 - Termo de consentimento enviado aos centros transplantadores participantes.

PARTICIPATION FORM

1. NAME OF THE STUDY

Related and Unrelated cord blood transplantation FOR Patients with inherited bone marrow failures syndromes, excluding fanconi anemia.

2. CENTRE

Name or CIC of the centre:

Data manager in charge of collecting data:

Tel: _____

Fax: _____

Email: _____

Deadline

As soon as possible (preferably until end of July, 2008)

Participation (please surround the answer)

Are you willing to fill in additional information for the study?

YES

NO

Could you please return this page with the answer as soon as possible to:

Renata Bizzetto
Eurocord / ARTM
Hôpital Saint Louis
1, Av Claude Vellefaux
75475 Paris Cedex 10 France
Phone: 33.1.42.49.48.23
Fax: 33.1.42.38.53.90
renata.bizzetto@eurocord.org

ANEXO 3 – Centros transplantadores que incluíram pacientes no estudo e número de pacientes incluídos por cada centro.

- Hospital das Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Dra. Camen Bonfim, Curitiba, Brasil; 9 pacientes.
- Hôpital Saint Louis, Dr. Gerard Socié, Paris, França; 6 pacientes.
- Ospedale Bambino Gesù, Universidade de Pavia, Dr. Franco Lacatelli, Pavia, Itália; 5 pacientes.
- Texas Transplant Institute and Methodist Children's Hospital, Dr. Ka wah Chan, Texas EUA; 5 pacientes.
- Fundacion Clinica Vale del Lili, Dr. Oscar Ramirez, Cali, Colômbia; 3 pacientes.
- Schneider Children's Medical Center, Dr. Jerry Stein, Israel; 3 pacientes.
- Hôpital d'enfants de la Timone, Dr. Gerard Michel, Marseille, França; 2 pacientes.
- Hospital Vall d'Hebron, Dr. José Sanches de Toledo Codina, Barcelona, Espanha; 2 pacientes.
- Akdeniz University Medical School, Dr. M. Akif Yesilipek, Antalya, Turquia; 2 pacientes.
- Pediatric University Teaching Hospital, Dr. Sabina Sufliarska, Bratislava, Eslováquia; 2 pacientes.
- St. Mary's Hospital, Dr. Josu de la Fuente, Londres, Reino Unido; 2 pacientes.
- Startship Hospital Hematology/Oncology, Dr. Lochie Teague Auckland, Nova Zelândia; 2 pacientes.
- Hôpital Saint-Justine, Dr. Michel Duval, Montreal, Canada; 2 pacientes.
- Hospital Amaral Carvalho, Dr. Vergilio Colturato, Jaú, Brasil; 1 paciente.
- Hospital for Children & Adolescents, Dr. Ulla Pihkalla, Helsinki, Finlândia; 1 paciente.

- University Hospital, Dr. Bernhard Kremens, Essen, Alemanha; 1 paciente.
- Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Dr. Isabel Badell Serra, Barcelona, Espanha; 1 paciente.
- University Children`s Hospital, Dr. Johan Arvidson, Uppsala, Suécia; 1 paciente.
- Inst. Portugues de Oncologia do Porto, Dr. Antônio Campos, Porto, Portugal; 1 paciente.
- Inst. Portugues Oncologia, Dr. Manuel Abecasis, Lisboa, Portugal; 1 paciente.
- Ospedale Infantile Regina Margherita, Dr. Franca Fagioli, Torino, Itália; 1 paciente.
- King Faisal Specialist Hospital & Research Centre, Dr. Mahmoud Aljurf, Riyadh, Arábia Saudita; 1 paciente.
- University Hospital Motol, Dr. Petr Sedlacek, Praga, Czech Republic; 1 paciente.
- Edmond & Lily Safra Children`s Hospital, Dr. Amos Toren, Tel-Hashomer, Israel; 1 paciente.
- Hôpital Robert Debre, Dr. Jean-Hugues Dalle, Paris, França; 1 paciente.
- Universitaetsklinikum, Dr. Arndt Borkhardt, Düsseldorf, Alemanha; 1 paciente.
- Niño Jesus Children`s Hospital, Dr. Miguel Angel Diaz, Madrid, Espanha; 1 paciente.
- Royal Hallamshire Hospital, Dr. John Snowden, Sheffield, Reino Unido; 1 paciente.
- Hôpital de Hautepierre, Dr. P. Lutz, Strasbourg, França; 1 paciente.
- University of California in San Francisco, Morton Cowan, EUA; 1 paciente.
- Miami Children's Hospital Bone Marrow Transplantation, Dr. Charles August, EUA; 1 paciente.
- Centro 9524, Japão; 1 paciente.

ANEXO 4 – Artigo referente a tese de mestrado publicado na revista Haematologica.

Original Articles

Outcomes after related and unrelated umbilical cord blood transplantation for hereditary bone marrow failure syndromes other than Fanconi anemia

Renata Bizzetto,^{1,2} Carmen Bonfim,³ Vanderson Rocha,^{1,4} Gérard Socié,⁴ Franco Locatelli,⁵ KaWah Chan,⁶ Oscar Ramirez,⁷ Joel Stein,⁸ Samir Nabhan,³ Eliana Miranda,² Jakob Passweg,⁹ Carmine Antonio de Souza CA,² Eliane Gluckman¹ on behalf of Eurocord and SAA-WP from EBMT*

¹Eurocord, Hospital Saint Louis APHP, IUH, Paris, France; ²University of Campinas, Campinas, Brazil; ³Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil; ⁴Bone Marrow Transplant Unit, APHP, IUH, Saint Louis Hospital, Paris, France; ⁵IRCCS, Ospedale Bambino Gesù, Rome, University of Pavia, Italy; ⁶Texas Transplant Institute and Methodist Children's Hospital, Texas, USA; ⁷Fundacion Clinica Vale del Lili, Cali, Colombia; ⁸Schneider Children's Medical Center of Israel, Israel; and ⁹University Hospital, Geneva, Switzerland

*other co-authors are listed in the acknowledgments.

Manuscript received on May 17, 2010. Revised version arrived on September 7, 2010. Manuscript accepted on September 30, 2010.

Correspondence: Eliane Gluckman, Eurocord Hospital Saint Louis, 1 avenue Claude Vellefaux, Paris cedex 10, France. E-mail: eliane.gluckman@sls.aphp.fr

ABSTRACT

Background

Allogeneic stem cell transplantation is the only curative option for patients with hereditary bone marrow failure syndromes. Umbilical cord blood is an alternative source of stem cells for allogeneic transplantation.

Design and Methods

This multicenter, retrospective study is based on data reported to the Eurocord Registry about patients with hereditary bone marrow failure syndrome who underwent umbilical cord blood transplantation.

Results

Sixty-four patients with hereditary bone marrow failure syndromes were transplanted from related (n=20) or unrelated donors (n=44). Diagnoses were Diamond-Blackfan anemia (21 patients), congenital amegakaryocytic thrombocytopenia (16 patients), dyskeratosis congenita (8 patients), Shwachman-Diamond syndrome (2 patients), severe congenital neutropenia (16 patients) and unclassified (1 patient). In the group of patients who received grafts from related donors, all patients but one received an HLA-matched sibling transplant. The median number of total nucleated cells infused was $5 \times 10^7/\text{kg}$. The cumulative incidence of neutrophil recovery at 60 days was 95%. Two patients had grade II-IV acute graft-versus-host disease, while the 2-year cumulative incidence of chronic graft-versus-host disease was 11%. The 3-year overall survival rate was 95%. In the group of patients who received grafts from unrelated donors, 86% had HLA-mismatched grafts and three received two umbilical cord blood units. The median number of total nucleated cells infused was $6.1 \times 10^7/\text{kg}$. The cumulative incidence of neutrophil recovery at day 60 in this group was 55%. The 100-day cumulative incidence of grade II-IV acute graft-versus-host disease was 24%, while the 2-year cumulative incidence of chronic graft-versus-host disease was 53%. The 3-year overall survival rate was 61%; better overall survival was associated with age less than 5 years ($P=0.01$) and $6.1 \times 10^7/\text{kg}$ or more total nucleated cells infused ($P=0.05$).

Conclusions

In patients with hereditary bone marrow failure syndromes, related umbilical cord blood transplantation is associated with excellent outcomes while increasing cell dose and better HLA matching might provide better results in unrelated umbilical cord blood transplantation.

Key words: cord blood transplantation, hereditary bone marrow failure syndromes, engraftment, HLA compatibility.

Citation: Bizzetto R, Bonfim C, Rocha V, Socié G, Locatelli F, Chan K, Ramirez O, Stein J, Nabhan S, Miranda E, Passweg J, de Souza CA, Gluckman E, on behalf of Eurocord and SAA-WP from EBMT. Outcomes after related and unrelated umbilical cord blood transplantation for hereditary bone marrow failure syndromes other than Fanconi anemia. *Haematologica* 2011;96(01):134-141. doi:10.3324/haematol.2010.027839

©2011 Ferrata Storti Foundation. This is an open-access paper.

Introduction

Bone marrow failure is a rare disease in children; it can be idiopathic or less often hereditary.¹ Congenital disorders account for approximately one third of cases of bone marrow failure in childhood and include many different genetic diseases, such as Fanconi anemia, dyskeratosis congenita (DC),² Diamond-Blackfan anemia (DBA)³ and others.^{4,7} As new genetic tests are now available to make the diagnosis of these disorders possible, their presence should be carefully considered both in children and in adults before any treatment is started. Genomic instability may result in a defect of DNA repair machinery in Fanconi anemia or telomere dysregulation in DC. Mutations affecting ribosome assembly or function are associated with DBA⁸ and Shwachman-Diamond syndrome (SDS).⁵

Although little is known about the pathogenesis of bone marrow failure in each of these disorders, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is the only curative treatment for most patients.^{6,9} The classical source of hematopoietic stem cells used for transplantation in hereditary bone marrow failure syndromes is bone marrow, since the use of peripheral blood stem cells has been associated with an increased risk of chronic graft-versus-host disease (GVHD) and decreased survival rates in non-malignant disorders.¹⁰

Umbilical cord blood offers an alternative source of hematopoietic stem cells for patients lacking a suitable sibling or HLA-matched unrelated bone marrow donor.¹¹ This article reports an analysis of the outcome of umbilical cord blood transplantation (UCBT) in patients with hereditary bone marrow failure syndromes, excluding results for patients with Fanconi anemia which have been published previously.^{12,13}

Design and Methods

Inclusion criteria

All registered patients who received either a related or an unrelated UCBT for hereditary bone marrow failure syndromes other than Fanconi anemia were included in this study.

This retrospective study is based on data reported to the Eurocord Registry from 32 centers, through a questionnaire concerning the characteristics of the patients, umbilical cord blood units, diseases and grafts and the outcomes of the transplants. The Eurocord Registry has collected data on UCBT performed within and outside Europe since 1989; more than 7,000 transplants have been registered. Using this data-base we identified centers which had performed UCBT for hereditary bone marrow failure syndromes and sent them a questionnaire asking for permission to enter retrospective data in the study; 32 centers gave their consent (the list of participating centers is reported in the acknowledgments section). All data were checked by a Eurocord medical coordinator and entered into the data-base after contacting the transplant centers to collect any missing information.

End-point definitions

The main end-point was overall survival, defined by the time between the date of transplantation and the date of death from any cause or the date of the last follow-up for survivors. The others end-points were neutrophil and platelet recovery, graft failure, and incidences of acute and chronic GVHD. The date of neutrophil recovery was defined as the first of 3 consecutive days with a neutrophil count of $0.5 \times 10^9/L$ or more; the date of platelet

recovery was defined as the first of 7 consecutive days with an unsupported platelet count of $20 \times 10^9/L$ or more. Graft failure was defined as the absence of hematopoietic recovery at day 60, second transplantation or autologous reconstitution. Acute GVHD was defined and graded according to international criteria. Chronic GVHD was evaluated considering only patients surviving more than 100 days after transplantation with sustained donor engraftment, using previously published criteria.¹⁴

The conditioning regimens were divided into myeloablative and reduced intensity regimens.¹⁵ Patients were considered to have received myeloablative conditioning when they were given a busulfan dosage of 8 mg/kg or more or total body irradiation at a cumulative dosage greater than 6 Gy; all other conditioning regimens were considered as reduced intensity.

Chimerism was evaluated in the first 3 months after UCBT as reported by the centers or after, in the case of secondary graft failure. Full donor chimerism was defined as the presence of more than 95% of donor cells; mixed chimerism was defined as the presence of more than 5% and less than 95% donor cells, while autologous reconstitution was defined as the presence of less than 5% of donor cells. The method used for chimerism analyses varied according to the centers and included a polymerase chain reaction-based assay, analyzing selected polymorphic short tandem repeat loci, HLA typing, cytogenetics, and fluorescent *in situ* hybridization analysis.

Statistical analysis

The reference date for analyses was March, 2010. This was the date of last follow-up. A cumulative incidence function, with death as a competing event, was used to estimate neutrophil and platelet recovery and the occurrence of acute and chronic GVHD. The Kaplan-Meier method was used to estimate overall survival. For continuous variables, the median was used as the cut-off point.

Univariate proportional hazard regression models were used to identify prognostic factors influencing neutrophil recovery and overall survival after unrelated donor UCBT. The following variables were analyzed: age (<5 years versus ≥ 5 years), HLA compatibility (6/6 and 5/6 versus 4/6 and 3/6), ABO match (matched versus major and minor incompatibility), number of previous transfusions (<20 versus ≥ 20 red blood cell and/or platelet transfusions), time between diagnosis and UCBT (<29.5 versus ≥ 29.5 months), number of total infused cells (< $6.1 \times 10^7/kg$ versus $\geq 6.1 \times 10^7/kg$) and number of infused CD34 cells (< $3 \times 10^6/kg$ versus $\geq 3 \times 10^6/kg$). A stepwise backward (Wald) procedure was used to construct a set of independent predictors of each end-point. All predictors with a *P* value less than 0.05 were considered to be statistically significant. Multivariate analysis was not performed because of the limited number of patients.

The statistical analyses were performed with SPSS15.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) and R version 2.9.0 (R Development Core Team (2009), Vienna, Austria) software packages.

Results

From 1994 to 2008, 64 patients with hereditary bone marrow failure syndromes were reported to Eurocord Registry from 32 transplant centers. The patients were separated into two groups: 20 patients who received a related sibling UCBT and 44 patients who received an unrelated allograft. The groups were analyzed separately without any attempt to make comparisons between the two groups because of the heterogeneity of the diseases and different outcomes related to the differences of HLA matching.

Results of cord blood transplantation from related donors Patient, disease and transplant characteristics

Table 1 details the patient, disease and transplant characteristics for recipients of related UCBT.

The conditioning regimen varied according to transplant center and disease: 16 patients received a myeloablative conditioning regimen based on busulfan ($n=16$, dosage ranging between 14 and 20 mg/kg) associated with cyclophosphamide ($n=14$) and/or fludarabine ($n=4$) and/or thiopeta ($n=5$). Anti-thymocyte globulin was associated with myeloablative conditioning in seven cases. A reduced intensity conditioning regimen was administered to four patients: in two cases, the regimen included cyclophos-

phamide (total dose lower than 200 mg/kg) associated with anti-thymocyte globulin, in one case it included cyclophosphamide, monoclonal antibody and anti-thymocyte globulin, while the remaining patient received fludarabine, cyclophosphamide and anti-thymocyte globulin. GVHD prophylaxis consisted of cyclosporine either alone or in combination with methotrexate, steroids or mofetil mycophenolate.

Engraftment

Nineteen out of the 20 patients engrafted. One patient died at day +43 without achieving neutrophil recovery. The cumulative incidence of neutrophil recovery was 95%

Table 1. The characteristics of patients receiving related or unrelated UCBT.

Variables	Related n=20	Unrelated n=44
Age (years) – (total=20/44), median (range)	5.7 (2-12)	5 (0.3-26)
Gender – male – (total=20/44), n (%)	12 (60)	28 (64)
Weight (kg) – (total=20/36)*, median (range)	19 (9-30)	14 (5-60)
Cytomegalovirus positive (patients) – (total=20/44), n (%)	10 (52)	28 (64)
Diseases, n (%)		
Diamond-Blackfan syndrome	13 (65)	08 (18)
Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia	03 (15)	13 (30)
Dyskeratosis congenita	02 (10)	06 (14)
Severe congenital neutropenia	01 (5)	15 (34)
Schwachman-Diamond syndrome	01 (5)	01 (2)
Unclassified hereditary bone marrow failure syndrome	0	01 (2)
Transfusion (red cells and/or platelets), n (%)		
0-20 units	08 (48)	22 (51)
>20 units	09 (52)	21 (49)
Previous treatment, n (%)		
No treatment	04 (22)	3 (7)
Prednisone-based	12 (67)	17 (41)
Others (G-CSF/cyclosporine/ATG/androgens/immunoglobulin)	02 (11)	22 (52)
ABO donor/patient, n (%)		
ABO match	10 (56)	21 (49)
Major incompatibility	04 (22)	12 (28)
Minor incompatibility	04 (22)	10 (23)
HLA ^A compatibility – single UCBT (total=20/40)*, n(%)		
6/6 match	19 (95)	04 (10)
5/6 match	0	23 (58)
4/6 match	0	12 (30)
3/6 match	01 (5)	1 (3)
HLA ^A compatibility – double UCBT (total=3), n		
02 units 5/6 match	0	1
01 unit 5/6 match – 01 unit 4/6 match	0	1
02 units 4/6 match	0	1
Time: diagnosis-transplant (months), median (range)	64 (5-149)	29 (1.75-239)
Conditioning regimen, n (%)		
Reduced intensity	04 (20)	14 (32)
Myeloablative	16 (80)	30 (68)
GVHD prophylaxis, n (%)		
Cyclosporine alone	09 (47)	6 (14)
Cyclosporine-based (methotrexate/steroid/MMF)	10 (53)	34 (77)
Infused cells, median (range)		
Total nucleated cells ($\times 10^7$ /kg); (total=19/42)*	5.0 (0.8-10.0)	6.1 (0.32-18) [‡]
CD34 ($\times 10^7$ /kg); (total=15/28)*	1.7 (0.35-10.0)	3.0 (0.06-9.4) [‡]

G-CSF: granulocyte colony-stimulating factor; ATG: anti-thymocyte globulin; UCBT: umbilical cord blood transplantation; GVHD: graft-versus-host disease; MMF: mycophenolate mofetil; HLA: antigen level HLA-A and B and allele level HLA-DRB1; *The number of cells included the double grafts; [‡] some missing data for these variables.

on day 60 and the median time to neutrophil engraftment was 25 days (range, 8 to 43 days). The cumulative incidence of platelet recovery was 85% on day 180 and the median time to this recovery was 38 days (range, 13 to 97 days) (Table 2). Chimerism results were available for 14 patients. Twelve patients reached full chimerism and two patients (one each with DBA and congenital amegakaryocytic thrombocytopenia [CAMT]) reached mixed chimerism. One patient with mixed chimerism (the one with CAMT) at the first analysis had secondary graft failure and received a bone marrow transplant from the same donor 208 days after UCBT; he is alive 25 months after the second allograft. The other patient (the one with DBA) is alive 65 months after UCBT with autologous reconstitution and full hematologic recovery. Of the two patients with mixed chimerism, the patient with DBA received myeloablative conditioning, while the patient with CAMT received reduced intensity conditioning. The patient with primary graft failure received myeloablative conditioning.

Table 2. Outcomes of patients who received related or unrelated UCBT.

Variables	Related (n=20)	Unrelated (n=44)
Neutrophil recovery-n (%)	19 (95)	25 (57)
Time, days—median (range)	25 (8-43)	24 (7-67)
Cumulative incidence at day 60, %	95	55
Platelet recovery-n (%)	18 (90)	23 (52)
Time- days, median (range)	38 (13-97)	51 (11-152)
Cumulative incidence at day 180, %	85	50
Chimerism before day 100, n (%)		
Full donor	12 (86)	20 (65)
Mixed	2 (14)	4 (13)
Autologous reconstitution	-	7 (22)
Acute GVHD - n(%)		
0-I	18 (90)	29 (66)
II	0	8 (18)
III	1 (5)	2 (5)
IV	1 (5)	5 (11)
Cumulative incidence at day 100, ¹ %	5	24
Chronic GVHD, (total=19/25), n	2	13
Limited	-	5
Extensive	2	8
Cumulative incidence at 2 years, %	11	53
Follow up - months, median (range)	62 (12-186)	45 (4-147)
Overall Survival at 2 years, %	95 (95%CI: 85-100)	61 (95%CI: 47-75)
Diagnosis - alive/dead		
Diamond Blackfan Anemia	13/0	3/5
CAMT	2/1	9/4
Dyskeratosis congenita	1/1	0/6
Severe congenital neutropenia	1/0	11/4
Shwachman Diamond syndrome	1/0	1/0
Unclassified HBMFS	-	1/0
Causes of death by diagnosis		
Rejection	IDC	3DBA, 1SCN, 2CAMT, IDC
GVHD	-	IDC
Toxicity ²	-	2DBA
Hemorrhage	-	2DC, 1CAMT
Infections	-	3SCN, IDC, 1CAMT
Lung fibrosis	1 CAT	-
Unknown	-	IDC

GVHD: graft-versus-host disease; CI: confidence interval; CAMT: congenital amegakaryocytic thrombocytopenia; HBMFS: hereditary bone marrow failure syndrome; ¹acute GVHD grade II-IV; ²toxicity: veno-occlusive disease; acute respiratory distress syndrome.

Graft-versus-host disease

Acute GVHD was observed in only two patients. One had grade III and the other had grade IV acute GVHD. Both patients were children, transplanted with an HLA identical cord blood unit; the cumulative incidence of chronic GVHD at 2 years was 11%; two patients developed extensive chronic GVHD (Table 2, Figure 1).

Overall survival

The estimated 3-year overall survival was 95% (95%CI: 85-100%) (Figure 2). The median follow-up time was 62 months (range, 12 to 186 months). There were two deaths. One patient with DC died from rejection and infection, the other with CAMT died from lung fibrosis more than 10 years after transplantation. Although myeloablative conditioning was given to both patients who died, the limited number of events precludes the possibility of finding any correlation between the type of conditioning used and survival or survival with remission of the original disease.

Results of cord blood transplantation from unrelated donors

Patient, disease and transplant characteristics

Table 1 details patient, disease and transplantation characteristics for recipients of unrelated UCBT. Two patients with DC and CAMT received unrelated UCBT as rescue for graft failure after having previously received an unrelated bone marrow transplantation. The patient with DC died of a fungal infection, without neutrophil engraftment, 32 days after the unrelated UCBT. The patient with CAMT engrafted and is alive 89 months after UCBT.

Treatments before transplantation are listed in Table 1. All patients with severe congenital neutropenia (SCN) received granulocyte colony-stimulating factor treatment before the transplant. Three patients received two umbilical cord blood units.

The conditioning regimen varied according to transplant center and disease: 30 patients received myeloablative conditioning based on total body irradiation (>6 Gy) (n=2) or busulfan (n=28, dose ranging between 8 and 20 mg/kg) associated with cyclophosphamide (n=23) or fludarabine (n=4) or melphalan (n=1). Anti-thymocyte globulin was associated with myeloablative conditioning in 23 cases. A reduced intensity conditioning regimen was administered to 14 patients: in six cases it included cyclophosphamide (total dose <200 mg/kg) + anti-thymocyte globulin (n=2) or associated with busulfan (total dose <6 mg/kg) (n=2) or fludarabine (n=2); in the remaining eight cases reduced intensity conditioning was based on fludarabine + melphalan and anti-thymocyte globulin (n=5) or fludarabine associated only with anti-thymocyte globulin (n=2) or monoclonal antibody (n=1). Myeloablative conditioning was given to five patients with DBA, five with DC, six with CAMT, 13 with SCN, and one with SDS, while reduced intensity conditioning was given to three patients with DBA, one with DC, seven with CAMT, two with SCN and one with unclassified congenital aplastic anemia.

Other transplant characteristics are listed in Table 1. In particular, GVHD prophylaxis in three quarters of patients consisted of cyclosporine in combination with methotrexate, steroids or mycophenolate mofetil.

Engraftment

The 60-day cumulative incidence of neutrophil recovery

was 55% and the median time to neutrophil engraftment was 24 days (range, 7 to 67 days). The 180-day cumulative incidence of platelet recovery was 50% with a median time to engraftment of 51 days (range, 11 to 152 days).

Chimerism results were available for 31 patients: 20 patients had full donor chimerism, four patients had mixed chimerism and seven patients had autologous reconstitution. In three patients mixed chimerism was transient and followed by full donor chimerism; one patient with mixed chimerism (with SCN) had secondary graft failure 1 month after transplantation; he subsequently received a double UCBT and is alive after 39 months. Three patients (1 with SCN, 1 with CAMT and 1 with DBA) with autologous reconstitution died, two due to infection and marrow failure (one each with CAMT and DBA) and one due to viral infection (the patient with SCN). One patient (with CAMT) with autologous reconstitution received a related peripheral blood haploidentical stem cell transplant and is alive after 44 months. Two patients for whom information on chimerism is not available are alive 4 months (SCN) and 84 months (CAMT) after UCBT, and one (with DBA) had 70% donor chimerism at the 1-year evaluation.

Primary graft failure occurred in 17 (39%) patients; 12 of them died. Among the five surviving patients, four had autologous reconstitution and one was alive 122 months after a second stem cell transplantation. The numbers of patients were too small to make any correlations between engraftment and number of HLA incompatibilities or the number of cells infused.

Graft-versus-host disease

The 100-day cumulative incidence of grade II-IV acute GVHD was 24%. The 2-year cumulative incidence of chronic GVHD was 53%; it was extensive in eight out of 25 cases (Table 2; Figure 1).

Overall survival

The overall survival rate at 3 years was 61% (95% CI: 47-75%) with a median follow up at 45 months (range, 4 to 147 months) (Figure 2). The causes of death are listed in Table 2.

Nineteen patients died, 13 of whom had received myeloablative conditioning and six reduced intensity conditioning. Nineteen patients had graft failure, ten of whom had received myeloablative conditioning and nine reduced intensity conditioning. Four patients had mixed chimerism: three had received myeloablative conditioning and one had had reduced intensity conditioning. Seven patients had autologous reconstitution, three after myeloablative conditioning and four after reduced intensity conditioning. Because of the heterogeneity of the diseases, changes in transplant practices over time and the small numbers of patients it was impossible to find any correlation between outcome and the conditioning regimen employed.

Two patients had acute leukemia before transplantation. One had SCN and was transplanted in complete remission before unrelated UCBT; 83 months after the transplant, this patient is alive in remission with limited chronic GVHD. The other had DBA; he had refractory disease before transplantation and died from graft failure. Two patients had myelodysplastic syndrome before transplantation. One woman had SCN and at the time of unrelated UCBT had refractory anemia with excess of blasts. The transplant was successful but she developed limited chronic GVHD and died of a fungal infection 1 year after UCBT. The other patient also had SCN with juvenile myelomonocytic leukemia; she died of graft failure 2 months after UCBT.

In univariate analysis two variables were associated with improved overall survival: age under 5 years (RR: 0.29, range 0.1-0.8, $P=0.018$) and a higher number of total nucleated cells infused ($\geq 6.1 \times 10^7/\text{kg}$; RR: 0.31, range 0.11-0.86, $P=0.03$). The overall survival at 3 years was 37% (95% CI: 17-57%) in patients given an unrelated donor UCBT with a lower dose of total nucleated cells ($<6.1 \times 10^7/\text{kg}$) and 81% (95% CI: 63-99%) for those receiving a higher dose ($\geq 6.1 \times 10^7/\text{kg}$) ($P=0.01$) (Figure 3).

Related and unrelated cord blood transplants by type of disease

There were 21 patients with DBA: 13 received a related UCBT and eight an unrelated UCBT. All DBA patients

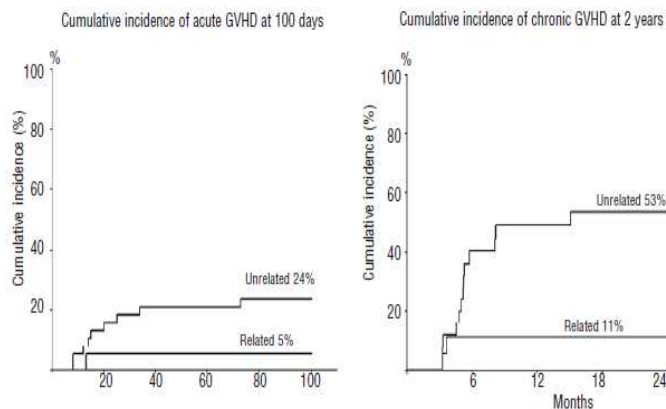


Figure 1. Cumulative incidence of acute GVHD at 100 days and of chronic GVHD at 2 years after UCBT in patients transplanted with grafts from a related or unrelated donor.

who received a related graft are alive with a median follow-up of 65 months (range, 12 to 186 months). Of the patients with DBA who had an unrelated UCBT, three patients are alive with a median follow-up of 31 months (range, 28 to 57 months).

In the DC group, all patients died except one who is alive at 126 months after an HLA-matched sibling UCBT. Two patients had a related UCBT and one died 1 month after transplantation of a fungal infection. In the group given unrelated grafts, three had been conditioned with cyclophosphamide (120 mg/kg), busulphan (16 mg/kg) and anti-thymocyte globulin; death occurred 4, 3 and 39 months post-transplant from GVHD, an unknown cause and hemorrhage from gastrointestinal angiodysplasia, respectively. Two patients received fludarabine (100 and 125 mg/m²), busulphan (8 mg/kg) and anti-thymocyte globulin. These patients died of rejection and hemorrhage 2 months post-transplant. One patient received fludarabine (150 mg/m²), cyclophosphamide (50 mg/kg) and anti-thymocyte globulin and died 1 month post-transplant of a fungal infection.

There were 16 patients with SCN, one of whom had a related UCBT, whereas the other 15 were given unrelated grafts. Three patients were transplanted for leukemia or myelodysplastic syndrome. The others (13 patients) were transplanted because of a lack of response to granulocyte colony-stimulating factor and 11 are alive (1 who had had a related transplant and 10 who had had an unrelated UCBT). The median follow-up was 41 months (range, 4-142 months).

There were 16 patients with CAMT (3 of whom had a related transplant and 13 who had an unrelated transplant). Of the three given a related transplant, two are alive at 18 and 25 months after the transplant and one died 124 months after transplantation. Of the 13 patients with

CAMT who received an unrelated UCBT, four died within 2 months after transplantation and the others are alive with a median follow-up of 65 months (range, 25-121 months).

Discussion

Hereditary bone marrow failure syndromes other than Fanconi anemia are rare diseases in children and this explains the relatively low number of patients transplanted with allogeneic cord blood cells. This study, although being the largest reported so far, suffers from some limitations related to the relatively small number of patients and the retrospective nature of the study with transplants performed over a very long time interval (1994-2008). During this long period many changes have been observed including more refined selection of patients, new methods of conditioning, GVHD prevention and treatment as well as optimization of supportive care. Despite these limitations, we think that it is important to report our results in the attempt to make some recommendations for the future.

Our data indicate that UCBT is an excellent option for children with hereditary bone marrow failure syndromes when the donor is an HLA-matched sibling donor. Our results are in agreement with those of a previously published analysis which compared outcome of patients undergoing HLA-identical sibling UCBT with that of HLA-identical sibling bone marrow transplant recipients and showed similar overall survival in children with malignant and non-malignant diseases.¹⁶ Banks of related cord blood have been established; they are not, however, sufficiently developed despite the excellent results observed not only in marrow failure but also in other hereditary disorders

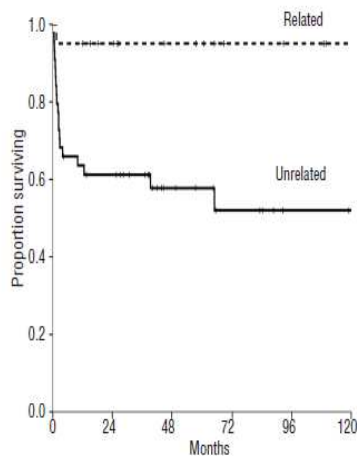


Figure 2. Overall survival of recipients of related or unrelated UCBT. The estimate overall survival at 3 years in patients transplanted with a related graft was 95% [95% confidence interval (CI) 85-100%] whereas that in the group transplanted with an unrelated graft was 61% (95% CI 47-75%).

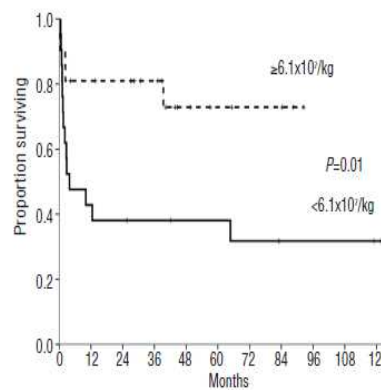


Figure 3. Overall survival in patients given an unrelated donor UCBT according to the number of total nucleated cells infused. The overall survival at 3 years was 37% (CI 17-57%) for patients given a graft with less than 6x10⁶/kg total nucleated cells and 81% in patients receiving 6x10⁶/kg or more (P=0.01).

such as hemoglobinopathies, metabolic disorders and congenital immune deficiencies.^{17,18} Another factor in favor of freezing cord blood cells from an HLA-identical sibling is the absence of risk for the donor.

An important observation is that the risk of graft failure after unrelated UCBT was high in this cohort of patients. The risk of rejection can be overcome by better selection of the cord blood units and by modifications of the conditioning regimen. We previously showed, in non-malignant diseases, that it was necessary to increase the number of nucleated cells and CD34⁺ cells infused and to decrease the number of HLA mismatches.¹⁹ The current recommendation is to infuse more than 4×10^7 nucleated cells/kg and choose a donor with no more than one HLA mismatch defined by antigen typing for HLA class I loci and allele typing for HLA-DRB1. Importantly, we confirm in this small series of patients that a higher cell dose is associated with a better survival; unfortunately the number of patients was too small to study the influence of number of HLA mismatches in the donor/recipient pair or the impact of previous transfusions. If a cord blood unit with enough number of cells cannot be found a double cord blood transplant should be prospectively evaluated. In our series only three patients were transplanted with two units and all died without signs of engraftment. Other approaches aimed at facilitating engraftment can be used in phase I-II protocols,²⁰ including *ex vivo* expansion with copper chelators and cytokine cocktails,²¹ intra-bone injection of the cord blood graft²² or Notch ligand *ex vivo* expansion.²³ Greater HLA histocompatibility of the units selected for transplantation should also be able to improve the outcome of patients with hereditary bone marrow failure syndromes given an unrelated UCBT.

Modifications of the conditioning regimen might also contribute to improve outcomes. As conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation and low-dose cyclophosphamide has improved outcomes after unrelated UCBT in Fanconi anemia,¹⁹ it is reasonable to speculate that a similar conditioning regimen could be used in hereditary bone marrow failure syndromes other than Fanconi anemia. In our series of patients, this hypothesis was impossible to analyze because of the large variety of conditioning regimens used in a small number of patients. It would be very important in the future to reach a consensus on a common conditioning protocol for each disease category.

Our results in DBA seem to be comparable with outcomes reported after transplantation with other sources of hematopoietic stem cells.^{24,25} In our series, all 13 patients with DBA given a related UCBT and, three out of eight given an unrelated UCBT, are alive. The Centre of International Blood and Marrow Transplant Registry (CIBMTR) reported outcomes of 61 patients with DBA; 41 (67%) were transplanted from an HLA identical sibling and 20 (33%) from an unrelated bone marrow donor. The 3-year overall survival of the CIBMTR series was 76% when the donor was an HLA-matched sibling and 39% when the donor was an unrelated volunteer.²⁴

Results of bone marrow transplantation in DC are extremely poor because of the underlying disease which is associated with a high incidence of both early and late fatal complications, mainly of pulmonary and vascular origin.^{26,28} In our series of eight patients, all patients but one died. This outcome is similar to that previously reported in the literature, with very few patients surviving long-term after bone marrow transplantation. The indication

for hematopoietic stem cell transplantation in DC is controversial and there is not currently a well-defined method for preventing late complications due to the underlying genetic disease.

The indications for offering UCBT to our patients with SCN were lack of response to granulocyte colony-stimulating factor therapy and/or evolution towards either myelodysplastic syndrome or leukemia. Our results in this subgroup of patients also seem to be comparable to those obtained with bone marrow transplantation, supporting the concept that UCBT is a suitable option for these patients.^{29,30}

The results for patients with a diagnosis of CAMT or SDS also show that umbilical cord blood is a valid alternative to stem cell transplantation, the outcome of UCBT recipients being comparable to that in patients receiving unrelated bone marrow donor.³¹⁻³⁴

In conclusion, these results show that UCBT is a reasonable option for the treatment of patients with hereditary bone marrow failure syndromes, especially if a sibling donor is used. In patients given an unrelated UCBT, only cord blood units containing a high number of cells and with stringent HLA matching should be considered to improve the results.

Authorship and Disclosures

The information provided by the authors about contributions from persons listed as authors and in acknowledgments is available with the full text of this paper at www.haematologica.org.

Financial and other disclosures provided by the authors using the ICMJE (www.icmje.org) Uniform Format for Disclosure of Competing Interests are also available at www.haematologica.org.

Appendix

In addition to the authors' institutions, the Eurocord-EBMT transplant centers were as follows: Hôpital d'enfants de la Timone, Dr. Gerard Michel, Marseille, France; Hospital Vall d'Hebron, Dr. José Sanchez de Toledo Codina, Barcelona, Spain; Akdeniz University Medical School, Dr. M. Akif Yesilipek, Antalya, Turkey; Pediatric University Teaching Hospital, Dr. Sabina Sufliarska, Bratislava, Slovakia; St. Mary's Hospital, Dr. Josu de la Fuente, London, United Kingdom; Stanship Hospital Hematology/Oncology, Dr. Lochie Teague Auckland, New Zealand; Hôpital Saint-Justine, Dr. Michel Duval, Montreal, Canada; Hospital Amaral Carvalho, Dr. Vergilio Colunato, Jau, Brazil; Hospital for Children & Adolescents, Dr. Ulla Pitkälä, Helsinki, Finland; University Hospital, Dr. Bernhard Kremens, Essen, Germany; Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Dr. Isabel Badell Serra, Barcelona, Spain; University Children's Hospital, Dr. Johan Arvidson, Uppsala, Sweden; Inst. Portuguesa de Oncologia do Porto, Dr. António Campos, Porto, Portugal; Inst. Portuguesa Oncologia, Dr. Manuel Abecasis, Lisboa, Portugal; Ospedale Infantile Regina Margherita, Dr. Franca Fagioli Torino, Italy; King Faisal Specialist Hospital & Research Centre, Dr. Mahmoud Aljurf, Riyadh, Saudi Arabia; University Hospital Motol, Dr. Petr Sedlacek, Prague, Czech Republic; Edmund & Lily Safra Children's Hospital, Dr. Amos Toren, Tel-Hashomer, Israel; Hôpital Robert Debre, Dr. Jean-Hugues Dalle, Paris, France; Universitätsklinikum, Dr. Andt Borkhardt, Düsseldorf, Germany; Niño Jesus Children's Hospital, Dr. Miguel Angel Diaz, Madrid, Spain; Royal Hallamshire Hospital, Dr. John Snowden, Sheffield, United Kingdom; Hôpital de Haute-pierre, Dr. P. Lutz, Suresbourg, France; University of California in San Francisco, Moron Cowan, USA; Miami Children's Hospital Bone Marrow Transplantation, Dr. Charles August, USA.

References

- Sieff CA, Nisbet-Brown E, Nathan DG. Congenital bone marrow failure syndromes. *Br J Haematol*. 2000;111:30-42.
- Walne AJ, Dokal I. Advances in the understanding of dyskeratosis congenita. *Br J Haematol*. 2009;145 (2):164-72.
- Gazda HT, Sieff CA. Recent insights into the pathogenesis of Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol*. 2006;135(2):149-57.
- Ballmaier M, Germeshausen M. Advances in the understanding of congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 2009;146(1):3-16.
- Burroughs L, Woolfrey A, Shimamura A. Shwachman-Diamond syndrome: a review of the clinical presentation, molecular pathogenesis, diagnosis and treatment. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009;23 (2):233-48.
- Boxer LA, Newburger PE. A molecular classification of congenital neutropenia syndromes. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;49(5): 609-14.
- Teo JT, Klaassen R, Fernandez CV, Yanofsky R, Wu J, Champagne J, et al. Clinical and genetic analysis of unclassifiable inherited bone marrow failure syndromes. *Pediatrics*. 2008;122 (1):139-48.
- Gluckman E, Wagner JE. Hematopoietic stem cell transplantation in childhood inherited bone marrow failure syndrome. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41(2):127-32.
- Myers KC, Davies SM. Hematopoietic stem cell transplantation for bone marrow failure syndromes in children. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(3):279-92.
- Schrezenmeier H, Passweg J, Marsh JCW, Bacigalupo A, Bredeson CN, Bullorsky E, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood*. 2007;110(4):1397-400.
- Rocha V, Gluckman E. Eurocord and European Blood and Marrow Transplant Group. Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006;12(1 Suppl): S134-41.
- Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med*. 1989;321(17):1174-8.
- Gluckman E, Rocha V, Ionescu I, Bierings M, Harris RE, Wagner J, et al. Results of unrelated cord blood transplant in Fanconi anemia patients: risk factor analysis for engraftment and survival. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13(9):1073-82.
- Vigorito AC, Campregher PV, Storer BE, Carpenter PA, Moravec CK, Kiem HP, et al. Evaluation of NIH consensus criteria for classification of late acute and chronic GVHD. *Blood*. 2009;114(3):702-8.
- Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(12):1628-33.
- Rocha V, Wagner JE, Sobocinski K, Klein JE, Zhang M-J, Horowitz MM, Gluckman E. Graft versus host disease in children who have received a cord blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant registry working committee on alternative donor and stem cell sources. *N Engl J Med*. 2000;342(25):1846-54.
- Mac Millan ML, Walters MC, Gluckman E. Transplant outcomes in bone marrow failure syndromes and hemoglobinopathies. *Sem Hematol*. 2010;47(1):37-45.
- Locatelli F, Rocha V, Reed W, Bemaudin E, Ertem M, Grafakos S, et al. Eurocord Transplant Group. Related umbilical cord blood transplantation in patients with thalassemia and sickle cell disease. *Blood*. 2003;101(6):2137-43.
- Rocha V, Gluckman E. Eurocord-Netcord registry and European Blood and Marrow Transplant group. Improving outcomes of cord blood transplantation: HLA matching, cell dose and other graft- and transplantation-related factors. *Br J Haematol*. 2009;147(2):262-74.
- Rocha V, Broxmeyer HE. New approaches for improving engraftment after cord blood transplantation. *Biol Bone Marrow Transplant*. 2010;16(1 Suppl):S5126-32.
- De Lima M, Mc Mannis J, Gee A, Komanduri K, Couriel D, Andersson BS, et al. Transplantation of ex-vivo expanded cord blood cells using the copper chelator tetraethylenepentamine: a phase I/II clinical trial. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41 (9):771-8.
- Prasson F, Gualandi F, Podestà M, Raiola AM, Ithaci A, Piaggio G, et al. Direct intra-bone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I/II study. *Lancet Oncol*. 2008 Sep;9(9):831-9.
- Delaney C, Hemfeld S, Brasheim-Stein C, Voorhies H, Manger RL, Bernstein ID. Notch mediated expansion of human cord blood progenitor cells capable of rapid myeloid reconstitution. *Nat Med*. 2010;16 (2):232-6.
- Roy V, Perez WS, Eapen M, Marsh JC, Pasquini M, Pasquini R, et al. Bone marrow transplantation for Diamond-Blackfan anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005;11(8):600-8.
- Mugishima H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Fujisawa K, Tsukimoto I, for the Aplastic Anemia Committee of the Japanese Society of Pediatric Hematology. Hematopoietic stem cell transplantation for Diamond-Blackfan anemia: a report from the Aplastic Anemia Committee of the Japanese Society of Pediatric Hematology. *Pediatr Transplant*. 2007;11(6):601-7.
- Rocha V, Devergie A, Socie G, Ribaud P, Esperou H, Parquet N, et al. Unusual complications after bone marrow transplantation for dyskeratosis congenita. *Br J Haematol*. 1998;103 (1):243-8.
- Nobili B, Rossi G, De Stefano P, Zecca M, Giorgiani G, Ferrotta S, et al. Successful umbilical cord blood transplantation in a child with dyskeratosis congenita after a fludarabine-based reduced-intensity conditioning regimen. *Br J Haematol*. 2002;119 (2):573-4.
- Gungor T, Corbacioglu S, Storb R, Seger RA. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for treatment of dyskeratosis congenita. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31(5):407-10.
- Zeidler C, Welte K, Barak Y, Barriga E, Bolyard AA, Boxer L, et al. Stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia without evidence of leukemic transformation. *Blood*. 2000;95 (4):1195-8.
- Ferry C, Ouachee M, Leblanc T, Michel G, Notz-Carrere A, Tabrizi R, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in severe congenital neutropenia: experience of the French SCN register. *Bone Marrow Transplant*. 2005;35 (1):45-50.
- Al-Ahmedi A, Ayas M, Al-Jefri A, Al-Mahr M, Rifai S, El-Solh H. Allogeneic stem cell transplantation for patients with congenital amegakaryocytic thrombocytopenia (CAT). *Bone Marrow Transplant*. 2004;33 (8):829-31.
- Cesaro S, Oneto R, Messina C, Gibson BE, Buzyn A, Steward C, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for Shwachman-Diamond disease: a study from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol*. 2005;131 (2):231-6.
- Donadieu J, Michel G, Merlin E, Bordignon P, Montoux B, Beaupain B, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for Shwachman-Diamond syndrome: experience of the French neutropenia registry. *Bone Marrow Transplant*. 2005;36(9):787-92.
- King S, Germeshausen M, Strauss G, Welte K, Ballmaier M. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: a retrospective clinical analysis of 20 patients. *Br J Haematol*. 2005;131(5):636-44.

COPYRIGHT

Campinas, January 25th, 2011.

Haematologica Journal Office- Ferrata Storti Foundation,
This is to request for CPYRIGHT release of the following article published in
Haematologica for purpose of including in my Ms.C. thesis dissertation:

Bizzetto R, Bonfim C, Rocha V, Socié G, Locatelli F, Chan K, Ramirez O, Stein J, Nabhan S, Miranda E, Passweg J, de Souza CA, Gluckman E; Eurocord and SAA-WP from EBMT. Outcomes after related and unrelated umbilical cord blood transplantation for hereditary bone marrow failure syndromes other than Fanconi anemia. Haematologica. 2011 Jan;96(1):134-41.

This thesis is for academic use only and it is not going to be used for commercial, advertising or promotion purposes. I am planning in making 7 (seven) copies of my thesis. One of this copies will be displayed in the University (Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, SP, BRAZIL) library. In addition, an electronic version of the thesis will be made available at the University Thesis Database.

I thank you very much in advance.

Sincerely,

Renata Bizzetto

Hemocentro – Unicamp

Rua Carlos Chagas, no 480, Cidade Universitária Zeferino Vaz,
Barão Geraldo, Campinas-SP, Brazil, Cep:13083-878.

.....
Dear Dr. Bizzetto,

please use this mail as a permission granted to your needs.

To whom it may concern:

we herewith grant permission to re-use the article cited in your message below free of charge: this publication is intended for no-profit use. Any other use is discouraged and it will remain under copyright laws of the Ferrata Storti Foundation, Pavia, Italy. You are also obliged to correctly quote the original article reference (Bizzetto R, Bonfim C, Rocha V, Socié G, Locatelli F, Chan K, et al. Outcomes after related and unrelated umbilical cord blood transplantation for hereditary bone marrow failure syndromes other than Fanconi anemia. Haematologica 2011; 96(1):134-41).

Best regards,

Lorella Ripari

Haematologica Journal Office

Via Belli 4, 27100 Pavia, Italy, Phone: +39.0382.27129, Fax: +39.0382.394705

www.haematologica.org