Miriam Verônica Flor Park

Identificação e caracterização de candidatos ao transplante de células- tronco hematopoiéticas em uma coorte de pacientes com doença falciforme

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutora em Ciências

Programa de Ciências Médicas
Área de concentração: Distúrbios do Crescimento Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia
Orientador: Prof. Dr. Vanderson Geraldo Rocha

São Paulo
2020

Miriam Verônica Flor Park

Identificação e caracterização de candidatos ao transplante de células- tronco hematopoiéticas em uma coorte de pacientes com doença falciforme

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutora em Ciências

Programa de Ciências Médicas
Área de concentração: Distúrbios do Crescimento Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia
Orientador: Prof. Dr. Vanderson Geraldo Rocha

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Flor-Park, Miriam Verônica

Identificação e caracterização de candidatos ao transplante de células- tronco hematopoiéticas em uma coorte de pacientes com doença falciforme / Miriam Verônica Flor-Park -- São Paulo, 2020.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Distúrbios do Crescimento Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia.

Orientador: Vanderson Geraldo Rocha.

Descritores: 1.Anemia falciforme 2.Estudos transversais 3.Estudos de coortes 4.Índice de gravidade de doença 5.Transplante de células-tronco hematopoéticas 6.Terapêutica 7.Resultado do tratamento 8.Protocolos clínicos 9.Seleção de pacientes

USP/FM/DBD-299/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Aos meus pacientes e a todas as pessoas com doença falciforme, que possam encontrar a cura e o conforto, mas se isso não for possível, que encontrem o respeito, o amor, o acolhimento, a qualidade vida, o empoderamento.

Agradecimentos

A Deus, meu criador, pela vida, amparo e proteção.

Ao meu marido, Marcelo, meu amado companheiro. Meu exemplo de ser humano, médico, professor e cientista. Apoiador e incentivador incondicional nessa jornada insana pela busca do conhecimento, para quem não existe fome, noite ou cansaço se alguém precisa de ajuda. Que me ensinou a buscar a excelência, a dedicação, a perseverança, a esperança. E principalmente, a não desistir e não aceitar os muitos *Nãos* que encontrei no meio do caminho. Obrigada pelo seu apoio, sensibilidade, grandeza e generosidade.

Às minhas queridas filhas Viviane e Marina, meu bem mais precioso, razão da minha vida, pela alegria, energia e juventude, pelo amor, sorrisos e abraços, que me ensinam diariamente a graça da descoberta, da inovação e da humanidade, que com sua bondade e senso de justiça me fazem conservar a esperança em um futuro melhor.

À minha mãe Irma, pelo seu amor e apoio, seu exemplo de mulher de fé e perseverança, que abre e constrói caminhos, com sabedoria e o poder da ação. À minha família e meus irmãos, pelo incentivo e confiança. Às minhas queridas irmãs Márcia e Eunice, as *Flores no Asfalto*, pelas nossas preciosas conversas de trocas e apoio, que com tantas atribuições e afazeres, me mostraram que é possível agregar todos os anseios de ser uma mulher madura e realizada no século 21.

Aos meus coautores do Estudo REDS-III pelo trabalho, aprendizado e apoio. Especialmente à Profa. Dra. Ester Sabino, exemplo de mulher e líder que busca a excelência, e com sua inteligência, determinação e responsabilidade liderou e concluiu um estudo multicêntrico brasileiro com quase 3000 pacientes, pelo inestimável aprendizado, incentivo e oportunidades no Brasil, África e EUA. To my coauthors Shannon and Brian, for the orientation in the process of writing the papers, for your dedication, experience, patience,

excellent English, for making this work possible. À Mina e Isabel, pela valiosa contribuição no cálculo do escore e análise no estudo do Escore de gravidade. Aos investigadores do REDS-III Liliana, Anna Barbara, Aderson, Paula Loureiro, Claudia Máximo, Rosimere, Daniela, Paula Blatyta, André, Claudia di Lorenzo, pelos comentários, aprendizado, apoio e companheirismo. A todos os participantes do *REDS team*, pela convivência, companheirismo, colaboração e aprendizado.

I wish to acknowledge the support from the University of California, San Francisco's International Traineeships in AIDS Prevention Studies (ITAPS), U.S. NIMH, R25MH123256 and the Starr Foundation Scholarship Fund. To the UCSF faculty staff, especially Krysia, Debbie, Ali, Nancy, and Brian, my mentor Paula Blatyta, and all mentors, mentees and also Ritu. For sharing capacity, experience, patience and dedication, for reviewing my paper in details, contributing to high quality and precision.

Aos meus colegas do SOH – ITACI/ICr- HCFMUSP, Marlene, Daniele, Fernanda e Jorge, pelo companheirismo, apoio e aprendizado.

Ao Prof. Dr. Vicente Odone Filho e aos outros professores da FMUSP, pelo exemplo, sabedoria e apoio incondicionais.

Aos meus colegas hematologistas e hematologistas pediatras, por me acompanharem nessa jornada, pelo incentivo e apoio.

Aos meus residentes de agora e de sempre, pela curiosidade e inteligência, que com suas múltiplas perguntas e inquietações sempre me incentivaram a procurar as respostas.

À Helen, secretária do Departamento de Pediatria da FMUSP e à Mariza, bibliotecária do ICr, pela sua pronta ajuda e apoio.

Aos pacientes do REDS e suas famílias, pela sua disposição em participar da pesquisa.

Ao meu querido orientador Prof. Dr. Vanderson Rocha, pelo seu exemplo de

dedicação, sabedoria, orientação, iniciativa e incentivo. Com tantos afazeres em suas inúmeras funções, sempre encontrou tempo e espaço para discutir comigo os conceitos, os resultados, para me chamar à atenção sobre o que é mais importante. Pelo seu carinho e dedicação aos pacientes e obstinada busca pela cura das pessoas com doença falciforme, minha gratidão eterna.

Epígrafe

“Tudo posso naquele que me fortalece” (Filipenses 4:13)

Normalização

Esta dissertação de tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento da publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*

Sumário

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	12
RESUMO	15
ABSTRACT	17
APRESENTAÇÃO.....	19
1. INTRODUÇÃO	20
1.1. Definição e fisiopatologia da doença falciforme	20
1.2. Manifestações clínicas da DF	21
1.3. Epidemiologia da DF e políticas públicas no Brasil	24
1.4. Os estudos de coorte da DF	26
1.5. Mortalidade, morbidade e escores de gravidade da DF	30
1.5.1. Mortalidade.....	31
1.5.2. Morbidade.....	32
1.5.3. Escores de gravidade.....	34
1.6. Tratamento da DF	36
1.7. Transplante de células- tronco hematopoiéticas na DF	39
2. JUSTIFICATIVA.....	45
3. OBJETIVOS.....	47
3.1. Artigo 1. Candidatos ao TCTH	47
3.2. Artigo 2. Escore de gravidade da DF	47
4. MÉTODOS.....	48
4.1. Ética	48
4.2. Casuística.....	48
4.3. Desenho do estudo e análise	48
5. ARTIGOS	50
5.1. Artigo 1. Citação completa.....	50
5.2. Artigo 2. Citação completa	75
6.1. Análise crítica do artigo 1.....	104
6.2. Análise crítica do artigo 2.....	106
7. CONCLUSÕES	110
8. ANEXOS	112
9. REFERÊNCIAS.....	116
APÊNDICES.....	122

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

2,3 DPG: 2,3 difosfoglicerato

AF: anemia falciforme

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AS: heterozigose para Hb A e Hb S, refere-se ao traço falciforme.

ATG: linfoglobulina anti-timocítica

AUC: area under the curve (refere-se à curva ROC)

AVE: acidente vascular encefálico

Ben: haplótipo Benin

Beta-HCG: gonadotrofina coriônica humana, refere-se ao teste de gravidez

CAM: haplótipo Camarões

CAR: haplótipo CAR (República Centro Africana) ou Bantu

CSSCD: Cooperative Study of Sickle Cell Disease

CVO: crise vasclusiva

DCV: doença cerebrovascular

DECH: doença do enxerto contra hospedeiro

DF: doença falciforme

DHL: desidrogenase láctica

DTC: dopplertranscraniano

EUA: Estados Unidos da América

FDA: Food and Drug Administration

FMRP-USP: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

FS: genótipo FS (presença de Hb F e HbS)

G6PD: glicose 6 fosfato desidrogenase

GWAS: genome wide association study; estudo de associação de genoma inteiro

Hb C: hemoglobina C

Hb D: hemoglobina D

Hb F: hemoglobina fetal

Hb S: hemoglobina S

Hb: hemoglobina

HBB: gene HBB, que codifica a formação da cadeia da globina Beta

HEMORIO: Hemocentro do Rio de Janeiro

HIV: vírus da imunodeficiência adquirida

HLA: antígeno de histocompatibilidade

HSCT: Hematopoietic stem cell transplantation

HU: hidroxiureia, hidroxycarbamida

ICC: insuficiência cardíaca congestiva

MO: medula óssea

MoH: Ministry of Health

MS: Ministério da Saúde (do Brasil)

MTX: metotrexate

N/A: não se aplica

NIH: National Institutes of Health (EUA)

NO: óxido nítrico

OMS: Organização Mundial de Saúde

PAs: pressão arterial sistólica

PNTN: Programa nacional de triagem neonatal (Brasil)

pO₂: pressão parcial de Oxigênio

PS: fosfatidilserina

REDS-IV-P: Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study REDS-IV-Pediatric

REDSIII: Estudo longitudinal multicêntrico da doença falciforme no Brasil, Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III

RNM: ressonância nuclear magnética

ROC: Receiver Operating Characteristic

S-Beta⁺ ou Sβ⁺: estado de heterozigose para o gene S e mutação da beta-talassemia, com síntese residual de cadeia beta normal; refere-se à doença falciforme S-Beta⁺

S-Beta⁰ ou Sβ⁰: estado de heterozigose para o gene S e mutação da beta-talassemia, sem síntese de cadeia beta normal; refere-se à doença falciforme S-Beta⁰

S-HPFH= estado de heterozigose para o gene S e persistência hereditária de Hb Fetal

S-KW= S-KWoolwich: estado de heterozigose para o gene S e o gene da Hb KWoolwich

S-Quebec CHORI: estado de heterozigose para o gene S e o gene da Hb Quebec CHORI

SC ou DF SC: estado de heterozigose para o gene S e o gene C, que leva à hemoglobinopatia SC, genótipo SC ou doença falciforme SC

SCA: sickle cell anemia

SCD: sickle cell disease

SD ou DF SD: estado de heterozigose para o gene S, juntamente com a Hb D, que leva à hemoglobinopatia SD

SEN: haplótipo Senegal

SLE: sobrevida livre de eventos

SNC: sistema nervoso central

SNP: single nucleotide polymorphism, polimorfismo de nucleotídeo único

SP: sangue periférico

SS: genótipo SS, anemia falciforme

ST: sobrevida total

STA: síndrome torácica aguda

SUS: Sistema Único de Saúde

TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido

TCTH: transplante de células- tronco hematopoiéticas

TTC: terapia de transfusão crônica

USD: dólar americano

VCM: volume corpuscular médio

RESUMO

Flor-Park MV. *Identificação e caracterização de candidatos ao transplante de células- tronco hematopoiéticas em uma coorte de pacientes com doença falciforme* [tese] São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

Introdução: O transplante de células de tronco hematopoiéticas (TCTH) é o único tratamento curativo atualmente disponível para a doença falciforme (DF) no Brasil. A Portaria do Ministério da Saúde (MS) do Brasil (2018) estabelece a inclusão do TCTH no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da DF, e determina que o SUS irá financiar este tratamento para pacientes com determinadas indicações. **Objetivos:** Essa tese é composta pela compilação de dois artigos com o objetivo geral de identificar e caracterizar os candidatos ao transplante em uma coorte de pacientes com DF no Brasil. Os objetivos específicos de cada artigo são: *Artigo 1)* Identificar, caracterizar e comparar os pacientes com 0 e ≥ 1 indicação de TCTH conforme as indicações da Portaria do MS e identificar quantos candidatos ao TCTH tinham irmãos sem DF. *Artigo 2)* aplicar um escore de gravidade para os participantes e avaliar se o escore se relaciona com as indicações de transplante. **Métodos:** Este é um estudo de corte transversal dos dados de recrutamento de uma coorte de 2793 pacientes, o Estudo Longitudinal Multicêntrico da doença falciforme no Brasil- REDS-III. *Artigo 1)* O estudo comparou características clínicas e laboratoriais e de tratamento dos pacientes com 0 e ≥ 1 indicação para o TCTH conforme o MS, e identificou quantos tinham pelo menos um irmão sem doença falciforme (potencial doador para o transplante). *Artigo 2)* O estudo aplicou um escore de gravidade que foi desenvolvido com um Modelo bayesiano para prever o risco de morte em 5 anos para um paciente com DF. O escore é dado pela “*Disease severity score calculator*”. O estudo comparou os escores dos participantes com e sem indicação para o transplante, e analisou a acurácia do escore em diferenciar esses dois grupos, através da curva ROC (Receiver Operating Characteristic). **Resultados:** *Artigo 1)* Dos 2063 pacientes do grupo *anemia falciforme*, 152 das 974 crianças (16%) e 279 dos 1090 adultos (26%) tinham

pelo menos uma indicação para o TCTH. As indicações mais comuns foram: acidente vascular encefálico (n= 239); necrose avascular (n=96); priapismo (n=82), doença cerebrovascular (n=55); > 2 crises vasoclusivas no último ano (n=38); presença de aloanticorpos em pacientes sob programa de transfusão crônica (n=18) e > 2 episódios de síndrome torácica aguda no último ano (n=11). Das 152 crianças e 279 adultos candidatos ao transplante, 77 (50%) e 204 (70%), respectivamente, tinham pelo menos um irmão sem doença falciforme que poderia ser doador para o transplante. *Artigo 2)* As medianas dos escores foram significativamente mais altas no grupo com indicação de transplante em comparação com os sem indicação, para todas as idades. Quando o estudo foi estratificado entre adultos e crianças, os escores foram maiores em crianças sem indicação para o transplante, e não houve diferença entre os escores dos dois grupos de adultos. Quando visualizamos a distribuição dos escores nos “*box plots*”, o estudo não encontrou diferença entre os pacientes com e sem indicação para o transplante, de qualquer idade. A curva ROC não mostrou um escore que fosse um ponto de corte entre candidatos e não candidatos ao TCTH. **Conclusões:** em uma grande coorte de pacientes com doença falciforme, 16% das crianças e 26% dos adultos têm pelo menos uma indicação para o TCTH. O escore de gravidade não demonstrou acurácia em diferenciar os candidatos e não candidatos ao transplante. Este estudo mostrou dados importantes para estimar custos e infraestrutura que seriam necessários para implementar o transplante em um sistema público de saúde. Mostrou ainda que as indicações de transplante podem não refletir a gravidade da doença e o risco de morte dos pacientes.

Descritores: Anemia falciforme; Estudos transversais; Estudos de coortes; Índice de gravidade de doença; Transplante de células-tronco hematopoéticas; Terapêutica; Resultado do tratamento; Protocolos clínicos; Seleção de pacientes.

ABSTRACT

Flor-Park MV. *Identification and characterization of hematopoietic stem cell transplant candidates in a sickle cell disease cohort* [thesis] São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2020.

Introduction: Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the only currently available curative treatment for sickle cell disease (SCD) in Brazil. The Brazilian Ministry of Health (MoH) Regulation (2018) establishes the inclusion of HSCT in the National therapeutic guidelines of SCD, and states that the Public Health System will pay for the procedure for patients under certain criteria.

Objectives: This Thesis is a combination of two articles with the objective of identify and characterize candidates for transplant in a cohort of SCD patients in Brazil. The specific objectives are: *Article 1)* Identify, characterize and compare patients with 0 and ≥ 1 indications for HSCT according to MoH Regulation and identify how many candidates have full siblings without SCD. *Article 2)* To apply a severity score and evaluate if there is a correlation with transplant indications.

Methods: This is a cross-sectional study of recruitment data of 2793 patients of the REDS-III Brazil SCD cohort (Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III). *Article 1)* The study compared clinical and laboratory characteristics of patients with 0 and ≥ 1 indications for HSCT according to MoH, identified how many had at least one sibling without SCD (potential donor for transplant) *Article 2)* A Bayesian network modeling was created to predict the risk of death in 5 years in a patient with SCD). This study applied this score through the “*Disease severity score calculator*”. It compared scores of patients with and without indications for HSCT, and analyzed the accuracy of the score in distinguish both groups of patients, with a ROC curve (Receiver Operating Characteristic). **Results:** *Article 1)* Of 2063 patients of the group *sickle cell anemia*, 152 of 974 children (16%) and 279 of 1090 adults (26%) had at least one indication for transplant. The most common indications were: stroke (n=239); avascular necrosis (n=96); priapism (n=82); cerebrovascular disease (n=55); > 2 vasocclusive episodes in the last year (n=38); presence of

alloantibodies in a patient under chronic transfusion program (n=18) and > 2 episodes of acute chest syndrome in the last year (n=11). Of 152 children and 279 adults who had at least one indication, 77 (50%) and 204 (70%), respectively, had at least one full sibling without SCD who could serve as a donor for transplant. *Article 2*) Median scores were significantly higher in the group with at least one indication, when compared to those without indication, for all ages. When stratified in age groups, scores were higher in the group of children without any indication, and there was not difference of scores in the two groups of adults. There was not an obvious difference between groups with 0 and ≥ 1 indication for transplant as shown in box plots, for all ages. ROC curve did not demonstrate an obvious cutoff of score that could distinguish candidates and non-candidates for transplant. **Conclusions:** in a large cohort of SCD patients, 16% of children and 26% of adults have at least one indication for HSCT. The severity score did not show accuracy to distinguish candidates from non-candidates for transplant. This study revealed important data to estimate costs and infrastructure that would be necessary to implement HSCT in a public health system. The study also showed that indications for transplant could not replicate the severity of the disease and the risk of death.

Descriptors: Anemia, sickle cell; Cross-sectional studies; Cohort studies; Severity of illness index; Hematopoietic stem cell transplantation; Therapeutics; Treatment outcome; Clinical protocols; Patient selection.

APRESENTAÇÃO

Esta tese é composta de compilação de dois artigos a seguir que serão descritos e analisados:

Artigo 1. “Identification and characterization of hematopoietic stem cell transplant candidates in a sickle cell disease cohort”

Artigo 2. “Severity score for mortality is not predictive of indication for hematopoietic stem cell transplantation in children and adults with sickle cell disease”.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Definição e fisiopatologia da doença falciforme

As síndromes falciformes são caracterizadas pela presença da HbS. Um defeito estrutural da molécula de Hb – a substituição do ácido glutâmico por valina na posição 6 da cadeia da beta globina - é decorrente da mutação no gene *HBB* (11p15.4) [*Glu6Val*, rs334]. A forma mais grave, anemia falciforme, ou AF (SCA [MIM: 603903]),⁽¹⁾ ocorre no estado homozigótico, porém a HbS pode estar em heterozigose, quando associada a outros defeitos de Hb, como as talassemias, HbC, D e outras. A estes estados de dupla heterozigose, chamamos de doença falciforme (DF S-Beta0, DF S-Beta+, DF SC, DF SD, etc). O heterozigoto AS, que tem apenas um alelo com a mutação, é denominado traço ou estigma falciforme, e não apresenta sintomas da doença, exceto em condições extremas de hipóxia, acidose e desidratação.⁽²⁾

A HbS mutante tem propriedades bioquímicas diferentes da HbA, que resultam em uma série complexa de processos fisiopatológicos, iniciados com o fenômeno de polimerização da HbS desoxigenada, e que levam a uma gama de alterações nos tecidos e potencialmente em todos os órgãos, e diferentes manifestações clínicas agudas e crônicas, prejuízo da qualidade de vida e sobrevida reduzida para o indivíduo com a doença.

Após o período de latência, o polímero de desoxi- HbS aumenta em tamanho e interage com a membrana do eritrócito, modificando a sua estrutura e funções, e alterando o formato da célula, que assume a conhecida “forma de foice”. O dano oxidativo da membrana celular expõe fosfatidil-

serina (PS) e outras moléculas de adesão, o que ativa o sistema de coagulação e favorece a adesão ao endotélio vascular. A alteração dos canais de troca de íons leva a alteração da homeostase dos íons, o que contribui para a desidratação celular, o que favorece ainda mais a polimerização. Além disso, interferem na polimerização a concentração intracelular de HbS, pO₂, temperatura, pH, níveis de 2,3-DPG, e presença de outras moléculas de Hb. As hemácias danificadas sofrem redução da sua deformabilidade, o que leva ao fenômeno de vasoclusão, que compromete a microcirculação, que produz isquemia tecidual adjacente. Os eritrócitos falciformes têm sua sobrevivência reduzida, sofrem hemólise extra e intravascular, com a liberação de produtos intracelulares como Hb livre, heme, arginase, adenina, que causam stress oxidativo, alterações e prejuízo no metabolismo do NO, vasoconstrição, além de ativação do sistema imune inato. Esses produtos também levam à ativação das plaquetas e das proteínas da coagulação, adesão dos leucócitos ao endotélio, ativação da inflamação, vasoclusão e remodelamento vascular, disfunção endotelial.(3, 4)

1.2. Manifestações clínicas da DF

Apesar de ser produto de uma única mutação, a DF se manifesta em diferentes fenótipos, o que representa um desafio para os estudos de gravidade e prognóstico. Os subfenótipos são classificados em 2 grandes grupos, cujas manifestações podem ter intensidades diferentes e podem se sobrepor: (I) hiperviscosidade/ vasoclusão/ hematócrito mais alto (crises vasoclusivas, STA, osteonecrose) e (II) hemólise/ vasculopatia/ disfunção endotelial (AVC/ doença cerebrovascular, hipertensão pulmonar, úlcera de perna, priapismo). (5) Kato et al (2018) acrescentam dois fenótipos a esses:

(III) Hb fetal elevada (em geral HbF= 10- 25%, com gravidade menor), (IV) subfenótipo “*de dor*” (sensibilidade à dor, relacionado com o gene *GCH1*, associado à maior sensibilidade à dor). (3)

As manifestações agudas e crônicas ocorrem durante toda a vida do paciente, com início ao redor dos 6 meses de idade a partir da queda da concentração de HbF. Elas acontecem em praticamente todos os órgãos e sistemas, e levam ao progressivo comprometimento da função e posterior falência dos mesmos.

O marcador da doença é a crise vasclusiva, ou crise álgica, ou crise de dor, que tem alto impacto na morbidade e na qualidade de vida do paciente. Nos lactentes, a CVO pode se manifestar como dactilite, ou síndrome mão- pé, uma vasclusão nas falanges, com dor, edema e frequentemente calor local. (6)

Dividindo-se por sistemas e aparelhos, podemos encontrar um grande número de manifestações agudas e crônicas nos diferentes órgãos e sistemas. Assim, encontramos nos pulmões: STA, hipertensão pulmonar, doença pulmonar crônica; no baço: infarto esplênico, asplenia funcional, e consequente susceptibilidade a infecções (sepse), sequestro esplênico; no sistema hematopoiético: anemia hemolítica crônica, e consequente hipodesenvolvimento pôndero- estatural, crise aplástica; nos ossos: necrose avascular, osteopenia, infartos ósseos, fraturas por insuficiência, osteomielite; no sistema urinário: microalbuminúria, proteinúria, hipostenúria, necrose papilar, insuficiência renal; no SNC: AVE isquêmico, AVE hemorrágico, infartos silenciosos, ataque isquêmico transitório, disfunção neuro- cognitiva,

meningite, dor crônica; nos olhos: retinopatia proliferativa, hifema, glaucoma; no fígado e vias biliares: hepatopatia falciforme, colelitíase; no sistema reprodutor masculino: priapismo, atraso puberal, disfunção erétil; no sistema reprodutor feminino: complicações da gestação (materna e fetal); no sistema cardiovascular: cardiomegalia, disfunção diastólica; na pele: úlceras de perna; sistema vascular: tromboembolismo venoso.(3, 4)

Em todas as faixas etárias, modificadores genéticos, como haplótipos da beta-globina, co-herança com outros defeitos de beta globina (estado de dupla heterozigose) e co-herança de alfa talassemia podem influenciar o curso clínico da doença, assim como o nível de Hb, concentração de Hb fetal, presença de deficiência de G6PD, porcentagem de reticulócitos, leucocitose, níveis de DHL. (4, 5, 7-11)

Algumas comorbidades podem influenciar o curso clínico da DF, como asma, má nutrição, infecções, malária, poluição ambiental, tabagismo, pobreza, com o agravamento ou precipitação de CVO ou STA.(3, 12, 13) Além disso, fatores sócio- econômicos, políticos e culturais, como o acesso à educação, ao trabalho, ao saneamento básico, bem como acesso aos serviços de saúde também modificam o prognóstico da doença.(13) Outras doenças estão associadas à DF, como depressão, ansiedade e distúrbios do sono, porque podem aumentar a sensibilidade à dor, e podem estar sub-diagnosticadas e pouco reconhecidas nos pacientes com DF.(3)

Devido à complexidade dos fenótipos da doença, da variabilidade da intensidade e da extensão das alterações encontradas, vários autores têm empreendido esforços em realizar estudos de prognóstico, morbidade e

mortalidade em busca de fatores de risco ou marcadores da doença que possam estabelecer níveis de gravidade para direcionar o tratamento e as intervenções.

1.3. Epidemiologia da DF e políticas públicas no Brasil

As hemoglobinopatias são as doenças monogênicas mais comuns no mundo.(14) A DF foi reconhecida como um problema global de saúde pública pela OMS, que recomendou medidas especiais para suporte, informação, diagnóstico, controle e tratamento.(15) É considerada uma causa de incapacidade, com perda de anos de vida devido à morte prematura, segundo a publicação “*Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study (GBD) 2017*”.(16)

Estima-se que nasçam anualmente cerca de 300.000 crianças com DF no mundo, com estimativa do aumento para 400.000 nascimentos por ano até 2050, especialmente na África subsaariana, com destaque para a Nigéria, Congo, e também na Índia.(17) Os dados não são precisos, e estão subestimados pois vários países com alta prevalência não tem programas universais de triagem neonatal, não há notificação e publicações que retratam a situação real em todos os locais com alta prevalência.(18)

No Brasil, a DF foi incluída nas doenças testadas pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) devido à necessidade do diagnóstico e intervenções precoces.(19) Assim, a triagem universal para hemoglobinopatias de todos os recém-nascidos no território brasileiro é garantida por lei, que também prevê a integralidade da atenção, o adequado seguimento das pessoas portadoras de DF, capacitação de equipes, exames de diagnóstico, acesso a medicamentos e insumos. Estes benefícios foram

instituídos com a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias em 2005.(20)

Contudo, a prevalência da DF é maior na população afrodescendente, que enfrenta agravos e riscos específicos à saúde devido ao preconceito e frequentemente a condições socioeconômicas desfavoráveis. Assim, a DF foi incluída nas ações da Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da População Negra e nos artigos 187/188 da Portaria MS/GM no 2.048, de 3 de setembro de 2009 que regulamenta o SUS.(21, 22)

A partir dos dados do PNTN, o Ministério da Saúde calcula que atualmente haja 25.000 a 50.000 pessoas com DF no país todo.(23) Segundo as últimas estimativas, a prevalência do gene Beta- S é de 1,2- 10,9%; do genótipo FS (anemia falciforme) é de <0,1% a 0,2%; do genótipo SC é de <0,1 a 0,9%, e estes números variam nos diferentes estados, refletindo a heterogeneidade da população brasileira.(24) Em 2014, a incidência de recém- nascidos diagnosticados com DF foi de 1:650 na Bahia, 1: 1.300 no Rio de Janeiro e 1: 13.500 em Santa Catarina.(21) E em 2016, estima-se que nasceram 1071 crianças com doença falciforme em todo o território brasileiro.

(3)

Essas informações de prevalência e incidência, bem como dados de mortalidade, hospitalizações e manifestações clínicas, são de extrema importância para o dimensionamento de recursos materiais, humanos e financeiros necessários para a implantação de medidas de prevenção e assistência aos pacientes. Pela necessidade do melhor conhecimento da situação da DF no Brasil, para planejar as ações de diagnóstico e tratamento

dos doentes, o MS desenvolveu e estabeleceu o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme através da Portaria Conjunta número 05, de 19 de fevereiro de 2018, que tem como objetivo delinear os critérios diagnósticos e terapêuticos para a DF. O Protocolo instrui sobre os critérios de inclusão e exclusão para a administração de hidroxiureia, de penicilina profilática e também para o transplante de células- tronco hematopoiéticas. Além disso, versa sobre a estruturação dos centros de referência, sobre o Protocolo de prevenção do AVE através da realização do DTC, transfusões regulares e quelação de ferro.(23)

1.4. Os estudos de coorte da DF

Para conhecer a história natural da doença e as características dos pacientes, ao longo do tempo foram desenvolvidos estudos populacionais e de coorte em vários países. Na Jamaica, o estudo de Serjeant, iniciado em 1973, acompanhou, dentre 100.000 nascimentos consecutivos em Kingston, as crianças que foram diagnosticados com AF.(25) Nos EUA, o CSSCD (*Cooperative Study of Sickle Cell Disease*) colheu dados epidemiológicos, sobre o crescimento, desenvolvimento e complicações clínicas de aproximadamente 3000 pacientes com DF.(26) Estudos mais recentes mostraram que o curso clínico da doença se modificou significativamente nos países desenvolvidos e em desenvolvimento em comparação com os da década de 1970, com destaque à redução da mortalidade em crianças, e à melhora da qualidade de vida.(27) Porém a mortalidade em adultos não se modificou significativamente com o passar do tempo, e há ainda outros desafios que se impõem em todos os países, principalmente na África, onde estudos relatam que a mortalidade antes dos 5 anos de idade pode variar de

50 a 90%.(28)

No Brasil, no estado de Minas Gerais, 1396 crianças foram diagnosticadas com DF pela triagem neonatal no período de 1998- 2005 (1:1300) sendo 54,7% SS/S-Beta0, 39,7% SC, e o restante S-Beta+ e SD.(29) Lobo et al (2018) relatam que num período de 10 anos (2000-2010) nasceram no Rio de Janeiro 912 pacientes com DF, sendo 70% SS, 20% SC, 2,8%SD e 5% S-Beta+. As principais complicações encontradas foram: infecções, STA, CVO, anemia hemolítica, sequestro esplênico. A taxa de sobrevivência aos 10 anos foi de 94%. A taxa de mortalidade foi de 3,7% nos 10 anos do estudo. As causas de óbito mais frequentes foram: STA (36%), sepse (31%) e sequestro esplênico (21%).(30)

Os estudos dos haplótipos demonstraram a heterogeneidade da população brasileira e dos indivíduos com DF. No Brasil o haplótipo Bantu (ou CAR) é o mais prevalente (55 a 73%), seguido do Benin (27 a 45%) e Camarões (~2%), conforme estudos realizados em populações dos estados de SP, RJ, BA, RS. A frequência do haplótipo CAR encontrada em algumas cidades foi descrita por Naoum: Belém (66%), Salvador (55%), Ribeirão Preto (37%), Rio de Janeiro (61%), e Porto Alegre (79%), seguido do haplótipo Benin com frequência média de 32%. O terceiro haplótipo identificado na amostragem das cinco cidades foi o Senegal, variável entre 0 e 3%. Destaca-se que a mistura dos haplótipos CAR e Benin ocorreu em 22 a 66% dos indivíduos analisados.(31) Lyra et al (2005) estudaram 71 pacientes nas cidades de São Paulo e em Salvador, e encontraram predominância do haplótipo Benin em Salvador e CAR em São Paulo. Encontrou-se a deleção

de alfa-talassemia $a_2^{3.7kb_thal}$ em 28,2% dos participantes em Salvador e em 22% em São Paulo. O AVE foi mais frequente no genótipo Ben/CAR em Salvador e CAR/CAR em São Paulo.(32) Figueiredo et al (1996) descreveram 85 pacientes de São Paulo e da região de Campinas, sendo que 17% tinham deleção do gene de alfa-talassemia, 36% foram CAR/CAR, 47% CAR/Ben, 11% Ben/Ben, e 5% CAR/Atípico. Não foi encontrado o haplótipo Senegal entre os participantes do estudo.(33) Bezerra et al (2007) relataram maior frequência de haplótipos CAR em 74 pacientes em Pernambuco diagnosticados através do PNTN, com baixa frequência do haplótipo Benin.(34) Em MG, Leal et al (2015) encontraram entre 61 pacientes da região de Uberaba, 64,8% de haplótipo CAR, e essa predominância foi observada também em Fortaleza, Rio Grande no Norte, Porto Alegre.(35) Em Belo Horizonte, Belisário et al (2011) avaliaram 221 crianças do PNTN de MG, e encontraram 39% de frequência do genótipo CAR/CAR, 33% de CAR/Ben, e 24% de Ben/Ben. Este estudo não encontrou associação significativa entre os haplótipos e variáveis laboratoriais e manifestações clínicas, o que concorda com os achados do estudo estadunidense “*Baby-Hug*”.(36) (9)

O Estudo Longitudinal Multicêntrico da Doença Falciforme no Brasil-REDSIII foi patrocinado pelo “*National Institutes of Health*” (NIH), e recrutou 2793 pacientes com DF em 6 cidades brasileiras (Recife, Belo Horizonte, Juiz de Fora, Montes Claros, Rio de Janeiro e São Paulo) no período de 2013-2015. Outros centros foram convidados a participar do estudo, porém os hemocentros localizados nessas cidades efetivamente fizeram parte da composição do estudo. Os objetivos do estudo REDS-III foram: (1)

estabelecer uma coorte de pacientes com DF no Brasil e criar uma base de dados eletrônica para centralizar informações clínicas e de transfusão; (2) criar um biorepositório com amostras dos participantes; (3) caracterizar mudanças em marcadores inflamatórios em resposta a transfusões através da análise de painéis de citocinas em amostras seriadas pós-transfusionais; (3) realizar um estudo de associação de genoma inteiro para identificar polimorfismos de nucleotídeo único (*SNPs*) associados ao risco de aloimunização em todos os pacientes, com e sem aloanticorpos eritrocitários; (4) avaliar os fatores associados com a infecção pelo HIV na população de pacientes com DF no Brasil, e descrever os desfechos da infecção pelo HIV na população de indivíduos com DF. Carneiro-Proietti et al. (2018) descreveram as características sócio-demográficas, clínicas e genéticas coletadas dos dados de recrutamento da coorte REDSIII: 70,7% eram SS, 23% SC, 3% S β 0, 2,9% S β +. (37) Já haviam sido transfundidos pelo menos uma vez na vida 89% dos adultos e 75% das crianças. Estavam em regime de transfusão crônica 9,2% dos adultos e 10,6% das crianças. Estavam em uso de hidroxiureia (HU) 36,3% dos adultos e 29,3% das crianças. Em relação aos eventos nos últimos 12 meses, foram encontrados, entre os adultos e crianças, respectivamente: hospitalizações 29% e 31,7%, CVO 22,5% e 20%, STA 7,8% e 16%. Para adultos e crianças, respectivamente, foram encontradas as seguintes frequências das complicações: AVE 9,2% e 6,3%, esplenectomia 6,6% e 15,2%, colecistectomia 35% e 11%, priapismo (somente sexo masculino) 23% e 6,9%, sequestro esplênico 7,1% e 25%, úlceras de perna 17,8% e 0,7%. A comparação dos dados de genoma dos participantes através da técnica desenvolvida pelo estudo (*TM Array*[®]) com a

população do “1000 Genome Project (1000G) reference population” revelou que a coorte REDS-III é uma população heterogênea, que não se distribui de maneira semelhante à população de referência. Os gráficos da comparação estão ilustrados na publicação.(37) Além dessa publicação, outras análises desta coorte já foram publicadas e outras estão em andamento. Informações sobre os programas REDS-III e REDS-IV-P (Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study REDS-IV-Pediatric) podem ser encontradas no sítio: <https://redsivp.com>(38) e as referências às publicações podem ser encontradas no sítio: <https://redsivp.com/reds-iii/>.(39)

Estes estudos representam fonte importante de informação e fornecem elementos para o dimensionamento das demandas de prevenção e tratamento para os doentes e podem balizar as ações dos gestores de saúde.

1. 5. Mortalidade, morbidade e escores de gravidade da DF

A gravidade na doença falciforme pode ser definida como o risco de morte ou a intensidade da morbidade com impacto na qualidade de vida do indivíduo. Outra definição é a taxa e extensão dos danos reversíveis e irreversíveis que ocorrem no processo da DF, que resultam em um impacto com necessidade de intervenção médica.(40) Estudos que utilizaram diferentes desenhos e populações foram desenvolvidos para estabelecer os riscos e marcadores que influenciam a mortalidade e a morbidade do paciente com DF.

Para estudar a mortalidade, os estudos de coorte avaliaram os pacientes que morreram em determinado período, com respeito à taxa de mortalidade, idade, causas, circunstâncias do óbito e fatores de risco.

1.5.1. Mortalidade

Num estudo clássico, Platt et al. (1994) descreveram entre os adultos participantes do CSSCD, com idade igual ou superior a 20 anos, que o risco de morte estava relacionado aos seguintes fatores: nível de HbF abaixo de 8,6%, $Hb \leq 7,1$ g/dL, número de leucócitos $>15.000/mm^3$, doença renal crônica, convulsões e genótipo SS em comparação com o genótipo SC. Pela dificuldade de se identificar exatamente a causa de morte, foram avaliadas as circunstâncias em que o paciente estava na ocasião do óbito, a saber, em ordem de frequência: CVO, desconhecida, doença renal crônica, AVE, peri-operatório, trauma, infecção, morte súbita em casa, insuficiência cardíaca congestiva (ICC), STA, outras. A idade mediana de óbito foi de 48 anos para mulheres e 42 anos para homens com AF.(7)

Considerando a população pediátrica do CSSCD, Miller et al (2000) descreveram que para as crianças que foram acompanhadas desde o diagnóstico no período neonatal, a dactilite antes de completar 1 ano, Hb basal <7 g/dL, e leucocitose no segundo ano de vida se revelaram como fatores de doença grave, traduzido por morte, AVE, ≥ 2 episódios de CVO, ou ≥ 1 episódios de STA.(11)

No Brasil, Fernandes et al (2010) relatam que das 1396 crianças diagnosticadas pelo PNTN em Minas Gerais no período de 1998- 2005, 78 morreram no período do estudo (63 SS, 12 SC, 3 S-Beta+), sendo 71% antes dos dois anos de idade. As causas mais frequentes foram infecção (pneumonia e sepse, 38,5%), sequestro esplênico (33% dos casos), e outras. A taxa de sobrevida encontrada aos 5 anos para os genótipos SS foi

de 89,4%, para os SC 97,7%, e 94,7% para os S-Beta+. A maioria dos óbitos ocorreu em crianças de até 2 anos de idade (70,1%), e considerando os pacientes que faleceram, a mediana de idade ao óbito foi de 13,7 meses.(41)

No Rio de Janeiro, Lobo et al. (2018) mostraram que dos 1676 pacientes (crianças, adolescentes e adultos) matriculados e em seguimento no HEMORIO no período de 1998- 2012, 281 faleceram, sendo que as causas mais frequentes foram: infecção, STA, dano de órgãos, AVE, morte súbita durante a CVO, entre outras. A idade mediana na ocasião do óbito foi de 31,9 anos. A taxa de mortalidade global encontrada foi de 16,77% (<18 anos= 10,48%; ≥ 18 anos= 18,87%), porém varia bastante conforme a faixa etária: 0- 5 anos= 25%, 6- 11 anos= 35,9%, 12- 18 anos= 7,1%, 19- 29= 15,4%; ≥ 30 anos= 21,7%. A expectativa de vida ao nascimento das crianças com DF no Brasil foi estimada em 53,3 anos, ou seja, 21,3 anos a menos do que na população geral. Durante o decorrer da vida, a expectativa de vida sempre foi menor em relação à faixa etária correspondente, e essa diferença diminui para 10 anos, após os 60 anos de idade.(42)

Dos 2793 pacientes na coorte REDS-III, 159 morreram durante o período do estudo, conferindo uma taxa de mortalidade de 5,7% a essa população. Os dados estão sob análise para futura publicação (comunicação pessoal Dra. Paula Blatyta).

1.5.2. Morbidade

Meier et al. (2017) publicaram em uma revisão sistemática vários preditores de gravidade em crianças com AF.(10) Cinquenta e quatro estudos de diversos desenhos e tamanhos de amostras, uni ou multicêntricos, de

diferentes países foram selecionados, e de diferentes "eras" da história da DF. A maioria deles avaliou a concentração de HbF, co-herança de alfa talassemia (com deleção de um ou mais genes) e a contagem de reticulócitos como preditores de gravidade. Os desfechos mais comuns entre as publicações foram: morte, AVE, número de CVO ou de STA, dopplertranscraniano (DTC) anormal.(10) O aumento de HbF esteve relacionado à proteção contra fenômenos vasoclusivos, como CVO, dactilite, STA, mas não mostrou proteção contra o risco de fenômenos associados à vasculopatia (DTC anormal, infarto silencioso). A co-herança com alfa talassemia mostrou proteção contra risco de AVE e DTC anormal na maioria dos estudos. As deleções de um ou mais genes alfa globina estão associadas a um maior frequência de CVO, dactilite e osteonecrose. A contagem elevada de reticulócitos esteve relacionada com aumento dos fenômenos vasculares cerebrais, como AVE, DTC elevado, estenose arterial e infarto silencioso.(10) Deficiência de G6PD estava associada à doença cerebrovascular (DCV) em um estudo e em outro não. Diversos modificadores genéticos já foram avaliados através de estudos de associação de genoma com determinados fenótipos, que influenciam a gravidade da DF: o polimorfismo do gene UGT1A1 foi associado à doença hepatobiliar; o gene KIAA1109 foi associado a CVO; o gene COMMD7, associado a STA; os genes MYH9 - APOL1 associados à nefropatia; e os genes BCL11A, HBS1L-MYB, 5'HBB region (i.e. Xmn1-HBG2) associados à modulação dos níveis de HbF.(9, 13) Wonkam et al (2020) descreveram em um estudo de associação de genoma inteiro (GWAS) a perda de função dos genes *CLCN6* e *OGHD* no grupo de pacientes de maior sobrevida (> 40 anos), e aumento da

expressão do gene *SERPINC1* (que codifica a antitrombina), no grupo que teve AVE.(43)

Os fenótipos clínicos não podem ser detectados precocemente na vida do paciente com DF. Se pudessemos detectar sinais de gravidade nos primeiros meses ou anos de vida, terapias que mudassem o curso da doença poderiam ser instituídas antes que houvesse dano dos órgãos ou sequelas da doença e dos tratamentos.(10) Ou ainda, nas idades mais avançadas, se houvesse alguma medida mais objetiva de prever o curso clínico desfavorável, isto poderia favorecer a instituição de um tratamento curativo, ou mais agressivo, a inclusão em estudos experimentais de novas drogas ou outras terapias.

1.5.3. Escores de gravidade

Na tentativa de usar uma medida objetiva de gravidade ou risco de morte, alguns autores propuseram escores de gravidade para identificar os pacientes de maior risco de morbimortalidade.

Day (2004) desenvolveu um instrumento de avaliação para a DF (*“SCD assessment instrument, SCDAI”*) em crianças de 18 meses a cinco anos de idade, com dois domínios: identificação de alto risco e classificação de gravidade da doença. O primeiro se refere aos desfechos descritos por Meier (2001), a saber: dactilite antes de 1 ano de idade, Hb < 7 g/dL, e leucócitos > 20.000/mm³.(10) O segundo domínio inclui as variáveis definidas pelo NIH como critérios de gravidade: ≥3 CVO em 12 meses, ≥ 2 STA em 24 meses, ou 1 STA e 2 CVO em 12 meses. Os atributos foram validados por 5 experts na área de estudo da DF, e a confiabilidade foi definida pela

avaliação de enfermeiros que aplicaram o escore com dados de prontuários dos pacientes. A autora acredita que um escore de gravidade para lactentes é necessário para que tratamentos que modifiquem o curso da doença sejam estabelecidos para evitar desfechos graves.(44)

Sebastiani et al. (2007) desenvolveram através de um Modelo Bayesiano, um escore para predizer o risco de morte do paciente em 5 anos, que utilizou 25 variáveis clínicas e laboratoriais encontradas na DF, com relações de hierarquia entre si, e o escore varia de 0 (menos grave) a 1 (mais grave).(45) Porém apenas 16 variáveis são suficientes para o calcular o escore, que é feito pela calculadora "*Sickle Cell Disease severity calculator*", disponível em: <http://bios.ugr.es/dss-calculator>. (Apêndice 1) O escore utilizou os dados da coorte CSSCD para sua construção, e foi validado em dois grupos de pacientes nos EUA, em sua predominância adultos. Este escore de gravidade (que utilizamos no nosso estudo) tende a ser mais abrangente do que um modelo de regressão logística, pois estabelece relações hierárquicas entre as variáveis que influenciam o risco de morte.(45)

Um index de gravidade para pacientes menores de 18 anos com DF foi desenvolvido por van den Tweel et al. (2010), e inclui algumas variáveis mais específicas para essa faixa etária, como sequestro esplênico e hepático, sepse e meningite por pneumococo, além de VOC, STA, necrose avascular, AVE/vasculopatia, priapismo, Hb, HbF, DHL e leucocitose.(40) Este é um index que atribui pesos diferentes para diferentes variáveis, sendo que pesos maiores são atribuídos para variáveis que estão mais relacionadas ao risco iminente de óbito, e pesos menores para as outras variáveis e valores laboratoriais. O estudo demonstrou a diferença entre os grupos de

pacientes divididos por gravidade (leve, moderada e grave), classificados pelos especialistas e pelo outro índice utilizado (SCDAI).(40, 44) Este index não teve boa correlação com o escore de gravidade descrito por Sebastiani et al (2007), talvez devido à taxa de mortalidade menor em crianças, ou porque o período de observação do index foi menor para STA e CVO, ou ainda porque o peso atribuído para sepse foi menor do que para o outro escore, pois sepse em crianças pode ser evitada com a profilaxia com Penicilina. (40)

1.6. Tratamento da DF

A primeira descrição da DF foi publicada há mais de 100 anos, (46) mas durante muito tempo o tratamento da DF foi direcionado apenas ao suporte e ao tratamento analgésico nas crises de dor. Medidas importantes como a profilaxia com penicilina, triagem neonatal, educação da família do paciente, vacinação anti- pneumocócica, contra hemófilus e meningococo e profilaxia primária e secundária do AVE com transfusões regulares foram sendo instituídas ao longo do tempo e agregadas ao conjunto de medidas responsáveis pela importante redução da morbimortalidade da doença, porém um incremento mais significativo ainda era esperado.(27)

Na década de 1990, com o advento da hidroxiureia, modificou-se o curso clínico da DF, pois essa medicação trouxe significativo aumento da qualidade de vida de adultos e crianças, devido à redução do número de CVO, de episódios de STA, do número de hospitalizações e de transfusões, além de redução da mortalidade em adultos e crianças.(47, 48)

Os critérios de indicação de HU segundo o Protocolo Clínico do MS

(2018) são: pacientes com genótipos SS, SC, SD ou S-Beta- talassemia, com idade igual ou superior a 2 anos, com algumas das complicações a seguir no período dos últimos 12 meses: três ou mais episódios de crises vasoclusivas com necessidade de atendimento médico; dois episódios de síndrome torácica aguda; um episódio de priapismo grave ou priapismo recorrente; necrose isquêmica óssea; insuficiência renal; proteinúria de 24 h maior ou igual a 1 g; anemia grave e persistente (Hb menor que 6 g/dL); DHL elevada duas vezes acima do limite superior nas crianças ou adolescentes e acima de três vezes do limite superior no adulto; alterações no doppler transcraniano, com velocidade acima de 160 e até 200 cm/s; retinopatia proliferativa; ou quaisquer outras situações em que haja comprovação de lesão crônica de órgãos. Para crianças < 2 anos pode-se indicar HU nos casos de dactilite antes de 1 ano de idade, Hb <7 g/dL, Leucócitos >20.000/mm³. Deve-se monitorar a toxicidade, eficácia, e o Beta-HCG nas mulheres em idade fértil.(23) Porém, mesmo com os evidentes benefícios do seu uso, há descrição de subutilização da HU, e os fatores para isso ainda não estão bem compreendidos.(49)

A terapia transfusional é outro importante componente do tratamento da DF. As transfusões de concentrados de hemácias são frequentemente utilizadas em alguns eventos agudos da DF, principalmente sequestro esplênico, crise aplástica, STA grave, anemia aguda sintomática e preparo pré- operatório. A indicação da terapia de transfusão crônica (TTC) está bem estabelecida na profilaxia primária do AVE, quando o DTC apresenta velocidade de artéria cerebral média ≥ 200 cm/s. Além disso, a TTC é utilizada na profilaxia secundária do AVE e na falência de órgãos.(50, 51)

A refratariedade ou falência aos tratamentos já estabelecidos representa um desafio à condução do quadro do paciente, pois outros tratamentos com melhores resultados ainda não estão amplamente disponíveis.

Recentemente alguns medicamentos foram incorporados ao arsenal terapêutico da DF. Drogas que promovem a redução das crises vasclusivas já estão sendo utilizados na prática clínica, como a L-glutamina e o Crizalizumabe, os dois aprovados pelo órgão regulador estadunidense, *FDA*, sendo que o último também já está aprovado no Brasil para pacientes com mais de 16 anos, e na data da publicação deste trabalho, está em processo de precificação pela ANVISA.(52-54)

Muitos produtos farmacológicos estão sob investigação e atuam em diferentes mecanismos fisiopatológicos. Não é escopo deste estudo abordar os novos medicamentos, mas vale ressaltar que essa diversidade leva os autores a afirmarem que um arsenal terapêutico deverá ser considerado para tratar a doença, e os estudos futuros vão ocorrer no sentido de se entender as melhores estratégias de avaliar a sequência de indicação dos mesmos, bem como sua interação e toxicidade.(55)

O TCTH restabelece a eritropoiese normal, ou com a pequena formação de HbS (dependendo do tipo de doador, se AA ou AS), reduz as complicações relacionadas à HbS, estabiliza ou reverte lesões pré existentes, melhora a qualidade de vida e aumenta a sobrevida do paciente com DF.(56, 57) É o único tratamento curativo atualmente disponível na prática clínica, e foi o tratamento que já levou à cura o maior número de indivíduos com a

doença, mas ainda não está disponível para a grande maioria dos pacientes. O TCTH será discutido com mais detalhes no item a seguir, 1.7.

Com a dificuldade de se obter um doador para o TCTH, as pesquisas com terapia gênica, tanto com a utilização de Lentivírus, quanto com a edição de genoma, têm se mostrado promissoras, porém ainda enfrentam desafios éticos, técnicos e de segurança.(55)

1.7. Transplante de células- tronco hematopoiéticas na DF

O primeiro transplante de um paciente com DF foi realizado com a finalidade de curar a leucemia mieloide aguda em uma menina portadora de AF, que então assumiu o padrão eletroforético do irmão doador, traço falciforme.(58) Johnson (1984), nesse mesmo relato, após concluir que o TCTH levou à cura da DF, já pontuou que o transplante poderia ser considerado como opção terapêutica na DF, principalmente em pacientes jovens com doença grave, precocemente no curso clínico. A partir de então, a história do transplante na DF passa pelo o pedido dos pacientes para receber o transplante,(59, 60) pelo transplante somente em casos mais graves,(61) séries de casos com doadores irmãos HLA idênticos e condicionamento mieloablativo,(56, 62) o transplante através da geração de um doador idêntico por seleção pré implantacional do embrião,(63) e outras modalidades de transplante com doadores alternativos e regimes de condicionamento não-mieloablativo.

Com a crescente demanda pelos transplantes nas hemoglobinopatias em diversos cenários, em 2014, Angelucci et al. (2014) reuniram especialistas na área para criar um consenso e agrupar as estratégias

terapêuticas em um guia de recomendações de indicações e manejo dos transplantes na talassemia major e na doença falciforme.(64) Para a DF, considerando os melhores resultados, a recomendação do consenso é de que o transplante seja feito na idade mais precoce possível, com doador irmão HLA idêntico, preferencialmente com condicionamento mieloablativo, de medula óssea ou cordão umbilical. As indicações recomendadas estão de acordo com Walters et al. (1996). (62) O condicionamento mais indicado é com Bussulfan, Ciclofosfamida, com ou sem linfoglobulina anti- timocítica (ATG). A profilaxia da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) após transplante é feita com Ciclosporina A e metotrexate (MTX). A avaliação no período pós transplante deve ser feita por especialistas em hematologia e transplante. Os transplantes não aparentados, de MO ou cordão, e também o uso de condicionamento reduzido, devem ser realizados em contexto de ensaios clínicos.(64)

Para relatar a experiência internacional ampla com transplantes HLA idênticos na DF, Gluckman et al. (2017) publicaram uma pesquisa descrevendo o perfil de 1000 transplantes de crianças e adultos (com idades de 3 meses a 54 anos de idade), de doadores irmãos, HLA- idênticos, realizados entre 1986- 2013, segundo dados do “*Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR)*”, *European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)*”, e “*Eurocord databases*”. As indicações mais frequentes foram: AVE, STA, crises vasclusivas recorrentes. As fontes de células foram medula óssea (MO), sangue periférico (SP) e cordão umbilical (este último só para crianças), e os condicionamentos foram mieloablativo ou de intensidade reduzida (12,5%).

Em 5 anos, os autores encontraram em todas as idades: sobrevida total (ST) = 92,9%, e sobrevida livre de eventos (SLE) = 91,4%. Para os menores de 16 anos: ST= 95% e SLE= 93% e para os ≥ 16 anos: ST= 81% e SLE= 81%. A ST foi maior para os que receberam MO, seguida dos que receberam cordão, e depois SP. A probabilidade em 5 anos de sobrevida livre de DECH, foi de 86% nos < 16 anos, e 77% nos ≥ 16 anos. Sete por cento dos pacientes morreram de causas como: infecção, DECH, e toxicidade do transplante. Destes, 10% morreram 5 anos após o transplante, ressaltando a necessidade de seguimento a longo prazo. A maioria dos pacientes recebeu regime de condicionamento mieloablativo, e medula óssea como fonte de células. Em conclusão, os autores consideram que o TCTH é seguro e tem excelentes resultados em 5 anos, e que pode ser uma opção terapêutica em todo o mundo. Entretanto estudos a longo prazo são importantes para avaliar os benefícios do transplante sobre o tratamento de suporte, especialmente em adultos com doença grave.(65)

A dificuldade de encontrar um doador irmão HLA idêntico disponível para o transplante levou à busca por doadores alternativos, não relacionados ou haploidênticos. O maior obstáculo no entanto, é a dificuldade de encontrar um doador compatível em registros nacionais ou internacionais.(66, 67) Os transplantes não aparentados têm maiores taxas de mortalidade, falha do enxerto e de DECH, que têm melhorado com o uso específico de medidas de prevenção, mas ainda assim estão sob investigação e merecem atenção quando forem considerados em pacientes mais velhos. Segundo Eapen (2019), em uma avaliação de 910 transplantes realizados em 90 centros, após 2013, houve aumento do número de transplantes de doadores

alternativos: haploidêntico, compatível não relacionado, e não compatível não relacionado (*“mismatched unrelated”*). Os autores identificaram dois aspectos fundamentais a serem considerados para os transplantes com doadores alternativos: o risco de mortalidade e falha do enxerto foram maiores após qualquer transplante de doador alternativo em comparação com doador HLA idêntico, e que resultou em redução importante de sobrevida livre de eventos. A SLE em 3 anos foi de 89% nos transplantes de doador irmão HLA compatível, 49% de doador haploidêntico aparentado, 69% de doador compatível não relacionado, e 63% em doador não compatível não relacionado. Para essas categorias de doador, a sobrevida total foi, respectivamente, de: 96%, 87%, 81% e 82%. A falha do enxerto foi de 7%, 44%, 17% e 21% respectivamente, para aqueles de doadores HLA idêntico, haploidêntico, compatível não relacionado, não compatível não relacionado. O risco de morte é três vezes maior em pacientes ≥ 13 anos em comparação com pacientes mais jovens, assumindo mesmo tipo de doador e regime de condicionamento para os dois grupos.(68)

Com a realização de maior número de transplantes, com a redução da mortalidade relacionada ao transplante, os resultados se mostrando muito favoráveis, especialmente nos pacientes mais jovens, a aceitação das indicações têm se expandido.(64) De fato, as indicações iniciais do TCTH na DF estavam relacionadas à maior gravidade dos pacientes, e determinadas segundo opiniões de especialistas. Porém o curso clínico da doença pode mudar, e uma medida mais objetiva poderia ser útil para indicar o transplante, nas diferentes faixas etárias, como um escore, por exemplo.

Bathia et al (2015) recomendam que todos os pacientes SS com doador irmão HLA idêntico devem ser avaliados para o TCTH; que deve-se educar as famílias quanto ao curso clínico desfavorável da doença, reduzida expectativa de vida e mortalidade, e informar os prós e contras do transplante. Além disso, pontuam que os transplantes com doador alternativos devem ser considerados como experimentais, e apenas utilizados em contexto de estudos clínicos. As autoras sugerem a coleta e o armazenamento do cordão de irmão do paciente, se possível (em banco público) e advertem que os TCTH em pacientes SC e S-Beta+ ainda têm experiência limitada.(63)

Na vida adulta, somente o tratamento de suporte não é suficiente para atender a penosa e difícil natureza progressiva dessa doença.(69) Por isso os autores recomendam a ampliação da faixa etária para a realização do transplante, o que acertadamente já fez o Ministério da Saúde do Brasil em 2018.(23) Mas para que o resultado do TCTH seja efetivamente melhor do que o tratamento em curso, é preciso reduzir a mortalidade, a toxicidade aguda e crônica, rejeição do enxerto e custos envolvidos no procedimento. Além desses fatores, outras medidas são necessárias para que efetivamente crianças e adultos com DF recebam o TCTH: ampliação a rede hospitalar e criação de mais leitos para os procedimentos, treinamento de equipes especializadas, estímulo e financiamento de pesquisas na área, aumento do número e diversidade dos doadores nos registros nacionais e internacionais de doadores, melhora da consciência dos médicos cuidadores para a detecção da indicação do transplante, testagem de doadores e o pronto encaminhamento para um centro de transplante.

Considerando os potenciais riscos e benefícios do TCTH para a DF, Nickel et al (2018) propõem um “*decision calculus*” em que o paciente e sua família tenham uma visão do panorama de variáveis implicadas nessa decisão. As razões para ser submetido ao transplante são: morte prematura no adulto jovem com DF; complicações crônicas da DF; melhores resultados se o transplante é feito precocemente; benefício da cura e melhora da qualidade de vida; presença de complicações agudas da DF. As razões que falam contra ser submetido ao transplante são: morte pelas complicações relacionadas ao transplante; toxicidade aguda do TCTH; complicações a longo prazo (DECH); possibilidade de haver melhora no tratamento de suporte no futuro, ou de terapia gênica; sofrimento com a hospitalização e com os cuidados após o transplante.(70) Galal et al. (2019) sugerem que o processo de decisão para o transplante é uma responsabilidade que deve ser dividida entre o paciente, sua família, e os médicos cuidadores, sendo que a informação sobre a natureza debilitante da DF e sobre o processo do transplante são cruciais para a melhor tomada de decisão.(71)

Além das considerações clínicas, deve-se ponderar os custos do TCTH na DF, que devem ser contrabalanceados com os custos do tratamento de suporte e das complicações da própria doença. Segundo Angelucci (2014), nos EUA, o custo anual para o tratamento de um paciente com DF encontra-se na faixa de USD 10.000,00. Durante toda a vida de um paciente, um autor relata o custo total de USD 460.151,00.(64) No entanto, Ballas (2010) estimou o custo do tratamento total de um paciente com DF com expectativa de vida em 50 anos, em USD 8.747.908,00.(72) Nos EUA, os custos do TCTH variam entre USD 112.000,00 a 150.000,00, segundo

Angelucci (2014), mas podem ser bem maiores, ou seja, entre USD 344.029,00 e 799.219,00 segundo Arnold (2017).(73) A conclusão é de que o transplante é custo-efetivo em comparação ao tratamento de suporte durante toda a vida do paciente. A vantagem financeira seria ainda maior se o transplante fosse realizado no paciente mais jovem.(64)

2. JUSTIFICATIVA

- Porque a DF é um problema de saúde pública em vários países do mundo e também no Brasil,
- Devido à natureza debilitante da doença, com significativa mortalidade e baixa qualidade de vida,
- Devido à existência de um tratamento curativo para a doença com mais de 1000 casos bem sucedidos, com resultados satisfatórios,
- Devido ao crescente número de transplantes de diferentes modalidades,
- Porque a publicação da Portaria do MS (2018) prevê a realização do TCTH para a DF em todas as idades,
- Devido à necessidade de identificar os candidatos ao procedimento na prática clínica de acordo com critérios bem estabelecidos,
- Devido à necessidade de melhorar o reconhecimento do paciente como candidato ao TCTH, e a possibilidade de fazer

isso através de um escore de gravidade:

- Propomos esta análise dos participantes da coorte REDSIII, com respeito a dois aspectos relacionados: a identificação e caracterização dos candidatos ao TCTH, e a aplicação de um escore de gravidade nos participantes da coorte, para a comparação dos escores dos candidatos e dos não candidatos ao transplante.

Esta tese então compõe-se desses dois estudos, e as sessões de objetivos, métodos, resultados e análise crítica serão divididas em duas partes: 1) Artigo 1. Candidatos ao TCTH e 2) Artigo 2. Escore de gravidade da DF.

3. OBJETIVOS

3.1. Artigo 1. Candidatos ao TCTH

- identificar o número de pacientes da coorte REDSIII elegíveis para o TCTH de acordo com a Portaria do MS (2018),
- estimar a proporção de candidatos que têm irmãos de mesmo pai e mesma mãe que poderiam ser doadores para o transplante,
- comparar as características demográficas, clínicas, laboratoriais e de tratamento dos dois grupos de pacientes: aqueles com 0 e ≥ 1 indicação para o transplante, divididos por idade (< 16 anos e ≥ 16 anos).

3.2. Artigo 2. Escore de gravidade da DF

- aplicar um escore de gravidade nos participantes da coorte REDSIII,
- comparar, dentro do grupo *anemia falciforme* (genótipos SS, S-Beta0, SD, S-Quebec-CHORI) os escores de gravidade dos dois grupos de pacientes: aqueles com 0 e ≥ 1 indicação para o transplante, divididos por idade (< 16 anos e ≥ 16 anos), avaliando a hipótese de que o grupo com ≥ 1 indicação tivesse escore maior do que o grupo sem indicação para o transplante.
- avaliar a acurácia do escore em predizer se o participante é candidato ou não ao TCTH, através da curva ROC (Receiver Operating Characteristic).

4. MÉTODOS

4.1. Ética

O projeto “Caracterização de pacientes com doença falciforme candidatos ao transplante de células-tronco hematopoiéticas em uma coorte de 2890 pacientes no Brasil” (CAAE: 81613517.4.0000.0068) foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMUSP/ CAPPesq em 8 de fevereiro de 2018 (Número do Parecer: 2.491.961) por se tratar de um projeto de pós graduação. Por se tratar de um estudo que utilizou apenas os dados já computados na pesquisa, não foi obtido novo TCLE dos participantes.

4.2. Casuística

Os dois estudos desta tese utilizaram os dados da visita de recrutamento da coorte REDS-III (Estudo longitudinal multicêntrico da doença falciforme no Brasil), cujas características foram descritas na Introdução.

4.3. Desenho do estudo e análise

Esta tese é a compilação de dois artigos relacionados, que avaliaram os participantes da coorte REDS-III que tinham indicação de TCTH, conforme os critérios da Portaria do MS (2018), a saber:

- pacientes com genótipos SS/SBeta0, de qualquer idade, em uso de hidroxiureia com uma das condições a seguir:
- alteração neurológica devida a acidente vascular encefálico, com alteração neurológica que persista por mais de 24 horas ou alteração de exame de imagem;
- doença cerebrovascular associada a doença falciforme;
- mais de duas crises vasclusivas (inclusive síndrome torácica aguda) graves no último ano;

- mais de um episódio de priapismo;
- presença de mais de dois anticorpos em pacientes sob hipertransfusão ou um anticorpo de alta frequência;
- osteonecrose em mais de uma articulação.(23)

Estes participantes foram analisados nos 2 artigos:

1) Artigo 1. Candidatos ao TCTH

O estudo comparou características demográficas, clínicas e laboratoriais dos dois grupos, com e sem indicação ao TCTH, divididos por idade (< 16 anos e ≥ 16 anos), e identificou os pacientes que tinham pelo menos um irmão sem DF para ser potencial doador.

2) Artigo 2. Escore de gravidade e candidatos ao TCTH

O estudo aplicou o escore de gravidade descrito por Sebastiani et al. (2007) nos participantes da coorte REDS-III, e comparou os escores dos dois grupos, com e sem indicação de transplante, divididos por idade (<16 anos e ≥ 16 anos). Avaliou a sensibilidade e especificidade do escore em prever sua habilidade em diferenciar candidatos e não candidatos ao TCTH com a curva *ROC*. A curva *ROC* poderia estabelecer se havia um determinado ponto de corte (escore) que fosse indicativo de transplante para um determinado paciente ou não.

O estudo comparou as características demográficas, clínicas e laboratoriais dos dois grupos, e analisou a distribuição dos escores nos grupos etários: <16 anos, 16- 40 anos, e > 40 anos de idade.

5. ARTIGOS

5.1. Artigo 1. Citação completa

Miriam V. Flor-Park, Shannon Kelly, Liliana Preiss, Brian Custer, Anna B.F. Carneiro-Proietti, Aderson S. Araujo, Paula Loureiro, Claudia Maximo, Daniela O.W. Rodrigues, Rosimere A. Mota, Ester C. Sabino, Vanderson Rocha. *Identification and Characterization of Hematopoietic Stem Cell Transplant Candidates in a Sickle Cell Disease Cohort*

Biology of Blood and Marrow Transplantation 25 (2019) 2103- 2109

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.06.013>

Fator de impacto: (*Journal citation reports*, último relatório: 29/06/2020):

2019 *Impact Factor*: 3.853 ; 5-Year *Impact Factor*: 4.341

Submetido: 13/03/2019

Aceito para publicação: 17/06/2019

Publicado online em: 20/06/2019

Biology of Blood and Marrow Transplantation

journal homepage: www.bbmt.org

Identification and characterization of hematopoietic stem cell transplant candidates in a sickle cell disease cohort

Miriam V Flor-Park¹; Shannon Kelly^{2,3}; Liliana Preiss⁴; Brian Custer^{2,5}; Anna B. F. Carneiro-Proietti⁶; Aderson S. Araujo⁷; Paula Loureiro^{7,8}; Claudia Maximo⁹; Daniela O. W. Rodrigues¹⁰; Rosimere A. Mota¹¹; Ester C. Sabino¹²; Vanderson Rocha^{13,14}; on behalf of the NHLBI Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III (REDS-III) – International Component Brazil

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Instituto da Criança, São Paulo, Brazil

²Vitalant Research Institute, San Francisco, CA, United States

³University of California San Francisco Benioff Children's Hospital Oakland, CA, United States

⁴Research Triangle Institute, Rockville, MD, United States

⁵University of California San Francisco, Department of Laboratory Medicine, San Francisco, CA, United States

⁶Fundação HEMOMINAS, Belo Horizonte, Brazil

⁷Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco, HEMOPE, Pernambuco, Brazil

⁸Universidade de Pernambuco, Pernambuco, Brazil

⁹Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti-HEMORIO, Rio de Janeiro, Brazil

¹⁰Fundação HEMOMINAS, Juiz de Fora, Brazil

¹¹Hemocentro Regional de Montes Claros, Fundação HEMOMINAS, Montes Claros, Brazil

¹²Instituto de Medicina Tropical e Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

¹³Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Serviço de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, São Paulo, Brazil

¹⁴University of Oxford, Churchill Hospital Department of Haematology NHS-BT, Oxford, United Kingdom

Article history: Received 17 March 2019 Accepted 14 June 2019

<https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.06.013> 1083-8791/© 2019 American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Published by Elsevier Inc.

Short title: Candidates for HSCT in a cohort of SCD patients

Keywords: sickle cell disease, hematopoietic stem cell transplantation, bone marrow transplantation, candidates for HSCT

Financial Disclosure Statement: We do not have any financial disclosures related to this study.

ABSTRACT

Sickle cell disease (SCD) is associated with significant morbidity and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) remains the primary curative treatment. Recently, the Brazilian Ministry of Health released a regulation to require the publically funded healthcare system pay for HSCT for SCD patients with defined indications. We used an existing 2794-member SCD cohort established during the period 2013-2015 to characterize candidates for HSCT and estimate number of possible donors. Of 2064 patients with SC anemia (SCA), 152 of 974 children (16%) and 279 of 1090 adults (26%) had at least 1 HSCT indication. The most common indication for transplant was stroke (n=239) followed by avascular necrosis (n=96), priapism (n=82), cerebrovascular disease (n=55), >2 vasocclusive episodes (n=38), alloantibodies and chronic transfusion therapy (n=18) and >2 acute chest syndrome episodes (n=11). Increasing age, number of transfusions, abnormal transcranial Doppler, retinopathy, dactylitis and use of hydroxyurea were more frequent in the 152 children with an indication for HSCT compared to 822 without ($p<0.001$). Of 152 children and 279 adults meeting the eligibility definition, 77 (50%) and 204 (73%), respectively, had at least 1 non-SCD full sibling who could potentially serve as a donor. In conclusion, in a large cohort of SCA patients, 16% of children and 26% of adults have at least 1 indication for HSCT; these indications are associated with the severity of the disease. This study provides clinical data necessary for estimating the costs and infrastructure that would be required to implement HSCT in a public healthcare system.

INTRODUCTION

Sickle cell disease (SCD) has a high prevalence in many developing countries, representing a public health problem. In Brazil, it is estimated that 3,500 affected children are born annually, and there are 35,000-50,000 people living with SCD.(1) Many advances have been made in recent decades to decrease mortality and improve quality of life in SCD, including improvements in medical care and SCD education, vaccines, antibiotic prophylaxis, hydroxyurea, and transfusions. However, hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) remains the primary curative treatment.

More than 1200 transplants for SCD have been performed worldwide, primarily in the United States and Europe, with favorable results overall.(2) Limitations to HSCT include: availability of an HLA-matched sibling donor, identification of the ideal conditioning regimen, prevention of chronic graft-versus-host disease, reduction of transplantation related mortality, and selection of appropriate candidates for HSCT. Despite encouraging results, most of the countries where the prevalence of SCD is high may not consider HSCT as a viable treatment due to cost and lack of infrastructure to conduct this complex clinical procedure. In Brazil, few centers have performed transplants for SCD and the treating institutions supported all costs, making widespread adoption infeasible.(3)

In December 2015 the Brazilian Ministry of Health (MoH) published a Regulation that promulgates HSCT for SCD through the Public Healthcare System (*Sistema Único de Saúde, SUS*), and established that *SUS* will cover the cost of HSCT for SCD children with defined indications.(4) In February 2018 the MoH updated the Regulation, expanding those covered

to people over 16 years old.(5) Various American and European groups have also established guidelines for allotransplants in SCD that differ slightly among each other (6-11) and from the Brazilian Regulation.

The number of patients who would be eligible as candidates for HSCT according to recommended MoH and therefore the infrastructure required to implement this procedure is unknown.

The Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III (REDS-III) Brazil SCD cohort is a large multicenter cohort established to characterize health outcomes in the Brazilian SCD population.(12) (13) We aimed to identify the number of patients within the REDS-III SCD cohort eligible for HSCT according to MoH recommendations, estimate the proportion of candidates who have a full sibling to potentially serve as a HSCT donor, and compare the demographic, clinical and laboratory characteristics of patients with and without a HSCT indication.

METHODS

The REDS-III SCD cohort was established to investigate outcomes in a sample of SCD patients in Brazil. The baseline clinical and demographic profile of the cohort has been described elsewhere.(13) Briefly, patients were randomly selected as eligible from lists of active patients (clinical encounter in the last 3 years) at hematology centers that include sickle cell treatment (called *Hemocenters*) in 6 cities in Brazil (Belo Horizonte, Juiz de Fora, Montes Claros, Sao Paulo, Rio de Janeiro and Recife). The cohort was enrolled from 2013 – 2015.

We defined patients < 16 years old as children, and those $\geq$ 16 years old as adults for this analysis. This age threshold was chosen because the original MoH guidelines restricted HSCT eligibility to ages 16 or less as previous studies have used this age limit to define eligibility for HSCT (14) due to the superior results of HSCT in younger patients.(5)

A cross-sectional analysis of enrollment data was conducted to identify the number of HSCT candidates according to the MoH criteria.(5) These criteria specify only patients with sickle cell anemia (SCA, defined as homozygous SS or S β 0 by the MoH) with a HLA-matched sibling are eligible. We included 6 patients with SD and 1 patient with SQuebec-CHORI in the SCA group in this analysis considering the similarly severe clinical phenotype of these genotypes.(15-19) The clinical indications for HSCT defined by the MoH include presence of at least one of the following: stroke, cerebrovascular disease, >2 antibodies while on chronic transfusion therapy (CTT) or $\geq$ 1 of the following despite treatment with hydroxyurea: >2 vasocclusive crises (VOE) or acute chest syndrome (ACS) episodes in the last year, more than one episode of priapism, avascular necrosis (AVN) of more than one joint. We included all patients with a history of priapism or AVN as potentially eligible for HSCT to estimate the maximum number of patients who might qualify. In sensitivity analysis, we estimated the possible range of eligible patients if none or all of patients with a history of multiple episodes of priapism or more than 1 joint affected were considered eligible for HSCT.

The demographic, clinical and laboratory profile of patients with at least 1 indication for HSCT were compared to patients with no indication for HSCT.

Upon enrollment into the cohort, the number of siblings, full siblings and siblings with sickle cell disease was recorded for each participant. For this analysis, siblings with a diagnosis of SCD were excluded from the number of full siblings to define the potential number of HSCT donors for candidates.

Characteristics between patients with or without an indication for HSCT were compared using Chi-Square for categorical variables and T-test or Wilcoxon rank-sum tests, as appropriate, for continuous variables. A p-value ≤ 0.05 was considered significant.

The REDS-III SCD cohort study was approved by national and local Brazilian Ethics Committees, as well as the IRBs at the University of California San Francisco and Research Triangle Institute, International (RTI, which is the data coordinating center for REDS-III).

RESULTS

There were 2,794 patients enrolled into the REDS-III SCD cohort (demographic profile of the cohort summarized in Table 1). There were 2064 patients with SCA, 974 children (<16 years) and 1090 adults (≥ 16 years).

The number of children eligible for HSCT was 152, 16% of the total of SCA children (Table 2). The most common indication for transplant in these children was stroke. The majority (111 of 152) of potential candidates <16 years had only one indication but 41 had two or more indications (Table 3).

The number of adults with an indication making them eligible for HSCT was 279 (26% of the 1090 SCA adults, Table 2). The most common indication for transplant in adults was also stroke. The majority (222 of 279) of

candidates ≥ 16 years had only one indication but 57 had two or more indications (Table 3).

Many of the indications of MoH are criteria only if occurred despite HU treatment and 39% of our SCA patients were treated with HU.

We compared the characteristics of children having at least one indication to those with no indication (results summarized in Table 4). The chance of being a candidate for a transplant increases with increasing age. HSCT candidates were more likely to have multiple clinical complications of SCD, such as abnormal transcranial Doppler (TCD, defined by a time-averaged mean blood-flow velocity in the middle cerebral artery or in the internal carotid artery of ≥ 200 cm/s)(20), dactylitis, retinopathy, microalbuminuria and a higher number of lifetime VOE and ACS. Splenic sequestration was not significantly different between those with and without an indication.

Considering current treatments, pediatric candidates for HSCT were more likely to be on chronic transfusion therapy as well as hydroxyurea (Table 4). As expected, the higher the number of transfusions received, a marker of SCD severity, the more likely the patient had an indication for transplant (Table 4). There were no significant differences between the two groups of children regarding vital signs and laboratory tests (hemoglobin, leucocytes, platelets, LDH, creatinine), except for fetal hemoglobin (HbF), which was higher in the group without an indication for transplant ($p < 0.001$).

We also compared the characteristics of adults having at least one indication to those with no indication for transplant. Adult candidates were more likely to be male and to have complications such as retinopathy, higher

numbers of lifetime VOE and ACS. (Table 5) Similar to children, adults eligible for HSCT were more likely to have higher lifetime transfusion exposure and be treated with chronic transfusions and hydroxyurea compared to adults who were not eligible (Table 5).

Seventy-two children who were candidates for HSCT (47% of 152) did not have full siblings. Fifty percent had one or more full siblings without SCD, who could potentially be donors for the transplant. Only 11% had more than 2 full siblings. There were 3 patients excluded from this analysis because the number of siblings was unknown.

Seventy-four adults who were candidates for HSCT (26% of 296) did not have full siblings, 204 (73% of 279) had one or more full siblings without SCD, who could potentially be donors for the transplant. Also, 27% had more than 2 full siblings. There was only 1 patient excluded from this analysis because the number of siblings was unknown.

In total, the number of children and adults with at least one sibling without SCD was 281, which represents 13.6% of the total SCA patients (2064) and 65% of the 431 patients with a HSCT indication.

A summary of participants in the REDS-III Brazil SCD cohort and proportion of children and adults with an indication and a full sibling is illustrated in figure 1.

DISCUSSION

The REDS-III cohort is a large and multicenter cohort of SCD patients in Brazil. We identified the proportion of patients in this cohort who would be eligible for HSCT in order to estimate the number of Brazilian SCD patients who might be eligible for HSCT transplant according to newly established regulations by the Brazilian MoH, which are similar to other international recommendations for allogeneic HSCT.

We identified 152 SCA children <16 years old and 279 adults ≥ 16 years old who met the MoH criteria in a cohort of 2794 SCD patients (15.4% of the entire cohort and 20.8% of the SCA patients). We described the profile and compared clinical characteristics and baseline laboratory measures between the children and adults with and without a HSCT indication.

We found that SCD phenotypes such as abnormal TCD, dactylitis, retinopathy and lifetime VOE were significantly more common in HSCT candidates < 16 years old. As age increases in the pediatric SCA population, the chance of being a candidate for transplant also increases, because some complications will appear over time. Abnormal TCD was significantly more common in the group of children with an indication. The Brazilian regulation does not consider patients with abnormal TCD eligible for HSCT. Other guidelines and experts in the field would consider this an appropriate indication, (7-10) as abnormal TCD will demand a lifelong treatment with chronic transfusions which is associated with potential adverse events such as alloimmunization, iron overload, and also high costs.(20)

This analysis of the REDS-III SCD cohort reinforces inclusion of adults as potential candidates for HSCT. Twenty six percent of the SCA adult patients (279 patients) had one or more indication for HSCT. The large number of patients ≥ 16 years old who received a high number of transfusions and treatment with hydroxyurea indicates that the severity of the disease in adulthood justifies aggressive treatment. Efforts to develop reliable and suitable scores for adult patients to match the disease severity to the need for HSCT should be undertaken.

The best time to perform a HSCT in a patient's life is a matter of debate, but it is generally accepted that early referral for transplantation should be considered when an indication is identified to allow timely screening for an HLA-identical sibling.(11, 21) Many young adults would be expected to achieve the same benefit of cure but current ability to predict disease progression is very limited.

Our analysis reports the number of REDS-III participants potentially eligible for HSCT, however the exact number of candidates is confirmed by having an indication and HLA matched sibling according to the Brazilian MoH regulation. Each full sibling has a 25% chance of being an HLA-identical match. Previous publications have used birth data and statistical modeling to describe the probability of identifying an HLA matched sibling among US population cohorts divided by age and race/ethnicity assuming average family size. A range of probabilities has been reported based on data sources used and assumption of models. Mentzer et al reported the probability of finding a fully HLA-matched donors among SCD patients of 18%.(14) A more recent study in Brazil tested 1230 siblings for HLA compatibility and identified 296

(24.1%) compatible siblings. (22) If a range of 18-24% HLA compatible siblings among HSCT eligible REDS-III patients were assumed, 49 to 67 of the 431 identified candidates would be estimated to have a suitable donor for transplant. To confirm the exact number of transplants to be performed, siblings should be tested for HLA compatibility. Unfortunately data on HLA typing of siblings were not available for this analysis but it is recommended that treating physicians perform HLA tests for those patients with an indication for transplant. With the recent encouraging results of haploidentical transplants, (25) siblings and parents are potential donors, thus considerably increasing the possible number of transplants for SCD patients. However haploidentical HSCT for SCD patients is still experimental and further studies need to confirm this approach.

This study has limitations. The REDS-III Brazil SCD cohort study did not collect clinical data exactly as defined in the MoH regulation. For example, at cohort enrollment, only history of any priapism or AVN was recorded in the REDS-III database without specification of number of episodes or joints with AVN affected. We considered all patients with history of AVN and priapism as eligible for HSCT for the purposes of this analysis. If none of these patients had multiple episodes/affected joints, the number of eligible HSCT candidates would decrease by 139 from 431 to 292. Many of these patients likely will have or have already had multiple episodes, and comparisons of outcomes between patients with and without an indication were not significantly different whether all of this subset of patients were included or excluded from the analysis.

Because the majority (77%) of the analyzed sickle cell anemia participants did not have a screening MRI/A to define the presence of cerebral vascular disease and only 14.8% of screened children and 8.7% of screened adults were known to have CVD, our analysis could have underestimated the total number of HSCT candidates based on this criteria. However, at this time, the infrastructure to routinely and frequently perform MRI/A is not established at most public institutions where SCD patients are typically treated in Brazil.

One could argue that other indications for HSCT such as avascular necrosis and priapism that are included in our study because they are defined by the Brazilian MoH are not included in other guidelines or prospective trials for HSCT in SCD and may have overestimated the proportion of HSCT candidates according to other guidelines. Therefore the proportion of eligible patients may change based on criteria used and number of patients who have required screening tests to define all criteria. Finally, most current eligibility criteria are based on a person having severe complications of SCD. It is likely indications may evolve over time as HSCT outcome becomes safer. (6, 11)

The estimated number of patients eligible for HSCT presented in this analysis is based on presence of a defined indication but does not account for the fact that some patients may not be fit for transplant as comorbidities may limit the ability of the patient to tolerate a myeloablative or reduced intensity conditioning regimen. The MoH regulation does not define contraindications for HSCT, but we believe accurate evaluation of comorbidity scores prior to transplant is mandatory, particularly in adults. (23, 24) Cardiopulmonary, hepatic and renal complications should be carefully evaluated to define the

benefit and risks of transplantation. Treating physicians must define these risks. Currently, some prospective trials are designed to mitigate the development of HSCT complications by using varied transplant approaches including different type of donors, conditioning regimens and GVHD prophylaxis regimens. (25)

Some patients with indications may have been missed if screening tests were not performed (for example an MRI to diagnose cerebral vascular disease) or patients were not treated with HU. Incomplete clinical assessment or treatment can delay referral to the transplantation center, unfortunately allowing time for other complications to appear before the referral, and potentially contraindicating the HSCT.

Another potential limitation is the degree to which the REDS-III Brazil SCD cohort is representative of the entire population of SCD patients in Brazil. We have not directly compared the distribution of sickle cell genotypes in REDS-III to the distribution reported in different states in Brazil. Even so, the effort to generate a representative sample from hemocenters in six different cities and the inclusion of specific clinical indication data makes these numbers more representative for Brazil than any other currently available data source.

In conclusion, this study provides important, real world data regarding how indications for HSCT regulations in Brazil might impact SCD patients. We have estimated that 16% of SCA children and 26% of SCA adults have potential candidates for HSCT. These percentages can be used to plan for the number of patients in Brazil who could qualify for HSCT and this analysis provides critical data that can be used to estimate financial cost and

infrastructure that would be required to implement HSCT as a curative treatment option. In addition, our estimates could be applied in other countries with a high prevalence of SCD who lack access to similar cohort data. Despite publication of the first MoH Regulation nearly 3 years ago, systematic screening for eligibility criteria and HLA testing of siblings is not routinely performed in all centers. Our data suggest almost a quarter of the SCA population has clinical indications for HSCT; therefore Brazil should expand the capacity in order to make a cure of the disease possible for those with suitable donors.

Acknowledgements

The authors would like to thank NHLBI, VRI, RTI, Brazilian and American REDS-III research staff.

Table 1. Sociodemographic characteristics of patients in the REDS III SCD Cohort in Brazil

	Children <16 y N= 1370 (%)	Adults ≥16 y N= 1424 (%)	Total N= 2794
Hemocenter			
HBH	361 (26.4)	421 (29.6)	782
JFO	138 (10.1)	136 (9.5)	274
MOC	187 (13.7)	176 (12.4)	363
HEMORIO	365(26.4)	355 (24.9)	720
HEMOPE	233 (17)	317 (22.3)	550
HCFMUSP	86 (6.3%)	19 (1.3)	105
SCD Type			
SCA [SS/SB0/SD/SQuebec-Chori]	974*	1090	2064
SS	933*(68.2)	1041 (73.1)	1976
SB0	40 (2.9)	43 (3)	83
Other	1 (0,1)	6 (0,5)	7
SB+/SC/SHPFH/SKWoolwich	394	334	728
SB+	40 (2.9)	40 (2.9)	80
SC	351 (25.6)	293 (20.6)	644
Other	3 (0,3)	1 (0,1)	4
Age (average/range)	9 (0-15)	27 (16-77)	2795
Gender			
Male	701 (51.2)	613 (43)	1314
Female	669 (48.8)	811 (57)	1480
Race			
White	185 (13.5)	114 (8)	299
Black	277 (20.2)	471 (33.1)	748
Mixed	855 (62.4)	782 (55)	1637
Other	53 (3.9)	57 (4)	110
Monthly income in Reais** (and USD)			
<700(<300)	277 (20)	219 (15)	496
701-1400 (301-602)	32 (2)	85 (6)	117
1401-3000 (603-1290)	215 (15)	314 (22)	529
≥3000 (>1290)	822 (60)	738 (52)	1560
Education (≥6 years old)			
Never attended	11 (1.1)	10 (0.7)	21
Elementary School complete	998 (95.1)	535 (37.7)	1533
High School complete	41 (3.9)	651 (45.8)	692
Adult education Technical	0	84 (5.9)	84

course			
College/post graduate	0	141 (9.9)	141
<hr/>			
Marital status (≥ 18 years old)			
Single	N/A	698 (56)	698
Living together	N/A	171 (14)	171
Married	N/A	294 (24)	294
Separated/divorced	N/A	52 (4)	52
Widower	N/A	14 (1)	14

REDS-III: Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III; SCD: sickle cell disease; HBH: Hemocenter of Belo Horizonte; JFO: Hemocenter of Juiz de Fora; MOC: Hemocenter of Montes Claros; HEMORIO: Hemocenter of Rio de Janeiro; HEMOPE: Hemocenter of Pernambuco; HCFMUSP: Hospital das Clínicas- Faculdade de Medicina da USP, Instituto da Criança.

* 2 SS patients that have been transplanted before enrollment were excluded from this analysis

**Exchange conversion in 2014: 1 BRL= 0.43 USD. N/A: non applicable

Table 2. REDS-III SCA Children and Adults with Indications for HSCT according to Brazilian Ministry of Health

	Children <16 y (N=974) (%)	Adults ≥16 y (N=1090) (%)	Total (N=2064) (%)
Stroke	97 (10)	142 (13)	239 (11.6%)
Cerebrovascular Disease*	33 (3)	22 (2)	55 (2.7%)
> 2 VOE/ year and HU	18 (2)	20 (2)	85 (4.1%)
> 2 ACS / year and HU	8 (1)	3 (<1)	26 (1.3%)
Priapism and HU- male only	20 (2)	62 (6)	82 (4%)
> 2 Alloantibodies and chronic transfusion	7 (1)	11 (1)	38 (1.8%)
AVN and HU	12 (1)	84 (8)	96 (4.7%)
Total number of patients with any indications for HSCT	152 (16)	279 (26)	431 (21%)

REDS-III: Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III;
SCA= sickle cell anemia; HSCT= hematopoietic stem cell transplantation;
VOE= vasocclusive episode; ACS= acute chest syndrome; AVN= avascular
necrosis; HU= hydroxyurea/hydroxycarbamide;

*Prevalence of cerebrovascular disease (CVD) in the entire cohort. However,
imaging to screen for CVD was not performed in 752 children and 839 adults,
therefore CVD status was unknown in 77% of cohort participants. For all
other criteria, data regarding clinical outcome was missing in <2% of cohort
participants.

**Patients can have more than one indication.

Table 3. Number of REDS-III SCA Children and Adults with 0, 1, 2 or ≥ 3 indications according to MoH

Number of indications for HSCT	Children <16 y (N=974) (%)	Adults ≥ 16 y (N=1090) (%)
0	822 (84)	811 (74)
≥ 1	152 (16)	279 (26)
1	111 (11)	222 (20)
2	39 (4)	50 (5)
≥ 3	2 (<1)	7 (<1)

REDS-III: Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III;
SCA: sickle cell anemia; MoH: Ministry of Health; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation

Table 4. Comparison of Demographic, Clinical and Treatment Data between REDS III SCA patients < 16y with 0 and ≥ 1 Indications for HSCT according to MoH

	0 HSCT Indication (N= 822)	≥ 1 HSCT Indication (N= 152)	P- value
	N or (Median) / % or (Range)	N or (Median) / % or (Range)	
Demographic Data			
Age (y)	(9) / (0-15)	(11) / (3-15)	<0.001
0 <4	103 / 12%	3 / 2%	<0.001
4 <8	228 / 28%	30 / 20%	
8 <12	255 / 31%	50 / 33%	
≥ 12	236 / 29%	69 / 45%	
Gender			
Male	406 / 49%	64 / 42%	0.1
Female	416 / 50%	88 / 58%	
Clinical Complications			
Abnormal TCD	197 / 24%	66 / 43%	<0.001
Dactylitis	183 / 22%	53 / 35%	<0.001
Retinopathy	8 / 1%	2 / 1%	<0.001
Microalbuminuria*	16 / 2%	11 / 7%	<0.001
Lifetime VOE	653 (2) / (0-34)	129 (3) / (0-30)	<0.001
Lifetime ACS	566 (2) / (0-20)	123 (3) / (0-15)	0.03
Treatment Data			
Ever transfused	692 / 84%	152 / 100%	<0.001
Number of transfusions			
0- 5	450 / 55%	23 / 15%	<0.001
6- 10	145 / 18%	16 / 11%	
11- 20	100 / 12%	22 / 15%	
21- 40	53 / 6%	20 / 13%	
> 40	35 / 4%	69 / 45%	
Unknown	39 / 5%	2 / 1%	
Patients under CTT	52 / 6%	88 / 58%	<0.001
Treatment with HU	278 / 34%	92 / 61%	<0.001

REDS-III: Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III; SCA: sickle cell anemia; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; (y): years; MoH: Ministry of Health TCD: transcranial Doppler; VOE: vasocclusive episode; ACS: acute chest syndrome; CTT: chronic transfusion therapy; HU: hydroxyurea/hydroxycarbamide.

*Prevalence of known microalbuminuria in the entire cohort. However, only laboratory results documented in the medical record in the year prior to enrollment were abstracted. Urine analysis was only documented in 148 of SCA children. The prevalence of microalbuminuria restricted to SCA children with a urine analysis was 30% and 14% ($p=0.03$), for children with and without a HSCT Indication, respectively.

Table 5. Comparison of Demographic, Clinical and Treatment Data between REDS III SCA patients ≥ 16 y with 0 and ≥ 1 Indications for HSCT according to MoH

	0 HSCT Indication (n=811) N or (Median) / % or (Range)	≥1 HSCT Indication (n=279) N or (Median) / % or (Range)	P- value
Demographic Data			
Age (y)	(27) / (16-74)	(25) / (16-71)	0.23
16-19	176 / 22%	63 / 23%	0.24
20-29	284 / 35%	112 / 40%	
30-39	205 / 25%	62 / 22%	
40-49	100 / 12%	25 / 9%	
50-59	38 / 5%	11 / 4%	
≥ 60	8 / 1%	6 / 2%	
Gender			
Male	322 / 40%	146 / 52%	<0.001
Female	489 / 60%	133 / 48%	
Clinical Complications			
Dactylitis	67 / 8%	28 / 10%	0.4
Retinopathy	53 / 7%	19 / 7%	<0.001
Microalbuminuria*	52 / 6%	20 / 7%	0.8
Lifetime VOE	617 (5) / (0-300)	224 (6) / (0-500)	0.03
Lifetime ACS	466 (3) / (0- 30)	176 (3) / (0- 30)	<0.001
Treatment Data			
Ever transfused	770 / 95%	277 / 99%	0.001
Number of transfusions			
0- 5	268 / 33%	29 / 10%	<0.001
6- 10	159 / 20%	28 / 10%	
11- 20	125 / 15%	40 / 14%	
21- 40	92 / 11%	43 / 16%	
> 40	85 / 11%	120 / 43%	
Unknown	82 / 10%	19 / 7%	
Patients under CTT	36 / 4%	104 / 37%	<0.001
Treatment with HU	236 / 29%	200 / 72%	<0.001

REDS-III: Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III; SCA: sickle cell anemia; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; (y): years; MoH: Ministry of Health TCD: transcranial doppler; VOE: vasocclusive episode; ACS: acute chest syndrome; CTT: chronic transfusion therapy; HU: hydroxyurea/hydroxycarbamide

*Prevalence of known microalbuminuria in the entire cohort. However, only laboratory results documented in the medical record in the year prior to enrollment were abstracted. Urine analysis was only documented in 234 of SCA adults. The prevalence of microalbuminuria restricted to SCA adults with a urine analysis was 55% and 46% ($p=0.9$), for adults with and without a HSCT Indication, respectively.

Figure 1. Flow Diagram of Participants in the REDS-III Brazil SCD Cohort and Candidates Eligible for HSCT

* S-HPFH= S-Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin; S-KW= S-KWoolwich

References:

1. Cançado RD, Jesus JA. Sickle cell disease in Brazil. *Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy*. 2007;29:203-7.
2. Gluckman E. Allogeneic transplantation strategies including haploidentical transplantation in sickle cell disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013;2013:370-6.
3. Simões B, Pierroni F, Barros GM, Stracieri A, Moraes D, Oliveira M, et al. Bone Marrow Transplantation for Sickle-cell disease: the first Brazilian cases 37th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Paris- France, 2011.
4. Saúde Md. Portaria 1321 Transplante de células-tronco hematopoiéticas alogênico do tipo mieloablativo no tratamento da doença falciforme. 2015.
5. Saúde Md. PORTARIA CONJUNTA No 05, DE 19 DE FEVEREIRO DE 2018. ANEXO: PROTOCOLO CLÍNICO E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS DA DOENÇA FALCIFORME. Brasília, 2018.
6. Walters MC, Patience M, Leisenring W, Eckman JR, Scott JP, Mentzer WC, et al. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med*. 1996 Aug;335(6):369-76.
7. Bernaudin F, Socie G, Kuentz M, Chevret S, Duval M, Bertrand Y, et al. Long-term results of related myeloablative stem-cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood*. 2007 Oct;110(7):2749-56.
8. Shenoy S. Hematopoietic stem-cell transplantation for sickle cell disease: current evidence and opinions. *Ther Adv Hematol*. 2013 Oct;4(5):335-44.
9. Simões BP. Brazilian Consensus Meeting on Stem Cell Transplantation: Hemoglobinopathies Committee In: Pieroni F, Barros GM, Machado CL, Cançado RD, Salvino MA, Voltarelli JC, eds. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* , 2010:46-53.
10. Hamerschlak N, Bouzas LF, Seber A, Silla L, Ruiz MA. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea 2012. 2012 [cited; Available from: <http://goo.gl/9Llk2Q>
11. Angelucci E, Matthes-Martin S, Baronciani D, Bernaudin F, Bonanomi S, Cappellini MD, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel. *Haematologica*. 2014 May;99(5):811-20.
12. Sabino EC. Estudo longitudinal multicêntrico da doença falciforme no Brasil REDS III. [cited; Available from: <http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil>
13. Carneiro-Proietti AFB, Kelly S, Teixeira CM, Sabino EC, Alencar CS, Capuani L, et al. Clinical and genetic ancestry profile of a large multi-centre sickle cell disease cohort in Brazil. *British Journal of Haematology*. 2018.
14. Mentzer WC, Heller S, Pearle PR, Hackney E, Vichinsky E. Availability of related donors for bone marrow transplantation in sickle cell anemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1994 Feb;16(1):27-9.
15. Kelleher JF, Jr., Park JO, Kim HC, Schroeder WA. Life-threatening complications in a child with hemoglobin SD-Los Angeles disease. *Hemoglobin*. 1984;8(3):203-13.
16. Schneider RG, Ueda S, Alperin JB, Levin WC, Jones RT, Brimhall B. Hemoglobin D Los Angeles in two Caucasian families: hemoglobin SD disease and hemoglobin D thalassemia. *Blood*. 1968 Aug;32(2):250-9.

17. Sturgeon P, Itano HA, Bergren WR. Clinical manifestations of inherited abnormal hemoglobins. I. The interaction of hemoglobin-S with hemoglobin-D. *Blood*. 1955 May;10(5):389-404.
18. Tubman VN, Bennett CM, Luo HY, Chui DH, Heeney MM. Sickle cell disease caused by Hb S/Quebec-CHORI: treatment with hydroxyurea and response. *Pediatr Blood Cancer*. 2007 Aug;49(2):207-10.
19. Witkowska HE, Lubin BH, Beuzard Y, Baruchel S, Esseltine DW, Vichinsky EP, et al. Sickle cell disease in a patient with sickle cell trait and compound heterozygosity for hemoglobin S and hemoglobin Quebec-Chori. *N Engl J Med*. 1991 Oct 17;325(16):1150-4.
20. Adams RJ. Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell disease and abnormal results on transcranial doppler ultrasonography. *New England Journal of Medicine*. 1998;339(1):5-11.
21. Gluckman E. Sickle cell disease: an international survey of results of HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2017;129(11):1548-56.
22. Meinerz C, Chagas M, Dalmolin LC, Silveira MD, Cavalhero F, Ferreira LAP, et al. Evaluation of the percentage of HLA compatibility between members of the same family for patients awaiting bone marrow transplantation in the state of Santa Catarina, Brazil. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2008;30(5).
23. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, et al. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med*. 1994 Jun;330(23):1639-44.
24. Chaturvedi S, DeBaun MR. Evolution of sickle cell disease from a life-threatening disease of children to a chronic disease of adults: The last 40 years. *Am J Hematol*. 2016 Jan;91(1):5-14.
25. Bolaños-Meade J, Cooke KR, Gamper CJ, Ali SA, Ambinder RF, Borrello IM, et al. Effect of increased dose of total body irradiation on graft failure associated with HLA-haploidentical transplantation in patients with severe haemoglobinopathies: a prospective clinical trial. *Lancet Haematol*. 2019 Apr;6(4):e183-e93.

5.2. Artigo 2. Citação completa

Miriam V. Flor-Park, Mina Cintho Ozahata, Isabel Cristina Gomes Moura, Paula Blatyta, Shannon Kelly, Claudia di Lorenzo Oliveira, Ligia Capuani, André Rolim Belisário, Anna B.F. Carneiro-Proietti, Aderson S. Araujo, Paula Loureiro, Claudia Maximo, Daniela O. W. Rodrigues, Rosimere A. Mota, Ester Sabino, Brian Custer, Vanderson Rocha

Severity score for mortality is not predictive of indication for hematopoietic stem cell transplantation in children and adults with sickle cell disease

Jornal: **British Journal of Haematology**

DOI: doi: 10.1111/bjh.15462

Fator de impacto: (*Journal citation reports*, último relatório: 29/06/2020):

Impact factor: 5.518 /2019 Journal Citation Reports (Clarivate Analytics):

14/76 (Hematology) Online ISSN:1365-2141 © John Wiley & Sons Ltd

Submetido: 01/12/2020

**Severity score for mortality is not predictive of indication
for hematopoietic stem cell transplantation in children and
adults with sickle cell disease**

Journal:	<i>British Journal of Haematology</i>
Manuscript ID	BJH-2020-03416
Manuscript Type:	Ordinary Papers
Date Submitted by the Author:	01-Dec-2020
Complete List of Authors:	<p>Flor-Park, Miriam V.; Universidade de Sao Paulo Faculdade de Medicina Hospital das Clinicas Instituto da Crianca, Pediatrics</p> <p>Ozahata, Mina; Institute of Mathematics and Statistics, University of Sao Paulo, Computer Science</p> <p>Moura, Isabel ; Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde</p> <p>Platyta, Paula; Hospital Moyses Deutsch , Pediatrics</p> <p>Kelly, Shannon; Vitalant Research Institute, San Francisco, CA, United States, Research</p> <p>Oliveira, Claudia; Universidade Federal de São João del-Rei, Epidemiology</p> <p>Capuani, Lígia; Universidade de São Paulo, Mathematics</p> <p>Belisário, André; Fundacao Hemominas, Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerias</p> <p>Carneiro-Proietti, Anna; Fundação HEMOMINAS, Hematology</p> <p>Araujo, Aderson; Haematology and Haemotherapy Foundation of Pernambuco , HEMOPE</p> <p>Loureiro, Paula; Haematology and Haemotherapy Foundation of Pernambuco , HEMOPE</p> <p>Maximo, Claudia; Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti-HEMORIO, Hematology</p> <p>Rodrigues, Daniela; Fundacao Hemominas, Hematology</p> <p>Mota, Rosimere; Fundacao Hemominas, Hematology</p> <p>Sabino, Ester; Universidade de Sao Paulo Faculdade de Medicina, Institute of Tropical Medicine</p> <p>Custer, Brian; Vitalant Research Institute, San Francisco, CA, United States, Research; University of California San Francisco, Department of Laboratory Medicine, San Francisco, CA, United States, Laboratory Medicine</p> <p>Rocha, Vanderson; Universidade de São Paulo Hospital das Clínicas, Hematology; Oxford University, Haematology, Churchill Hospital; Universidade de São Paulo Hospital das Clínicas, Laboratory of Medical Investigation (LIM 31) in pathogenesis and directed therapy in Onco-Immuno-Hematology</p>
Key Words:	SICKLE CELL DISEASE, hematopoietic stem cell transplantation, HSCT, candidates, Bayesian model, severity score

Summary

Manifestations of sickle cell disease (SCD) begin early in childhood and cause morbidity and decreased life expectancy. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is curative, but associated with mortality risk that should be counterbalanced with disease mortality. A severity score using a Bayesian model network was previously validated to predict the risk of death in adults with SCD. We compared severity scores between SCD participants within the Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III (REDS-III) Brazil SCD cohort with (n=431) and without (n=1632) HSCT indications based on Brazilian Ministry of Health criteria. The ability of the score to differentiate HSCT candidates was estimated using Receiver Operating Characteristic (ROC) curves. Scores were not different in adults with (n=279) or without (n=811) a HSCT indication (median=0.342 vs 0.292, $P=0.354$). In children, median scores were higher for non- candidates (n=821) compared to HSCT candidates (n=152) (0.053 vs 0.045, $P=0.004$). ROC curves did not demonstrate a threshold to differentiate participants with or without HSCT indications. Thus, severity score predicts the risk of death but could not discriminate among HSCT candidates. Current indications should be evaluated to ensure patients with more severe disease who might benefit from HSCT are appropriately identified.

Introduction

Sickle cell disease (SCD) is a hemoglobinopathy with increasing prevalence, and is considered a global public health problem by the World Health Organization (WHO).(1, 2) Manifestations of SCD begin early in childhood and remain throughout life, causing significant morbidity with substantial impact on quality of life and decreased life expectancy. A wide spectrum of acute and chronic complications occurs and is influenced by genetic, sociodemographic, and environmental characteristics, which can modify outcomes among individuals. (3) The understanding of the diversity of such modifiers and their influence on severity of the disease is limited.(2)

Newborn screening, early diagnosis, supportive care, penicillin prophylaxis, vaccines, transcranial Doppler (TCD) imaging, and treatment with blood transfusions and hydroxyurea (HU) can improve survival, reduce prevalence of complications, and improve quality of life, yet morbidity and mortality due to SCD remains high. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with a matched sibling donor is a curative treatment, but is not available to the majority of patients due to donor availability as well as sociocultural and economic barriers. (4) Other emerging treatments such as HSCT with haploidentical or unrelated donors and gene therapies can be curative, but are associated with poorer survival, higher rates of graft failure and increased transplant associated morbidity such as graft vs. host disease. Most of these alternative donor sources are still considered experimental and utilized within clinical trials. (5)

HSCT using HLA matched sibling donors has been performed in the US, Europe and other countries in more than 1000 SCD patients with favorable

results (4) though mortality risk is higher in adults than children. Recently, Eapen showed a lower overall and event free survival in patients ≥ 13 years old and when an alternative HSCT donor such as an unrelated or haploidentical donor was used.(6, 7) Since better graft-versus-host-disease (GVHD) prophylaxis, new conditioning regimens with minimal toxicity and alternative donors are under investigation, the number of transplants and transplant opportunities for patients with SCD is expected to increase. Currently, HSCT indications are established according to published studies on severity of the disease and risk of death due to SCD, but can also be based on expert opinion. The most frequent indications are stroke, cerebrovascular disease, frequent vasocclusive episodes (VOE) and acute chest syndrome (ACS), priapism, alloimmunization, avascular necrosis (AVN), pulmonary disease, kidney disease, and abnormal TCD velocity.(8-12) As patients with classic indications for transplant typically have more severe disease, a severity score of risk of mortality could serve as a practical tool to periodically measure the likelihood of being a candidate for transplant.

The objective of this study is to determine the risk of death of participants in the REDS-III SCD cohort through a severity score determined by a Bayesian network model and to compare severity scores between participants with and without an indication for HSCT as defined by the Brazilian Ministry of Health (MoH) criteria. We hypothesize that candidates for transplant have higher scores than non-candidates. This result will be used to clarify the defined HSCT indications as markers of severity and to establish a cut-off score that could indicate transplant for an individual.

Methods

1. REDS-III Brazil SCD Cohort

The REDS-III SCD cohort is a multicenter study conducted in six cities in Brazil, where 2793 SCD patients were recruited at routine healthcare visits from 2013-2015 and followed for two years to investigate clinical outcomes. The clinical and genetic ancestry profile of the cohort have been described elsewhere. (15)

2. Identification of cohort participants with an indication for HSCT

We have previously published results of a study that identified and characterized REDS-III participants who had an indication for HSCT according to Brazilian Ministry of Health (MoH) Ordinance, which was developed by a panel with expertise in SCD.(12) These criteria included homozygous SS or S β 0 patients with at least one of the following: stroke, cerebrovascular disease, more than two alloantibodies while on chronic transfusion therapy (CTT), or one or more of the following despite treatment with hydroxyurea (HU): more than two vaso-occlusive episodes (VOE) or acute chest syndrome (ACS) episodes in the last year, more than one episode of priapism, and avascular necrosis (AVN) of more than one joint. Patients younger than 16 years were considered children and those 16 or older were considered adults as the original MoH ordinance defined only SCD individuals <16y as eligible for HSCT. This was later expanded to include all ages with at least one of the defined clinical criteria. From the 2063 SS/S β 0 participants included in the REDS-III cohort, 431 (279 adults and 152 children) had at least one indication for transplant. (13)

3. A Bayesian network model to predict the risk of death in SCD

Sebastiani and colleagues developed a Bayesian network model of severity scores to predict the risk of death in 5 years of individuals with sickle cell disease.(14) Data from participants of the US Cooperative Study of Sickle Cell disease (CSSCD) were the primary data source used to construct the model. Twenty---five clinical events and laboratory tests with hierarchical relationships were included in the model, but a reduced set of sixteen predictive variables sufficient to compute the risk of death was identified: SCD genotype, age, gender, ACS, blood transfusion, pain, priapism, sepsis, avascular necrosis, stroke, systolic blood pressure (SysBP), bilirubin, lactate dehydrogenase (LDH), mean corpuscular volume (MCV), reticulocyte and white blood count (WBC). Patients who died (n=283) were used to compute the risk of death. The model was later validated in two populations of adults with SCD. The severity score ranges from 0 (less severe) to 1 (most severe)(14) and it can be obtained through the automatic Disease severity score calculator available at: <http://bios.ugr.es/dss-calculator/>. This score was developed and validated only in the adult SCD population. We compared severity scores between adults with and without a HSCT indication and also performed and exploratory analysis of the severity score in children.

4. Severity score applied to REDS-III Brazil SCD participants

Data collected from the enrollment visit of the REDS-III Brazil SCD cohort was used to calculate the severity score (generated by Bayesware calculator) for all participants. These scores were compared between participants with ≥ 1 and no indication for HSCT according to Brazilian MoH (described above).

The calculator uses age ranges of <18y, 18-40, >40y. Our initial analysis to identify children and adults who would be eligible for HSCT based on Brazilian

MoH criteria defined children as age < 16 years. This threshold was chosen because the first published MoH Ordinance indicated HSCT was appropriate only for children under 16 years old based on evidence of improved HSCT outcomes in children younger than 16 with thalassemia with less severe iron overload.(9)(11, 16, 17). Therefore for the current analysis we used <16 and 16-40, >40y age categories based on this Brazilian context.

Patients with genotypes SS, S-Beta0, SD and S-Quebec-Chori were clustered in the same group (sickle cell anemia, SCA) due to their similar severity.(18-22) The calculator has only two options for genotype: SS* and SC. The SCA group was identified in the calculator as SS* (apart from SC).

We next measured the sensitivity and specificity of the severity score to predict if participants were a HSCT candidate with Receiver Operating Characteristic (ROC) curves, a graphical plot that illustrates the diagnostic ability of a binary classifier system as its discrimination threshold varies. We investigated if there was a specific severity score threshold to indicate HSCT for an individual with SCD.

We also explored the distribution of severity scores among age groups to compare to the distributions described in other studies. (23, 24)

5. Statistical analysis

Qualitative clinical variables were presented as frequencies and quantitative variables as mean +/- standard deviation (or median with interquartile range as appropriate). Quantitative variables were assessed for normality using the Shapiro-Wilk test. To evaluate the association between two qualitative variables we used Chi-Square and Fisher's exact test. Comparison of quantitative variables between two groups was made by using Students t--test

for independent samples or Wilcoxon Mann-Whitney test. The Receiver Operating Characteristic (ROC) curve was performed to evaluate the ability of the severity score to identify the cases with at least one HSCT indication. The results were shown as area under the curve (AUC) with respective 95% confidence intervals (CI). The analysis was performed in R version 4.0.0 free program and we considered significance $p < 0.05$.

6. Ethics

The REDS-III Brazil SCD cohort study was approved by national and local Brazilian ethics committees (CONEP and CEP-FMUSP), and the institutional review boards at the University of California San Francisco and Research Triangle Institute, International (the data coordinating center for REDS-III).

Results

Of the 2793 REDS-III participants, 2063 SCA participants (1090 adults and 974 children) were included in this analysis. The median age was 16 years and the majority had mixed (58%) or black (28%) skin color. Sociodemographic characteristics of patients are described in Table 1. There were 1,632 participants without indication for transplant (821 adults and 811 children) and 431 with at least one indication (279 adults and 152 children).

Patients with ≥ 1 HSCT indication had higher median severity scores than patients without indication for all ages (0.127 vs 0.095, $p=0.007$). There was no significant difference between severity scores of adults with or without a HSCT indication.(Table 2) In children, means of severity scores were very similar, although medians were significantly higher in the 822 children without an indication for HSCT compared to 152 children with an indication (median= 0.053 vs 0.045; $P= 0.004$).

No obvious difference in severity scores between groups with 0 and ≥ 1 HSCT indication for transplant was evident as shown in box plots in Figure 1. There was a high number of participants (outliers) with high severity scores but no indication for transplant (62 children $<16y$ with score above 0.47, and 90 adults $\geq 16y$ with score above 0.87).(Figure 1)

The area under the ROC was close to 50%, showing low accuracy of the severity score model. An obvious cutoff point of severity score that could differentiate individuals with and without indication for transplant was not seen.(Figure 2)

Among children ($n=973$), the proportion of frequency of milder severity scores was higher than other scores. In the ages 16 to 40y ($n= 914$), the distribution

of severity scores resembled a U shape with higher proportion of participants demonstrating extremes of low and high scores. The age > 40y (n= 176) group showed a greater frequency of higher severity scores. (Figure 3)

Because we used 16y rather than 18y to define children, we also conducted a sensitivity analysis using the age of 18 as recommended by the Bayesian network model. The results using age categorization of <18y and 18-40y were not significantly different than results using <16y and 16-40y. Results using the age 18y threshold are provided in Supplemental material.

Discussion

In this analysis, overall we found that disease severity scores for mortality were significantly higher in participants with at least one indication for HSCT. Importantly, however, we were not able to replicate this result when the analysis was stratified into pediatric and adult groups. In children, severity scores were similar regardless of indication for HSCT. Unexpectedly, medians were statistically higher in the group without any indication for transplant. Despite this statistical difference, visual representation of the distribution of the data in box plots did not demonstrate a clear distinction between severity scores of children and adults with and without an indication for HSCT. Additionally, the ROC curve showed little power for the severity score to predict a patient as a candidate for transplant. The objective of our study was to investigate if this score could predict if a SCD patient was eligible for a HSCT based on Brazilian MoH criteria, but our results do not show a strong relationship between severity scores and indications for HSCT.

A patient might have only one indication for transplant but the Bayesian model is more comprehensive for estimating the severity of the disease because it includes several variables that have hierarchical correlations among each other. The Bayesian model was developed in the Cooperative Study of SCD cohort participants recruited from 1978-1988 and then validated in two cohorts of adults.⁽¹⁴⁾ It was also applied to a group of 50 patients in London in 2009, confirming the positive predictive value of the model, when the scores were compared with severity assessed by clinicians. ⁽²⁵⁾ In our study, we calculated scores for children and adults and hypothesized that patients with

indications for transplant would have more severe disease than patients without any indication.

Reasons for why severity scores do not appear to predict HSCT in our study need further consideration. There might be differences between the original cohorts used to define the score and the REDS-III Brazil SCD cohort regarding genetic, sociodemographic and educational characteristics, as well as access to supportive care, diagnostic tests and medication availability. Thus, for current SCD cohorts, other variables for constructing a score may need to be considered.

There were a number of individuals who were outliers with very high severity scores without any indication for transplant. This may happen because many patients are stable at the same time they have severe disease, yet they do not have a complication listed as indication for transplant. Furthermore, our results suggest that perhaps other factors should be considered to determine if a transplant is indicated for a patient, and indications should be revised, based on results of emerging HSCT treatment modalities with improving outcomes. (10, 26)

One important question is whether patients with high severity scores should be considered for HSCT regardless of specific clinical indications. In our study, we found that older patients had higher distribution of more severe scores than younger patients. Age is a variable highly predictive of death in the model (14) and the lack of association between severity scores of older patients with at least one indication for transplant is likely due to survival bias, as patients with severe disease may die before they have a defined indication for the procedure. Disease mortality should be balanced against the risk of the

transplant. Because of the increased mortality with increasing age (8) and the lower overall and event-free survival, considerable rates of toxicity and GVHD in adult HSCT recipients can occur especially for alternative donors and modified conditioning regimens; (27, 28) we believe additional tools are needed to identify appropriate candidates particularly in the adult population. (4, 28) Additionally, due to the low likelihood of finding a compatible donor for individuals with SCD in national registries, (29, 30) older patients who could benefit from alternative treatments should be identified so treatment could start as soon as possible.

It is important to note that this severity score was not validated in the pediatric population. We decided to apply the score in both age groups because the indications for HSCT are the same in children and adults based on MoH criteria. In addition, many of the factors contributing the score include laboratory markers that are likely stable over time. However, the risk of death in children with SCD is different than adults, and children might not have sufficient mortality to be able to validate this score. W. van den Tweel et al created a severity score for children with SCD which is different from this Bayesian network, as it includes different clinical and laboratory complications that are more specific to the pediatric population. (31) There is a clear opportunity to implement a reasonable score for children utilizing clinical, laboratory and potentially genetic data encountered early in a patient's life that could better define the severity in this age group. As discussed by Meier, if a reliable predictive model for severity existed, HSCT (or other curative treatments) could be offered prior to the onset of severe complications, such as vasculopathy and organ damage. (32) Prevention of these morbidities may

be especially applicable for children under 13 years old, who have excellent overall and event-free survival after HSCT with a compatible HLA donor. (4, 6, 10, 27, 33)

This study has limitations. The Brazilian MoH regulation does not include indications for transplant considered by other authors such as sickle lung disease, sickle nephropathy and retinopathy, (9, 34) however, it contains most indications including those which can be easily detected during clinical follow-up. Another limitation is the difference of age categorization used in this study and those of Sebastiani and colleagues who developed the severity score. In our analysis we included persons over the age of 16 as adults. Our sample has 135 patients (6.5% of the sample) 16 and 17 years old, therefore we do not believe this low number of patients would change the analysis in either of the age group we used because the sensitivity analysis did not change the interpretation of our findings.

A score that included other variables related to current treatments and tests, and also genetic polymorphisms, may increase the likelihood of predicting the risk of death in contemporary populations of SCD individuals, leading treating physicians to modify treatment strategies for patients who are at the highest risk of poor outcomes.

In this analysis, we could not define a severity score that establishes a threshold to identify a patient who is a candidate for HSCT transplant, so we conclude that severity scores measured at one point in time cannot function as a measure to indicate HSCT for SCD patients in Brazil. However, we still consider severity scores useful if regularly measured to predict the risk of death, because status of patients may change over time. Pediatric patients

may not have had time to develop indications for transplant, but information on severity scores tracked over time as part of clinical care can inform treating physicians of disease progression short of frank indications for HSCT. Similarly, as adults have increasing disease severity with increasing age evaluation of severity scores can indicate when curative treatment to avoid major morbidity or mortality should be considered. For both pediatric and adult population further investigation of the trajectory of severity scores measured at different times is warranted. The rate of change in severity score may prove to be a useful tool for identifying candidates for HSCT.

Table 1. Sociodemographic characteristics of 2063 REDSIII SCA patients with 0 and ≥ 1 indication for HSCT

Characteristics	0 HSCT indication N = 1,632	≥ 1 HSCT indication N = 431	P value	Total N = 2,063
Gender			<0.001 ^c	
F	895 (55)	197 (46)		1,092
M	737 (45)	234 (54)		971
Age*	19 $\pm$ 13 (15)	22 $\pm$ 12 (20)	<0.001 ^w	19 $\pm$ 13 (16)
<16	821 (50)	152 (35)		973 (47)
16-40	675 (41)	239 (56)		914 (44)
>40	136 (8)	40 (9)		176 (9)
Skin color** (n=2,059)			0.799 ^c	
Black	454 (28)	123 (29)		577
Mixed	948 (58)	251 (58)		1,199
White	167 (10)	37 (9)		204
Unknown	62 (4)	17 (4)		79
SCD type			0.392 ^c	
SS	1,549 (95)	414 (96)		1,963
Other severe genotypes***	83 (5)	17 (4)		100
Marital status (n=953****)			0.011 ^c	
Single	423 (59)	156 (65)		579
Married/Living together	264 (37)	68 (28)		332
Separated/divorced	20 (3)	15 (6)		35
Widower	6 (1)	1 (1)		7
Education (n=1,834****)			0.448 ^c	
Incomplete elementary/ Adults literacy or less	626 (44)	177 (42)		803
Completed elementary	271 (20)	74 (18)		345
High school/ technical course	430 (30)	144 (34)		574
Graduation / Post- graduation	89 (6)	23 (6)		112
Monthly income***** (n=1,990**)			0.374 ^c	
< R\$ 700.00	304 (19)	64 (16)		368
Between R\$ 700 and R\$ 1,400	927 (59)	242 (60)		1,169
Between R\$ 1,400 and R\$ 3,000	286 (18)	83 (20)		369
> R\$ 3,000	67 (4)	17 (4)		84
Hemocenter			<0.001 ^c	
HBH	361 (22)	140 (32)		501
JFO	162 (10)	29 (7)		191
MOC	212 (13)	24 (6)		236
HEMOPE	371 (23)	104 (24)		475
HEMORIO	466 (28)	111 (26)		577
HCFMUSP	60 (4)	23 (5)		83

Values are N (%) unless otherwise defined; age presented as mean in years $\pm$ 2SD (median); *age (y), N (%)
 self-declared skin color is preferred in Brazilian Census instead of race; *other severe genotypes: 86 SB0, 7 SD, 1 SQuebec Chori, 2 SC, 2 SB+, 2 SB+ severe; ****some data were not obtained from all patients, percentages are related to categories; ***** exchange conversion in 2014 related to BRL and USD: 1 BRL (Reais) = .43 USD; Marital status only for adults $\geq$ 18y; HBH indicates Hemocenter of Belo Horizonte; JFO, Hemocenter of Juiz de Fora, HEMORIO, Hemocenter of Rio de Janeiro; HEMOPE, Hemocenter of Pernambuco; HCFMUSP, Hospital das Clínicas- Faculdade de Medicina da USP, Instituto da Criança

Table 2. Comparison between severity scores of REDSIII SCA patients with and without an indication for HSCT, according to age groups

Age	All Participants	0 HSCT Indication	$\geq$ 1 HSCT Indication	P value
All	0.213 $\pm$ 0.254 (0.100)	0.201 $\pm$ 0.241 (0.095)	0.261 $\pm$ 0.292 (0.127)	0.007
Age groups				
< 16y	0.111 $\pm$ 0.177 (0.052)	0.111 $\pm$ 0.176 (0.053)	0.112 $\pm$ 0.183 (0.045)	0.004
$\geq$ 16y	0.305 $\pm$ 0.276 (0.185)	0.292 $\pm$ 0.263 (0.183)	0.342 $\pm$ 0.308 (0.194)	0.354

Data presented as mean $\pm$ standard deviation (median). P values refer to Wilcoxon Mann-Whitney test.

(a) All sample

(b) < 16y

(c) $\geq 16y$

Figure 1. Severity score distribution of 2063 REDSIII SCA patients, divided into two groups: patients with 0 and ≥ 1 HSCT indication and (a) for all sample; (b) for patients with < 16 y, (c) for patients ≥ 16 y. P value refers to Wilcoxon Mann Whitney test.

(a) All ages

(b) Age groups: _____ < 16y
 ----- ≥ 16y

Figure 2. ROC curve for severity scores of 2063 REDSIII patients with 0 and ≥ 1 HSCT indication (a) all ages (b) age groups: < 16y (N= 973); ≥ 16 y (N=1090). For age groups, patients with < 16 years AUC 57.4% (CI 95% 51.98%-62.82%) and patients ≥ 16 years old AUC 51.86% (CI 95%: 47.65%-56.07%).

Cut point (all sample): score 0.1075 (mean sensitivity and specificity 54.37%)

Cut point (<16y): score 0.0475 (mean sensitivity and specificity 59.24%)

Cut point (≥ 16 y): score 0.1905 (mean sensitivity and specificity 53.23%)

(a) < 16y (N= 973)

(b) 16 - 40y (N= 914)

(c) > 40y (N= 176)

Figure 3. Distribution of severity scores of 2063 REDSIII SCA patients by age groups

Acknowledgments

We wish to acknowledge the support from National Heart, Lung and Blood Institute NHLBI; American and Brazilian REDS-III investigators; from the University of California, San Francisco's International Traineeships in AIDS Prevention Studies (ITAPS), U.S. NIMH, R25MH123256 and the Starr Foundation Scholarship Fund.

Author contributions:

MVFP, VR conceived and designed the research study
 MVFP, MCO, ICGM performed the research
 MVFP, MCO, ICGM, SK, VR analyzed the data
 MVFP, SK, BC, VR wrote the paper
 MVFP, MCO, ICGM, PB, SK, CLO, LC, ARB, ABFCP, ASA, PL, CM, DOWR, RAM, ES, BC, VR discussed, revised critically and contributed to the final manuscript.
 All authors approved the submitted and final versions of the paper

Funding statement:

The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article

Conflict of interests:

All authors confirm they have no financial conflict of interest with regard to publication of this manuscript.

References

1. Fifty-ninth World Health Assembly: resolutions and decisions, annexes, (2006).
2. Piel FB, Steinberg MH, Rees DC. Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*. 2017 07;377(3):305.
3. Habara A, Steinberg MH. Minireview: Genetic basis of heterogeneity and severity in sickle cell disease. *Exp Biol Med* (Maywood). 2016 Apr;241(7):689-96.
4. Gluckman E. Sickle cell disease: an international survey of results of HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2017;129(11):1548-1556.
5. Houwing ME, de Pagter PJ, van Beers EJ, Biemond BJ, Rettenbacher E, Rijneveld AW, Schols EM, Philipsen JNJ, Tamminga RYJ, van Draat KF, Nur E,

Cnossen MH, Consortium S. Sickle cell disease: Clinical presentation and management of a global health challenge. *Blood Reviews*, <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.05.004>

6. Eapen M, Brazauskas R, Walters MC, Bernaudin F, Bo-Subait K, Fitzhugh CD, Hankins JS, Kanter J, Meerpohl JJ, Bolaños-Meade J, Panepinto JA, Rondelli D, Shenoy S, Williamson J, Woolford TL, Gluckman E, Wagner JE, Tisdale JF. Effect of donor type and conditioning regimen intensity on allogeneic transplantation outcomes in patients with sickle cell disease: a retrospective multicentre, cohort study. *Lancet Haematol*. 2019 Nov;6(11):e585-e596.

7. Brazauskas R, Scigliuolo GM, Wang HL, Cappelli B, Ruggeri A, Fitzhugh CD, Hankins JS, Kanter J, Meerpohl JJ, Panepinto JA, Rondelli D, Shenoy S, Walters MC, Wagner JE, Tisdale JF, Gluckman E, Eapen M. Risk score to predict event-free survival after hematopoietic cell transplant for sickle cell disease. *Blood*. 2020 Jul;136(5):623-626.

8. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, Klug PP. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med*. 1994 Jun;330(23):1639-44.

9. Walters MC, Patience M, Leisenring W, Eckman JR, Scott JP, Mentzer WC, Davies SC, Ohene-Frempong K, Bernaudin F, Matthews DC, Storb R, Sullivan KM. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med*. 1996 Aug;335(6):369-76.

10. Angelucci E, Matthes-Martin S, Baronciani D, Bernaudin F, Bonanomi S, Cappellini MD, Dalle JH, Di Bartolomeo P, de Heredia CD, Dickerhoff R, Giardini C, Gluckman E, Hussein AA, Kamani N, Minkov M, Locatelli F, Rocha V, Sedlacek P, Smiers F, Thuret I, Yaniv I, Cavazzana M, Peters C. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel. *Haematologica*. 2014 May;99(5):811-20.

11. Simões BP, Pieroni F, Costa T, Barros GN, Darrigo G, Grecco CS, Bernardes JE, Moraes D, Stracieri AB, Cunha R, Rodrigues MC. Allogenic bone marrow transplantation in sickle-cell diseases. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2016 Oct;62 Suppl 1:16-22.

12. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria conjunta no 05, de 19 de fevereiro de 2018. Anexo: protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da doença falciforme. Brasília: 2018.

13. Flor-Park MV, Kelly S, Preiss L, Custer B, Carneiro-Proietti ABF, Araujo AS, Loureiro P, Maximo C, Rodrigues DOW, Mota RA, Sabino E, Rocha V. Identification and Characterization of Hematopoietic Stem Cell Transplant Candidates in a Sickle Cell Disease Cohort. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019;25:2103- 2109.
14. Sebastiani P, Nolan VG, Baldwin CT, Abad-Grau MM, Wang L, Adewoye AH, McMahon LC, Farrer LA, Taylor JG, Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. A network model to predict the risk of death in sickle cell disease. *Blood*. 2007 Oct;110(7):2727-35.
15. Carneiro-Proietti ABF, Kelly S, Teixeira CM, Sabino EC, Alencar CS, Capuani L, Silva TPS, Araujo A, Loureiro P, Máximo C, Lobo C, Flor-Park MV, Rodrigues DOW, Mota RA, Gonçalves TT, Hoppe C, Ferreira JE, Ozahata M, Page GP, Guo Y, Preiss L, Brambilla D, Busch MP, Custer B, (REDS-III) for the International Component of the NHLBI Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study (REDS-III) Clinical and genetic ancestry profile of a large multi-centre sickle cell disease cohort in Brazil. *British Journal of Haematology*. 2018 Sep;182(6):895-908
16. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria 1321 Transplante de células-tronco hematopoiéticas alogênico do tipo mieloablativo no tratamento da doença falciforme. Brasília: 2015.
17. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, Durazzi S. Bone Marrow Transplantation in Thalassemia. The Pesaro experience. *Haematologica*. 1989;74;5:266-270.
18. Kelleher Jr JF, Park JO, Kim HC, Schroeder WA. Life-threatening complications in a child with hemoglobin SD-Los Angeles disease. *Hemoglobin*. 1984;8(3):203-213.
19. Schneider RG, Ueda S, Alperin JB, Levin WC, Jones RT, Brimhall B. Hemoglobin D Los Angeles in Two Caucasian Families: Hemoglobin SD Disease and Hemoglobin D Thalassemia. *Blood*. 1968;32(2):250-9.
20. Sturgeon P, Itano HA, Berggren WR. Clinical Manifestations of Inherited Abnormal Hemoglobins. The Interactions of Hemoglobin-S with Hemoglobin-D. *Blood*. 1955;10(5):389-404.
21. Tubman VN, Bennett CM, Luo HY, Chui DHK, Heeney MM. Sickle Cell Disease caused by Hemoglobin S/Québec-CHORI: Treatment with hydroxyurea and response. *Pediatric Blood and Cancer*. 2007;49(2):207-10.

22. Witkowska HE, Lubin BH, Beuzard Y, Baruchel S, Esseltine DW, Vichinsky EP, Kleman KM, Bardakdjian-Michau J, Pinkoski L, Cahn S, et al. Sick Cell Disease in a Patient with Sick Cell Trait and Compound Heterozygosity for Hemoglobin S and Hemoglobin Quebec-Chori. *N Eng J Med*. 1991;325:1150-1154.
23. Sebastiani P, Solovieff N, Hartley SW, Milton JN, Riva A, Dworkis DA, Melista E, Klings ES, Garrett ME, Telen MJ, Ashley-Koch A, Baldwin CT, Steinberg MH. Genetic modifiers of the severity of sickle cell anemia identified through a genome-wide association study. *Am J Hematol*. 2010 Jan;85(1):29-35.
24. Belini Junior E, Silva DGnH, Torres LdS, Okumura JsV, Lobo CLdC, Bonini-Domingos CR. Severity of Brazilian sickle cell disease patients: Severity scores and feasibility of the Bayesian network model use. *Blood Cells, Molecules and Diseases*. 2015;54:321-327.
25. Anoop P, Bevan DH, Chakrabarti S. Usefulness and limitations of Bayesian network model as a mortality risk assessment tool in sickle cell anemia *Am J Hematol*. 2009;Correspondence:312-313.
26. Hulbert ML, Shenoy S. Hematopoietic stem cell transplantation for sickle cell disease: Progress and challenges. *Pediatr Blood Cancer*. 2018. 16;65(9):e27263.
27. Cappelli B, Volt F, TozattoMaio K, Scigliuolo G, Ferster A, Dupont S, al. e. Risk factors and outcomes according to age at transplantation with an HLA-identical sibling for sickle cell disease. *Haematologica*. 2019;104:e543.
28. Walters MC, De Castro LM, Sullivan KM, Krishnamurti L, Kamani N, Bredeson C, Neuberg D, Hassell KL, Farnia S, Campbell A, Petersdorf E. Indications and Results of HLA-Identical Sibling Hematopoietic Cell Transplantation for Sickle Cell Disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Feb;22(2):207-211.
29. Nunes K, Aguiar V, Silva M, Sena A, de Oliveira D, Dinardo D, Kehdy F, T arazona-Santos E, Rocha V, Carneiro-Proietti A, Loureiro P, Flor-Park M, Maximo C, Kelly S, Custer B, Weir B, Sabino E, Porto L, D M. How Ancestry Influences the Chances of Finding Unrelated Donors: An Investigation in Admixed Brazilians. *Frontiers of Immunology*. 2020 Nov6;11:584950.
30. Gragert L, Eapen M, Williams E, Freeman J, Spellman S, Baitty R. HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry *N Engl J Med* 2014;371:339-48.

31. van den Tweel XW, van der Lee JH, Heijboer H, Peters M, Fijnvandraat K, Sebastiani P, Nolan VG, Baldwin CT, Abad-Grau MM, Wang L, Adewoye AH, McMahon LC, Farrer LA, Taylor JGt, Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Development and validation of a pediatric severity index for sickle cell patients A network model to predict the risk of death in sickle cell disease. *Am J Hematol*. 2010. 85:746-51
32. Meier ER, Fasano RM, Levett PR. A systematic review of the literature for severity predictors in children with sickle cell anemia. *Blood Cells Mol Dis*. 2017 06;65:86-94.
33. Bernaudin F. Why, Who, When, and How? Rationale for Considering Allogeneic Stem Cell Transplantation in Children with Sickle Cell Disease *Journal of Clinical Medicine*. 2019;8:1523.
34. Shenoy S. Hematopoietic stem-cell transplantation for sickle cell disease: current evidence and opinions. *Ther Adv Hematol*. 2013 Oct;4(5):335-44.

Supplementary data

Severity Score for Mortality is not Predictive of Indication for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children and Adults with Sickle Cell Disease

Table 2. Comparison between mean severity scores of REDSIII SCA patients with and without an indication for HSCT, according to age groups

Age	All Participants	0 HSCT Indication	≥ 1 HSCT Indication	P value
All	0.213 ± 0.254 (0.100)	0.201 ± 0.241 (0.095)	0.261 ± 0.292 (0.127)	0.007
Age groups				
< 18y	0.118 ± 0.185 (0.052)	0.115 ± 0.180 (0.053)	0.129 ± 0.207 (0.045)	0.007
≥18y	0.325 ± 0.277 (0.192)	0.311 ± 0.265 (0.189)	0.364 ± 0.307 (0.214)	0.334

Data presented as mean ± standard deviation (median). P values refer to Wilcoxon Mann-Whitney test.

(a) all sample

(b) < 18 y (c) ≥ 18 y

Figure 1. Severity score distribution of 2063 REDSIII SCA patients, divided into two groups: patients with 0 and ≥ 1 HSCt indication (a) for all sample; (b) for patients with < 18 y, (c) for patients ≥ 18 y. P value refers to Wilcoxon Mann Whitney test.

Figure 2. ROC curve for severity scores of 2063 REDSIII patients with 0 and ≥ 1 HSCT indication (a) all ages (b) age groups: $< 18y$; $\geq 18y$. For age groups, patients with < 18 years AUC 56.22% (CI 95% 51.23%-61.21%) and patients ≥ 18 years old AUC 52.08% (CI 95%: 47.51%-56.64%).

Cut point (all sample): score 0.1075 (mean sensitivity and specificity 54.37%)

Cut point ($<18y$): score 0.0505 (mean sensitivity and specificity 56.91%)

Cut point ($\geq 18y$): score 0.2125 (mean sensitivity and specificity 53.78%)

6. ANÁLISE CRÍTICA DOS ARTIGOS

6.1. Análise crítica do artigo 1

O estudo identificou 431 indivíduos com DF (279 adultos e 152 crianças) na coorte REDS-III com pelo menos uma indicação para o TCTH segundo o MS (2008). Como um estudo descritivo, ele completou o seu objetivo, descrevendo a caracterização dos candidatos em comparação aos não candidatos ao transplante, mostrando que os pacientes com ≥ 1 indicação para o TCTH têm mais complicações do que os pacientes sem indicação. Identificou também o número de pacientes com irmãos sem DF, e calculou o número possível de pacientes que teriam um doador.

O estudo de candidatos ao transplante dentro da coorte REDS-III é válido e útil, pois identificou os pacientes que tinham as informações necessárias para conhecer o número de pessoas que seriam candidatos ao TCTH de acordo com a Portaria do MS de 2018. Pode-se questionar se a amostra dos participantes da coorte REDS-III é representativa da população de pacientes falciformes no Brasil, e se porventura pode-se generalizar os seus resultados para todos os demais pacientes. Com respeito a isso, podemos afirmar que os esforços e a organização para empreender e concluir um estudo em seis cidades diferentes em quatro estados brasileiros torna esses números mais representativos do que qualquer outra fonte atual de dados. Essas informações podem servir para planejar e estruturar os serviços de transplante, capacitar equipes, informar pacientes, famílias e especialistas.

O estudo têm relevância atual, visto que o número de transplantes está aumentando em vários países, e ainda está incipiente no Brasil. Alguns centros têm empreendido esforços em realizar transplantes para a DF, como é o caso do Hospital das Clínicas da FMRP- USP, em Ribeirão Preto- SP. Neste serviço, já foram realizados mais de 51 transplantes para pacientes com DF de 2004 até o momento, além de cerca de 30 transplantes em outros centros brasileiros (comunicação verbal da Dra. Belinda Simões). Mas ainda não há vagas e estrutura para toda a população de pacientes que já teria indicação de transplante no momento. Mesmo assim, este estudo é um alerta para que ações possam ser iniciadas em direção à implantação de transplantes para pacientes com DF no Brasil, como por exemplo ampliar as ações de educação médica para a identificação dos pacientes com DF candidatos ao TCTH.

O estudo não descreve se os médicos cuidadores já identificam os candidatos ao TCTH e se os pacientes identificados já foram testados para compatibilidade HLA. Considerando a probabilidade de compatibilidade de HLA descritas no estudo, cerca de um total de 49- 67 indivíduos teriam prontamente indicação e doador para o TCTH no momento. Esta é uma questão relevante, e o devido reconhecimento dos candidatos, testagem e encaminhamento de receptores e doadores para os centros de transplante é fundamental para oferecer um tratamento que é garantido por lei. Há estados que não têm centros públicos de transplante, e acredita-se que muitos médicos têm conhecimento insuficiente sobre as indicações ou mesmo sobre o TCTH na DF. Com a maior divulgação de pesquisas nessa área, com o questionamento ativo das equipes cuidadoras, pode-se aumentar o número de transplantes e beneficiar os pacientes.

Em conclusão, este estudo mostrou dados reais e importantes de como as indicações de TCTH definidas na Portaria do MS poderiam impactar os pacientes brasileiros com DF no Brasil, já que quase um quinto da população de pacientes com AF tem pelo menos uma indicação clínica para o TCTH e portanto o Brasil deveria expandir a sua capacidade de maneira a tornar possível a cura dessa doença para aqueles que possuem doadores.

6.2. Análise crítica do artigo 2

O estudo aplicou um escore de gravidade para 2063 participantes do grupo *anemia falciforme* de uma coorte de 2793 pacientes com DF no Brasil. Comparou a diferença dos escores de dois grupos de pacientes: com e sem indicação para o TCTH, segundo o MS (2018). Além disso, pesquisou a acurácia do escore em diferenciar estes dois grupos de pacientes através da curva ROC e mostrou a distribuição dos escores segundo as faixas etárias. É uma análise válida e atual, devido à sua potencial utilidade, com a crescente demanda de transplantes de diferentes modalidades, principalmente em adultos.

Mesmo com a significância estatística das comparações, os autores consideraram que o estudo não confirmou a sua hipótese, de que os escores dos candidatos seriam maiores do que os escores dos não- candidatos ao TCTH para todas as idades e para os ≥ 16 anos. De fato, a demonstração gráfica em “*box plots*” que não revelou uma clara diferença entre eles, pois existe um grande número de pontuações do escore que se sobrepõem nos 2 grupos, o que clinicamente não discrimina um paciente de outro. Além disso, a

curva ROC mostrou baixa acurácia do escore em diferenciar os dois grupos, quando analisamos os valores encontrados. Nos < 16 anos: área abaixo da curva (AAC)= 57.4% (IC 95% 51.98%- 62.82%); nos ≥ 16 anos: AAC= 51.86% (IC 95%: 47.65%- 56.07%). A AAC entre 50- 60 é considerado um valor baixo ou “fail” (falha) para estabelecer que um teste diagnóstico diferencie dois grupos (no caso, o escore).(74) Se a AAC está dentro do intervalo de confiança (IC) que atravessa a linha dos 50%, isto significa que a chance do escore é igual ao acaso para ser considerado como um teste diagnóstico para o fim a que se destina. O estudo concluiu então que o escore não tem o poder para ser um parâmetro partir do qual seria indicado o transplante para um determinado paciente.

Para os adultos ≥ 16 anos, a diferença não foi significativa entre o grupo de candidatos e de não candidatos ao TCTH. Isto poderia ser explicado pelo fato de que os critérios definidos pelo MS não avaliam o risco de morte, mas selecionam os pacientes que têm morbidade significativa que foram historicamente definidos como justificativa para o transplante. O escore do Modelo Bayesiano é considerado mais abrangente do que um modelo de regressão, pois contempla maior número de variáveis do que o conjunto de indicações do MS, e que têm relações hierárquicas entre si. Para os adultos, uma medida como um escore poderia ter maior importância, até porque o estudo mostrou que há muitos “outliers”, ou seja, pacientes que têm altos escores mas que não têm indicação pelo MS. O estudo poderia citar quantos são, poderia explorar mais especificamente as características desses “outliers”,

na tentativa de encontrar os motivos pelos quais eles têm alto escore mas não se encaixam na lista de indicações.

Outra consideração a ser feita é que o escore de gravidade foi aplicado em uma coorte estadunidense de pacientes, o *CSSCD*, cuja coleta de dados se deu entre 1978 e 1988. O presente estudo está revisitando as variáveis que foram usadas para o modelo bayesiano com os dados daquela época. A coorte REDS-III iniciou-se em 2013, e nessa época já podem ser citadas diferenças entre os dois grupos de pacientes: tratamento com HU, redução da incidência de AVE por causa da profilaxia primária com TTC, redução da mortalidade, maior arsenal e disponibilidade de exames para detectar alterações da doença e maior disponibilidade para sua realização (exemplo: DTC, RNM de encéfalo, fundo de olho). O estudo não contemplou a comparação entre escores das duas coortes. A aplicação desse escore na população atual pode ser diferente justamente pela diferença entre as duas populações.

Como as indicações de transplante são as mesmas para adultos e crianças, os autores escolheram esse escore em detrimento de outros, e incluíram as crianças nesta avaliação, ainda que a autora (Sebastiani) não tenha especificado quantas crianças havia na coorte de validação. As crianças sem indicação tiveram escore maior do que aquelas com indicação. A maioria das crianças (que não tem indicação para o TCTH), ainda não apresentou as complicações listadas como indicação, e já está em tratamento, ou sob uso de HU, e as variáveis que entram na calculadora do escore estão mais próximas do normal. Outra observação sobre um escore pediátrico: segundo a citação do Artigo 1 (candidatos a TCTH), na Tabela 2, conforme o avançar da idade,

aumenta o número de pacientes com indicação. A prescrição de HU para crianças de 9 meses já é recomendada,(75) e discute-se a realização precoce do TCTH nas crianças com doença menos grave ou até assintomática com doador irmão HLA compatível.(70) Assim, uma análise importante seria explorar o comportamento dos escores das crianças pequenas, desde os lactentes até os 5 anos de idade, e se um estudo genético definiria melhor a gravidade nessa faixa etária, antes do aparecimento das complicações. Outra sugestão é uma análise detalhada dos “*outliers*” no grupo pediátrico, ou seja, aqueles que não têm indicação de TCTH mas têm alto escore (Figura 1 do artigo).

O estudo escolheu um determinado escore como uma medida prática para avaliar se a decisão de indicar ou não o transplante para um determinado paciente poderia utilizá-lo. Questiona-se aqui se esse é o melhor escore, ou se haveria outra medida objetiva melhor para essa análise. Poderia ter sido feita uma comparação entre os outros escores citados nessa Tese? O estudo defende o modelo Bayesiano, como mais abrangente pois tem o poder de estabelecer relações de hierarquia entre as variáveis. Como a própria autora Sebastiani (2007) afirma, o modelo Bayesiano tem a vantagem de utilizar mais variáveis diagnósticas do que de um modelo de prognóstico, como a regressão logística, por exemplo.(45) Os demais escores descritos na introdução, apesar de bem objetivos, não têm essa sofisticação, de considerar diversas variáveis com as correlações entre elas. No caso da construção de um novo escore como foi aventado no estudo, quais seriam as variáveis incluídas? Como conduzir a construção de um escore de gravidade atual?

7. CONCLUSÕES

1. Artigo 1. Candidatos ao transplante

- O estudo identificou 16% das crianças e 26% dos adultos com AF em uma coorte brasileira têm indicação de TCTH, ou seja, 431 pacientes com doença falciforme no Brasil
- O estudo identificou 281 pacientes que têm pelo menos um irmão sem DF, e estimamos que 49 a 67 pacientes teriam um irmão HLA compatível para ser potencial doador para o transplante
- com esses números, tem-se uma estimativa do número de pacientes que teriam indicação de transplante no presente momento no Brasil

2. Artigo 2. Escore de gravidade na DF

- Mesmo com diferença estatisticamente significativa, a comparação dos escores dos grupos, candidatos e não-candidatos ao transplante, não evidenciou o poder do escore em discriminar clinicamente os dois grupos. Este escore não foi considerado determinante para definir se um paciente com DF é ou não candidato ao TCTH.
- A distribuição dos escores por faixa etária mostra uma concentração de escores leves nas crianças < 16 anos, e uma distribuição semelhante a “U” nas duas faixas etárias, de <16- 40 anos, e > 40 anos, com maior concentração de escores leves e graves.

Sugestões para trabalhos futuros:

- ❖ Está em andamento um estudo dos escores de gravidade de todos os pacientes da coorte REDS, relacionando-os com a mortalidade durante o período de estudo. Este estudo se propõe a validar o escore como preditor de risco de morte na coorte REDS.
- ❖ Há dados para que se faça um estudo do escore de gravidade com associação de genoma (“*Genome wide association study, GWAS*”) para a pesquisa de *SNPs* que se relacionem com os escores mais altos, ou seja, com risco maior de morte.
- ❖ Existe no grupo do REDS-III e FMUSP uma iniciativa para o desenvolvimento de um novo escore de gravidade, dividido em adultos e crianças, considerando variáveis atuais, baseadas nas características dos pacientes da coorte RED-III.

8. ANEXOS

Anexo A. Aprovação da CAPPesq do Projeto de Pesquisa

Continuação do Parecer: 2.491.961

Benefícios: conhecer a população estudada em termos de número de candidatos ao transplante para traçar um panorama nacional, real e atual dessa natureza, pois com essa informação precisa, pode-se planejar o atendimento e realização dos transplantes no Brasil, e beneficiar os pacientes que têm doador para a cura através desse procedimento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto com boa fundamentação teórica, metodologia adequada aos objetivos propostos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Por se tratar de um estudo observacional, analítico e descritivo retrospectivo, que empregará apenas informações da base de dados do Estudo REDS (Estudo longitudinal Multicêntrico da Doença Falciforme no Brasil), sem previsão de utilização de material biológico, dispensa a aplicação de TCLE. Os pesquisadores se comprometem a realizar a pesquisa segundo a Res. CNS Nº 466/12, e suas complementares, no que diz respeito ao sigilo e confidencialidade dos dados coletados.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências, e adequado para aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

: Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1054596.pdf	26/12/2017 19:57:44		Aceito
Folha de Rosto	FR_HSCT_assinada_dra_Eloisa.pdf	26/12/2017 19:56:48	Miriam Verônica Flor Park	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 2.491.961

Benefícios: conhecer a população estudada em termos de número de candidatos ao transplante para traçar um panorama nacional, real e atual dessa natureza, pois com essa informação precisa, pode-se planejar o atendimento e realização dos transplantes no Brasil, e beneficiar os pacientes que têm doador para a cura através desse procedimento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto com boa fundamentação teórica, metodologia adequada aos objetivos propostos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Por se tratar de um estudo observacional, analítico e descritivo retrospectivo, que empregará apenas informações da base de dados do Estudo REDS (Estudo longitudinal Multicêntrico da Doença Falciforme no Brasil), sem previsão de utilização de material biológico, dispensa a aplicação de TCLE. Os pesquisadores se comprometem a realizar a pesquisa segundo a Res. CNS Nº 466/12, e suas complementares, no que diz respeito ao sigilo e confidencialidade dos dados coletados.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências, e adequado para aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

: Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1054596.pdf	26/12/2017 19:57:44		Aceito
Folha de Rosto	FR_HSCT_assinada_dra_Eloisa.pdf	26/12/2017 19:56:48	Miriam Verônica Flor Park	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 2.491.961

Brochura Pesquisa	Projeto_de_pesquisa_portugues_TCTH_DF_2017.docx	18/12/2017 11:49:42	Miriam Verônica Flor Park	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_detalhado_portugues_TCTH_DF_2017.docx	18/12/2017 11:49:22	Miriam Verônica Flor Park	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_compromisso_doutorado.docx	18/12/2017 11:42:40	Miriam Verônica Flor Park	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_dra_Ester.docx	18/12/2017 11:42:22	Miriam Verônica Flor Park	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_Clinica_Medica_Dra_Miriam_Park.pdf	18/12/2017 11:41:57	Miriam Verônica Flor Park	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Justificativa_de_dispensa_de_TCLE.docx	18/12/2017 11:41:20	Miriam Verônica Flor Park	Aceito
Orçamento	Orcamento_do_Estudo.docx	18/12/2017 11:40:58	Miriam Verônica Flor Park	Aceito
Cronograma	Cronograma_do_Estudo.docx	18/12/2017 11:39:50	Miriam Verônica Flor Park	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 08 de Fevereiro de 2018

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

9. REFERÊNCIAS

1. Online Mendelian Inheritance in Man. [Available from: <https://omim.org/entry/603903>] (acesso em 30/11/2020)
2. Murao M, Ferraz MH. Sick cell trait- heterozygous for the hemoglobin S. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29:223-5.
3. Kato G, Piel F, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, Smith WR, Panepinto JA, Weatherall DJ, Costa FF and Vichinsky EP. Sick cell disease. *Nature Reviews.* 2018;4(18010):1-22.
4. Heeney M, Ware R. Sick Cell Disease. In: *Orkin SH, editor. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood.* Philadelphia: Elsevier; 2015.
5. Habara A, Steinberg MH. Minireview: Genetic basis of heterogeneity and severity in sick cell disease. *Exp Biol Med* (Maywood). 2016 Apr;241(7):689-96.
6. Ballas SK. *Sick Cell Pain.* second edition ed. Washington: IASP Press; 2014. 730 p.
7. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, et al. Mortality in sick cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med.* 1994 Jun;330(23):1639-44.
8. Brousse V, Hoss SE, Bouazza N, Arnaud C, Bernaudin F, Pellegrino B, et al. Prognostic factors of disease severity in infants with sick cell anemia: A comprehensive longitudinal cohort study. *Am J Hematol.* 2018;94:1411-9.
9. Sheehan VA, Luo Z, Flanagan JM, Howard TA, Thompson BW, Wang WC, et al. Genetic modifiers of sick cell anemia in the BABY HUG cohort: influence on laboratory and clinical phenotypes. *Am J Hematol.* 2013 Jul;88(7):571-6.
10. Meier ER, Fasano RM, Levett PR. A systematic review of the literature for severity predictors in children with sick cell anemia. *Blood Cells Mol Dis.* 2017 06;65:86-94.
11. Miller ST, Sleeper LA, Pegelow CH, Enos LE, Wang WC, Weiner SJ, et al. Prediction of adverse outcomes in children with sick cell disease. *N Engl J Med.* 2000 Jan;342(2):83-9.
12. Piel FB, Steinberg MH, Rees DC. Sick Cell Disease. *N Engl J Med.* 2017 07;377(3):305.
13. Houwing ME, de Pagter PJ, van Beers EJ, Biemond BJ, Rettenbacher E, Rijneveld AW, et al. Sick cell disease: Clinical presentation and management of a global health challenge. *Blood Rev.* 2019 09;37:100580.
14. Weatherall D, Akinyanju O, S. F. Inherited Disorders of Hemoglobin. In: Jamison D, Breman J, Measham A, editors. *Disease Control Priorities in Developing Countries.* 2nd edition ed. Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank; 2006.
15. World Health Organization. Fifty-ninth World Health Assembly: resolutions and decisions, annexes. Geneva: World Health Organization; 2006.

16. GBD 2017, DALY and HALE Collaborators. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018 11;392(10159):1859-922.
17. Piel FB, Hay SI, Gupta S, Weatherall DJ, Williams TN. Global burden of sickle cell anaemia in children under five, 2010-2050: modelling based on demographics, excess mortality, and interventions. *PLoS Med*. 2013;10(7):e1001484.
18. Weatherall DJ. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden *Blood*. 2010;115(22):4331- 6.
19. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria N.o 822, 06 de junho de 2001. Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). Brasília: 2001.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria N.o 1391, 16/08/2005. Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias. Brasília: 2005.
21. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. Doença falciforme: o que se deve saber sobre herança genética / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência – Brasília : Ministério da Saúde, 2014. 48 p.: il.
22. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria do Ministério da Saúde 2048/2009. Regulamento do Sistema Único de Saúde, SUS. Brasília: Diário Oficial da União 04/09/2009- Seção 1; 2009.
23. Brasil. Ministério da Saúde. PORTARIA CONJUNTA No 05, DE 19 DE FEVEREIRO DE 2018. ANEXO: PROTOCOLO CLÍNICO E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS DA DOENÇA FALCIFORME. Brasília: 2018.
24. Braga J, Veríssimo M, Saad S, Cançado R, Loggetto S. Guidelines on neonatal screening and painful vaso-occlusive crisis in sickle cell disease: Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular Project guidelines: Associação Médica Brasileira – 2016. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2016;38(2):147-157.
25. Serjeant GR, Serjeant BE. Management of sickle cell disease; lessons from the Jamaican Cohort Study *Blood Rev* 1993;7:137-45.
26. Bonds D. Three decades of innovation in the management of sickle cell disease: the road to understanding the sickle cell disease clinical phenotype. *Blood Rev*. 2005;19:99-110.
27. Quinn CT, Rogers ZR, McCavit TL, Buchanan GR. Improved survival of children and adolescents with sickle cell disease. *Blood*. 2010 Apr;115(17):3447-52.
28. Grosse SD, Odame I, Atrash HK, Amendah DD, Piel FB, Williams TN. Sickle cell disease in Africa: a neglected cause of early childhood mortality. *Am J Prev Med*. 2011 Dec;41(6 Suppl 4):S398-405.

29. Fernandes A, Januário J, Cangussu C, Macedo D, Viana M. Mortality of children with sickle cell disease: a population study. *J Pediatr*. 2010;86(4):279-94.
30. Lobo C, Ballas S, Domingos A, Moura P, Nascimento E, Cardoso G, et al. Newborn screening program for hemoglobinopathies in Rio de Janeiro, Brazil. *Ped Blood Cancer*. 2014;1:34-9.
31. Naoum PC. Distribuição geográfica da HbS. Capítulo 6: Doença falciforme. [Available from: <http://www.hemoglobinopatias.com.br>.] (acesso em 30/11/2020)
32. Lyra IM, Gonçalves MS, Braga JP, Gesteira MdF, Carvalho MH, Saad STO, et al. Clinical, hematological and molecular characterization of sickle cell anemia pediatric patients from two different cities in Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2005;21:1287-90.
33. Figueiredo MS, Silva MC, Guerreiro JF, Souza GP, Pires AC, Zago MA. The heterogeneity of the beta s cluster haplotypes in Brazil. *Gene Geogr*. 1994 Apr;8(1):7-12.
34. Bezerra M, Santos M, Araujo A, Gomes Y, Abath F, Bandeira F. Molecular variations linked to the grouping of beta- and alpha- globin genes in neonatal patients with sickle cell disease in the state of Pernambuco, Brazil. *Hemoglobin*. 2007;31(1):83-8.
35. Leal AS, Martins PRJ, Balaim MAS. Haplotype of the β (S)-globin cluster in patients with sickle cell anemia at a University Hospital in the Triângulo Mineiro, Minas Gerais. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2015;37(2):140-1.
36. Belisário AR, Martins ML, Brito AM, Rodrigues CV, Silva CM, Viana MB. β -globin gene cluster haplotypes in a cohort of 221 children with sickle cell anemia or $S\beta^0$ -thalassemia and their association with clinical and hematological features. *Acta Haematol*. 2010;124(3):162-70.
37. Carneiro-Proietti ABF, Kelly S, Teixeira CM, Sabino EC, Alencar CS, Capuani L, et al. Clinical and genetic ancestry profile of a large multi-centre sickle cell disease cohort in Brazil. *Br J Haematol*. 2018. Sep; 182(6): 895-908.
38. National Heart Lung and Blood Institute. [Available from: <https://redsivp.com/>] (acesso em 30/11/2020)
39. National Heart Lung and Blood Institute. [Available from: <https://redsivp.com/reds-iii/>] (acesso em 30/11/2020)
40. van den Tweel XW, van der Lee JH, Heijboer H, Peters M, Fijnvandraat K, Sebastiani P, et al. Development and validation of a pediatric severity index for sickle cell patients. A network model to predict the risk of death in sickle cell disease. *Am J Hematol*. 2010;85: p. 746-51.
41. Fernandes AP, Januário JN, Cangussu CB, Macedo DL, Viana MB. Mortality of children with sickle cell disease: a population study. *J Pediatr (Rio J)*. 2010 Jul-Aug;86(4):279-84.

42. Lobo CLC, Nascimento EMD, Jesus LJC, Freitas TG, Lugon JR, Ballas SK. Mortality in children, adolescents and adults with sickle cell anemia in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2018 2018 Jan - Mar;40(1):37-42.
43. Wonkam A, Chimusa ER, Mnika K, Pule GD, Ngo Bitoungui VJ, Mulder N, et al. Genetic modifiers of long-term survival in sickle cell anemia. *Clin Transl Med.* 2020 Aug;10(4):e152.
44. Day S. Development and evaluation of a Sickle Cell Disease Assessment Instrument. *Pediatr Nurs.* 2004;30:451-8.
45. Sebastiani P, Nolan VG, Baldwin CT, Abad-Grau MM, Wang L, Adewoye AH, et al. A network model to predict the risk of death in sickle cell disease. *Blood.* 2007 Oct;110(7):2727-35.
46. Herrick JB. Peculiar elongated and sickle-shape red blood corpuscles in a case of severe anemia. *Arch Intern Med.* 1910;6:517-21.
47. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert SV, et al. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med.* 1995 May;332(20):1317-22.
48. Lobo CL, Pinto JF, Nascimento EM, Moura PG, Cardoso GP, Hankins JS. The effect of hydroxycarbamide therapy on survival of children with sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2013 Jun;161(6):852-60.
49. Qureshi A, Kaya B, Pancham S, Keenan R, Anderson J, Akanni M, et al. Guidelines for the use of hydroxycarbamide in children and adults with sickle cell disease: A British Society for Haematology Guideline. *Br J Haematol.* 2018 05;181(4):460-75.
50. Adams RJ. Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell disease and abnormal results on transcranial doppler ultrasonography. *N Engl J Med.* 1998;339(1):5-11.
51. Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo Lo, Abboud MR. Sickle cell disease. *Lancet.* 2017.
52. Pegorer FR. Adakveo (R): Crizanlizumabe (Bula de remédio). Novartis Biociências SA; 2020.
53. Ataga K, Kutlar A, Kanter J, Liles D, Cancado R, Friedrisch J, et al. Crizanlizumab for the Prevention of Pain Crises in Sickle Cell Disease *N Engl J Med.* 2017;376:429-39.
54. Niihara Y, Miller ST, Kanter J, Lanzkron S, Smith WR, Hsu LL, Gordeuk VR, Viswanathan K, Sarnaik S, Osunkwo I, Guillaume E, Sadanandan S, Sieger L, Lasky JL, Panosyan EH, Blake OA, New TN, Bellevue R, Tran LT, Razon RL, Stark CW, Neumayr LD, Vichinsky EP; Investigators of the Phase 3 Trial of l-Glutamine in Sickle Cell Disease. A Phase 3 Trial of l-Glutamine in Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 2018 Jul 19;379(3):226-235.
55. MJ T, P M, GM V. Therapeutic strategies for sickle cell disease: towards a multi- agent approach. *Nat Rev Drug Discov.* 2019;18:139-58.

56. Bernaudin F, Socie G, Kuentz M, Chevret S, Duval M, Bertrand Y, et al. Long-term results of related myeloablative stem-cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood*. 2007 Oct;110(7):2749-56.
57. Hulbert ML, Shenoy S. Hematopoietic stem cell transplantation for sickle cell disease: Progress and challenges. *Pediatr Blood Cancer*. 2018;65(9):e27263.
58. Johnson F, Thomas Look A, Gockerman A, Ruggiero M, Dalla-Pozza L, Billings F. Bone-Marrow Transplantation in a Patient with Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med*. 1984;311(12):780-3.
59. Vermynen C, Cornu G, Ferster A, Brichard B, Ninane J, Ferrant A, et al. Haematopoietic stem cell transplantation for sickle cell anaemia: the first 50 patients transplanted in Belgium. *Bone Marrow Transplant*. 1998 Jul;22(1):1-6.
60. Magalhães ES. Quatro décadas de lua minguante: o caminho até a cura da anemia falciforme. Brasília: Thesaurus Editora; 2013.
61. Vermynen C, Ninane J, Fernandez Robles E, Cornu G. Bone marrow transplantation in five children with sickle cell anaemia. *The Lancet*. 1988;331(8600):1427-8.
62. Walters MC, Patience M, Leisenring W, Eckman JR, Scott JP, Mentzer WC, et al. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med*. 1996 Aug;335(6):369-76.
63. Bathia M, Sheth S. Hematopoietic stem cell transplantation in sickle cell disease: patient selection and special considerations. *Journal of Blood Medicine*. 2015;6:229-38.
64. Angelucci E, Matthes-Martin S, Baronciani D, Bernaudin F, Bonanomi S, Cappellini MD, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel. *Haematologica*. 2014 May;99(5):811-20.
65. Gluckman E. Sickle cell disease: an international survey of results of HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2017;129(11):1548-56.
66. Nunes K, Aguiar V, Silva M, Sena A, de Oliveira D, Dinardo D, et al. How Ancestry Influences the Chances of Finding Unrelated Donors: An Investigation in Admixed Brazilians. *Frontiers of Immunology*. 2020 Nov;11:584950.
67. Gragert L, Eapen M, Williams E, Freeman J, Spellman S, Baitty R. HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry *N Engl J Med* 2014;371:339-48.
68. Eapen M, Brazauskas R, Walters MC, Bernaudin F, Bo-Subait K, Fitzhugh CD, et al. Effect of donor type and conditioning regimen intensity on allogeneic transplantation outcomes in patients with sickle cell disease: a retrospective multicentre, cohort study. *Lancet Haematol*. 2019 Nov;6(11):e585-e96.
69. Krishnamurti L, Neuberg DS, Sullivan KM, Kamani NR, Abraham A, Campigotto F, et al. Bone marrow transplantation for adolescents and young adults

with sickle cell disease: Results of a prospective multicenter pilot study. *Am J Hematol.* 2019 04;94(4):446-54.

70. Nickel RS, Kamani NR. Ethical Challenges in Hematopoietic Cell Transplantation for Sickle Cell Disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2018 02;24(2):219-27.

71. Galal A, Asslan M. Allogenic hematopoietic stem cell transplantation in sickle cell disease. *Curr Opin Hematol.* 2019 11;26(6):399-405.

72. Ballas S. The cost of health care for children with sickle cell disease. *Am J Hematol.* 2009;84:320-2.

73. Arnold S, Brazauskas R, He N, Li Y, Aplenc R, Jin Z, et al. Clinical risks and healthcare utilization of hematopoietic cell transplantation for sickle cell disease in the USA using merged databases. *Haematologica.* 2017;102:1823-32.

74. Safari S, Baratloo A, Elfil M, Negida A. Evidence Based Emergency Medicine; Part 5 Receiver Operating Curve and Area under the Curve. *Emerg (Tehran).* 2016;4(2):111-3.

75. Buchanan GR, Yawn BP. Evidence-Based Management of Sickle Cell Disease. Expert Panel Report, 2014 [Available from: <http://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/sickle-cell-disease-guidelines/2014>.] (acesso 30/11/2020)

APÊNDICES

Apêndice 1. Variáveis dos dados do REDS-III inseridas na calculadora do escore de gravidade

	Variável				
1	STA nos últimos 12 meses	sim	não	Não disponível	-
2	Idade (anos)	< 18	18- 40	> 40	-
3	Bilirrubina total (mg/dL)	< 1,3	1,3- 3,4	> 3,4	Não disponível
4	Está em TTC atualmente?	Sim	Não	Não disponível	-
5	DHL (U/dL)	< 300	300- 600	> 600	Não disponível
6	VCM (fL)	< 80	80- 98	>98	Não disponível
7	Dor: qualquer histórico de dor	sim	Não	Não disponível	-
8	Priapismo (sexo masculino)- algum episódio na vida	sim	Não	Não disponível	-
9	Reticulócitos corrigidos (%)	< 4,8	4,8- 13	> 13	Não disponível
10	Sepse	sim	Não	Não disponível	-
11	Sexo	Feminino	Masculino	-	-
12	AVE	sim	Não	Não disponível	-
13	PAs (mmHg) (5 categorias)	(1) < 80 (2) 80 – 120 (idade ≤ 18a)/ 80 -140 (idade > 18a) (3) 120 – 140 (idade ≤ 18a)/ / 140 – 160 (idade > 18a) (4) > 140 (idade ≤ 18a)/ / > 160 (idade > 18a) (5) Não disponível			
14	Leucócitos (/mm ³)	<10.800	10.800- 13.500	>13.5000	Não disponível
15	Genótipo	SS* (SS, β0)	SC	SS/alfa talassemia	Não disponível
16	Osteonecrose	sim	Não	Não disponível	-