

CENTRO UNIVERSITÁRIO LUSÍADA - UNILUS
CURSO DE BIOMEDICINA

LAURA CRUZ DE SIQUEIRA FRANCO

**ESTUDO DAS TERAPIAS E O IMPACTO NA REMISSÃO DOS PACIENTES
PEDIÁTRICOS PORTADORES DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA COM
CROMOSSOMO PHILADELPHIA POSITIVO.**

SANTOS

2023

LAURA CRUZ DE SIQUEIRA FRANCO

**ESTUDO DAS TERAPIAS E O IMPACTO NA REMISSÃO DOS PACIENTES
PEDIÁTRICOS PORTADORES DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA COM
CROMOSSOMO PHILADELPHIA POSITIVO.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário Lusíada para a obtenção do título de Biomédica, sob a orientação do Professor Me. Thiago de Arruda Souza.

SANTOS

2023

LAURA CRUZ DE SIQUEIRA FRANCO

**ESTUDO DAS TERAPIAS E O IMPACTO NA REMISSÃO DOS PACIENTES
PEDIÁTRICOS PORTADORES DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA COM
CROMOSSOMO PHILADELPHIA POSITIVO.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário Lusíada para a obtenção do título de Biomédica, sob a orientação do Professor Me. Thiago de Arruda Souza.

Data: 21 / 11 / 2023

**PROF. ME. THIAGO DE ARRUDA SOUZA
ORIENTADOR DO TCC**

PROF. ME. EDGAR MATIAS BACH HI

PROF. MA. ELIANA CLÁUDIA PERROUD MORATO FERREIRA

**SANTOS
2023**

Dedico à minha tia Lúcia que sempre foi o meu pilar e minha maior incentivadora e à minha mãe Fátima, que, de onde quer que esteja lá em cima, espero que esteja orgulhosa.

AGRADECIMENTOS

À minha tia, Lúcia, que dedicou sua vida em virtude da minha e me permitiu estar aqui hoje. Obrigada pelo carinho, incentivo e cuidado de sempre. Todos os “obrigada” expressos por mim nunca serão o suficiente comparada à gratidão que eu sinto.

À minha mãe, Fátima, que para sempre estará em meu coração, me guiando para os melhores caminhos e refletindo em todas as minhas ações. Obrigada por ter me dado a vida e por me acompanhar, mesmo que não fisicamente, em cada momento dela.

À minha avó, Edith, por ser a avó mais coruja, carinhosa e fofa do mundo. Obrigada por me encorajar a sempre seguir os meus sonhos e conquistar o que eu desejar.

À minha tia Ana, por me acompanhar em cada passo da minha vida e sempre me motivar a evoluir, tanto como profissional, quanto como pessoa. Obrigada por tudo.

Ao meu parceiro, Bruno Fernandes, que foi fundamental para me manter positiva e sempre seguindo em frente. Obrigada por ser a minha paz.

Aos meus colegas de turma, em especial, Beatriz Marques, Beatriz Tasso, Matheus Dinelli, Gabriele Gattaz e Manuela Bianchini, que acabaram se tornando grandes amigos para a vida. Obrigada por estarem comigo nessa jornada e por sempre me fazerem sorrir.

À minha “segunda família”, Ana Paula, Marcos e Paola, por sempre estarem lá quando eu precisei e por todo o carinho, nos dias bons e ruins.

Aos meus professores e biomédicos, em especial, ao meu orientador Me. Thiago de Arruda Souza e aos professores Me. Edgar Matias Bach Hi e Ma. Fabiana Gaspar Gonzalez, que desempenharam papéis fundamentais na minha evolução acadêmica, obrigada por todo o conhecimento transferido ao longo desses 4 anos e toda a paciência, atenção e confiança transmitidas.

Aos meus colegas de laboratório, em especial, Laura Maria, Breno Macedonio, Leticia Perez, Aylane Ferreira, Gabriela Almeida e Helena Soledade, por terem me ensinado tanto e terem contribuído muito para que, um dia, eu me torne uma grande profissional como vocês.

"Toda a nossa ciência, comparada com a realidade, é primitiva e infantil - e ainda assim é a coisa mais preciosa que temos."
Albert Einstein

RESUMO

A Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), é uma doença caracterizada pela proliferação de células progenitoras da medula óssea, sendo, em sua maioria, em linfócitos de linhagem B e a mais comum em pacientes pediátricos, representando 85% dos casos. A doença pode ser causada por alterações genéticas, tendo a translocação t(9;22)(q34;q11), conhecida como cromossomo Philadelphia positivo (Ph+) como uma das mais relevantes, e que possui um mau prognóstico. Esta translocação resulta na fusão de genes ABL1 e BCR, formando o oncogene *BCR::ABL1*, que codifica uma proteína com atividade de quinase não controlada, promovendo a proliferação celular e inibindo a apoptose. O diagnóstico da LLA envolve testes como hemograma e mielograma para análise morfológica, imunofenotipagem para diferenciar linhagens celulares e citogenética para determinar alterações cromossômicas. Além disso, a biologia molecular desempenha um papel essencial na classificação das neoplasias, identificando alterações moleculares de recorrência. Embora a sobrevida global para pacientes com LLA seja de cerca de 90%, aqueles com LLA e Ph+, apresentam uma taxa de sobrevida de 10% a 20%, no entanto, a introdução de inibidores de tirosina quinase (ITKs), como o Mesilato de Imatinibe, tem melhorado a taxa de remissão completa e a sobrevida livre de eventos. Mesmo assim, mutações na proteína BCR-ABL1 podem conferir resistência ao Imatinibe, levando à necessidade de novas terapias. O objetivo foi analisar a sobrevida dos pacientes que fizeram uso das outras gerações de ITKs em casos de resistência ou recidivas da doença e também avaliar uma possível troca de terapia de primeira linha. Foi observado que os ITKs de segunda geração, como o Dasatinibe e o Nilotinibe, têm mostrado eficácia em casos de resistência, inibindo a atividade da proteína BCR-ABL1 e elevando a taxa de sobrevida global para 88,4%, no caso do Dasatinibe. No entanto, surgiram mutações, como a T315I, que conferem resistência a esses ITKs também. Em resposta a essas mutações, foram desenvolvidos ITKs de terceira geração, como o Ponatinibe. Essa droga visa superar a resistência induzida por mutações e trazer uma melhora terapêutica, porém, o banco de dados ainda é escasso e necessita de mais estudos sobre sua eficácia para pacientes que possuem, LLA e Ph+.

Palavras chave: Leucemia Linfoblástica aguda, Cromossomo Philadelphia Positivo, inibidores de tirosina quinase, prognóstico.

ABSTRACT

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is a disease characterized by the proliferation of bone marrow progenitor cells, primarily in B-lineage lymphocytes, and it is most common in pediatric patients, accounting for 85% of cases. This disease can be caused by genetic alterations, with the t(9;22)(q34;q11) translocation, also known as Philadelphia chromosome-positive (Ph⁺), being one of the most relevant, associated with poor prognosis. This translocation results in the fusion of the ABL1 and BCR genes, forming the *BCR::ABL1* oncogene, which encodes a protein with uncontrolled kinase activity, promoting cell proliferation and inhibiting apoptosis. The diagnosis of ALL involves tests such as complete blood count and bone marrow examination for morphological analysis, immunophenotyping to differentiate cell lineages, and cytogenetics to determine chromosomal abnormalities. Additionally, molecular biology plays a crucial role in classifying neoplasms by identifying recurrent molecular alterations. While the overall survival rate for patients with ALL is around 90%, those with ALL and Ph⁺ have a survival rate of 10% to 20%. However, the introduction of tyrosine kinase inhibitors (TKIs), such as Imatinib Mesylate, has improved the rate of complete remission and event-free survival. Nevertheless, mutations in the BCR-ABL1 protein can confer resistance to Imatinib, leading to the need for new therapies. The main objective was to analyze the survival of patients who used the other generations of TKIs in cases of resistance or disease relapse and to evaluate a possible change in first-line therapy. It has been observed that second-generation TKIs, such as Dasatinib and Nilotinib, have shown efficacy in cases of resistance by inhibiting the activity of the BCR-ABL1 protein and increasing the overall survival rate to 88.4%, in the case of Dasatinib. However, mutations, such as T315I, have emerged, conferring resistance to these TKIs as well. In response to these mutations, third-generation TKIs, such as Ponatinib, have been developed. This drug aims to overcome mutation-induced resistance and provide therapeutic improvement. However, the data is still limited and requires more studies on its effectiveness for patients specifically with ALL and Ph⁺.

Keywords: Acute Lymphoblastic Leukemia, Philadelphia chromosome-positive, tyrosine kinase inhibitors, prognosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Ilustração dos pontos de quebra dentro do gene BCR, do gene ABL e dos transcritos de fusão resultantes da translocação.....	16
FIGURA 2 - Mecanismo de ação do fármaco Mesilato de Imatinibe.....	20
FIGURA 3 - Fluxograma de seleção de artigos baseado nos critérios de inclusão...	24

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Classificação imunofenotípica das LLA de linhagem B.....	17
TABELA 2 – 5ª edição da classificação da organização mundial da saúde sobre tumores de tecido hematopoiético e linfático.....	18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABL- *Abelson tyrosine kinase 1.*

ATP - Adenosina trifosfato.

BCR - *Breakpoint Cluster Region.*

EGIL - *European Group for Immunological Characterization of Leukemia.*

FISH - Hibridização *in situ* por fluorescência.

ITK - Inibidores de tirosina quinase.

LLA - Leucemia Linfoblástica Aguda.

OMS - Organização Mundial da Saúde.

PDGFR - Receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas.

Ph+ - Cromossomo Philadelphia Positivo.

RT-PCR - Reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa.

TMO - Transplante de medula óssea.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	14
3. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA	15
4. TERAPIA COM ITKs	20
5. METODOLOGIA	23
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
REFERÊNCIAS	28

1. INTRODUÇÃO

A Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) é uma neoplasia de grande importância no público pediátrico, representando hoje, 25% dos casos de neoplasias acometidas em crianças. Essa doença acontece devido a uma proliferação exagerada de células do tecido hematopoiético, sendo a LLA de linhagem B, a mais comum. Ela pode possuir algumas alterações genéticas de recorrência, como a translocação t(9;22)(q34;q11), também conhecida como cromossomo Philadelphia positivo (Ph+), que ocorre em cerca de 3% a 5% da população com LLA abaixo dos 15 anos, em 30% dos casos na população a partir dos 30 anos e prevalecendo em mais de 50% dos casos nos pacientes idosos, sendo uma das alterações mais relevantes por possuir um mau prognóstico. Esta translocação forma o oncogene *BCR::ABL1*, codificando a proteína BCR-ABL1 que possui atividade de quinase não controlada e irá promover a proliferação celular e inibir a apoptose. O diagnóstico da LLA envolve testes morfológicos, como o hemograma e mielograma, testes de imunofenotipagem para diferenciação linhagens celulares, testes citogenéticos para determinar alterações cromossômicas e testes de biologia molecular para classificar as neoplasias, identificando alterações moleculares de recorrência e também mutações que virão a causar resistência aos medicamentos (RODRIGUEZ-ABREU *et al*, 2007; BHOJWANI *et al*, 2015; SCHAFFEL *et al*, 2008, MARTINS, 2016; FARIAS 2004; ABDALLA 2016).

A sobrevida global em pacientes pediátricos com LLA e que fazem o tratamento adequado, costuma girar em torno de 90%, contudo, aqueles que possuem LLA e Ph+, a sobrevida cai para em torno de 10% a 20%. No entanto, a introdução de inibidores de tirosina quinase (ITKs), como o Mesilato de Imatinibe, promoveu o aumento da taxa de remissão completa, da sobrevida livre de eventos e permitiu que os pacientes ganhassem mais tempo para estarem aptos a um transplante de medula óssea (MARTINS, 2016; JEĐRASZEK, 2022; PINTO *et al*, 2020).

Todavia, mesmo com um mecanismo de ação efetivo à doença, mutações de resistência no sítio de ligação desse medicamento fizeram com que novas versões dele fossem necessárias, surgindo assim, os inibidores de tirosina quinase de segunda geração. O Dasatinibe e o Nilotinibe foram feitos, ambos com mecanismos de ação igualmente eficientes a algumas das mutações previamente observadas, contudo, novas foram descritas, como a T315I, que causa resistência aos 3 ITKs que

já existiam (VIEIRA, 2016; STEIN *et al*, 2010; CERCHIONE *et al*, 2021; SILVEIRA, 2013; CUNHA *et al*, 2014).

Tendo em vista a necessidade de uma droga que fosse efetiva ao grupo com resistências, o Ponatinibe foi introduzido à clínica. Este ITK de terceira geração inibe tanto a proteína BCR-ABL, quanto o c-Kit, o PDGFR e outras tirosinas quinases nos casos de pacientes com a mutação T315I, por exemplo, que é resistente a todos os ITKs anteriores. Contudo, é evidente que novas mutações de resistência a esta droga viriam a surgir, como a T315L ou a T315I associada à F359V ou à E255V (CUNHA *et al.*, 2014; ZHANG *et al*, 2019).

2. OBJETIVO

Avaliar o prognóstico de sobrevida global antes e após a inclusão de Inibidores de tirosina quinase na terapêutica de pacientes pediátricos com Leucemia Linfoblástica aguda e Cromossomo Philadelphia positivo.

Comparar o protocolo atual (Mesilato de Imatinibe) com outras linhas de tratamento com ITKs para os casos de resistência e recidivas da doença.

Comparar a utilização do ITK de primeira e segunda geração no tratamento inicial da LLA Ph+, para uma possível troca de protocolo.

3. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

Dentre as neoplasias hematológicas, que compreendem um grupo de doenças caracterizadas pela proliferação de células progenitoras da medula óssea, as leucemias ocupam um espaço considerável, sendo subclassificadas em 4 principais grupos, baseados em sua linhagem celular e grau de maturação: leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crônica, leucemia mielóide aguda e leucemia mielóide crônica (RODRIGUEZ-ABREU *et al.*, 2007; ZERBINI *et al.*, 2011).

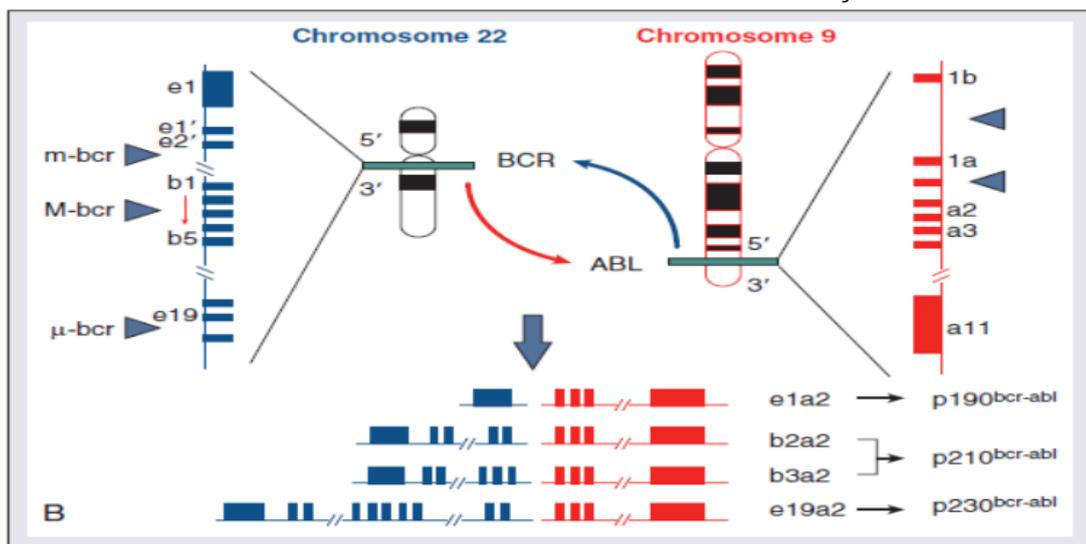
A Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) possui predominância entre o grupo de pacientes pediátricos, compreendendo cerca de 25% de todas as neoplasias infantis, sendo a Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem B a mais comum entre elas, com uma prevalência de 85% dos casos (BHOJWANI *et al.*, 2015).

Trata-se de uma doença caracterizada por mutações cromossômicas, onde uma célula neoplásica transmitirá para suas sucessoras uma capacidade de autorrenovação ilimitada e bloqueio de diferenciação celular em estágio de blastos (MATIAS, 2019). Essas alterações genéticas incluem: alta hiperdiploidia de, pelo menos, 5 cromossomos (podendo ser X, 4, 6, 10, 14, 17, 18 e 21); hipodiploidia com menos de 44 cromossomos; translocações, incluindo a fusão *ETV6::RUNX1*; a fusão *TCF3::PBX1*; a fusão *BCR::ABL1*; e rearranjos, como o *KMT2A*, envolvendo 11q23 (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE [OMS], 2022).

A translocação $t(9;22)(q34;q11)$, conhecida como cromossomo Philadelphia positivo (Ph+), ocorre em cerca de 3% a 5% da população com LLA abaixo dos 15 anos, evoluindo para 30% a partir dos 30 anos e prevalecendo em mais de 50% dos casos de pacientes acima de 65 anos. Trata-se de uma alteração genética de grande importância clínica para pacientes pediátricos devido a uma sobrevida livre de eventos de apenas 10% a 20%, com o imunofenótipo mais comum sendo o LLA pré-B com CD10 positivo (SCHAFFEL, 2008). Essa translocação ocorre em células estaminais pluripotentes, inserindo-se, nestes casos, nos linfócitos B. No cromossomo 9 ocorre uma quebra no ponto do gene *ABL1* (*Abelson tyrosine kinase 1*), que é translocado para a região do gene *BCR* (*Breakpoint Cluster Region*) no cromossomo 22, resultando na justaposição do segmento 5' *BCR* em 22q11 e do segmento 3' *ABL* em 9q34, dando origem ao oncogene *BCR::ABL1*, que codifica a proteína BCR-ABL, que possui atividade quinase não controlada, diminuindo a apoptose e aumentando a

proliferação das células de linhagem B (MARTINS, 2016). Os pontos de quebra nos cromossomos 22 e 9 podem variar, configurando os subgrupos de Cromossomo Philadelphia, como demonstrado na Figura 1. Os subgrupos p190 e p210, que conferem os mais comuns dentre as crianças acometidas com LLA, possuem diferentes pontos de quebra no cromossomo 22, sendo eles, m-bcr para os casos de p190 e o M-bcr para o p210 (MULLIGHAN, 2012).

Figura 1 - Ilustração dos pontos de quebra dentro do gene BCR, do gene ABL e dos transcritos de fusão resultantes da translocação.



Fonte: Martins, 2016.

O diagnóstico da LLA é feito a partir de testes de hemograma e mielograma inicialmente, sendo seguido de testes de imunofenotipagem e citogenéticos como forma de determinação de linhagens e alterações cromossômicas. No hemograma, é possível verificar leucocitose em 60% dos casos e leucopenia em 25% deles, acompanhados de anemia e plaquetopenia, enquanto no mielograma é confirmada uma medula óssea hipercelular, com mais de 20% de blastos, porém não determina linhagem celular, sendo necessária a aplicação de outras metodologias. Testes de imunofenotipagem para a LLA identificam as linhagens celulares a partir da positividade a antígenos, sendo CD79a, CD19, CD20 e CD22 os presentes na LLA de linhagem B, que pode ser ainda subclassificada, segundo o *European Group for Immunological Characterization of Leukemia* (EGIL) e a Organização Mundial da Saúde, em pró-B, comum, pré-B e B madura, como demonstrado na Tabela 1, a partir da presença ou ausência de determinados antígenos. A expressão de CD13 e CD33

pode também estar presente em 30% das LLA Philadelphia positivos (BRASIL, 2021; SCHAFFEL, 2008; FARIAS 2004; ABDALLA 2016).

Tabela 1 - Classificação Imunofenotípica das LLA de linhagem B

	Pró-B	Comum	Pré-B	B Madura
HLA-DR	+	+	+	+
TdT	+	+	+	+/-
CD10	-	+	+/-	+/-
CD19	+	+	+	+
CD20	-	+/-	+	+
CD22	+/-	+	+	+
CD79a	+	+	+	+
IgM (c)	-	-	+	+/-
IgM (s)	-	-	-	+
μ (c)	-	-	+	-
κ ou λ (c/s)	-	-	-	+

IgM (c)= Imunoglobulina citoplasmática; **μ (c)=** cadeia μ citoplasmática; **κ ou λ (c/s)=** cadeias κ ou λ citoplasmáticas ou de superfície; **+**: expressão de antígeno; **-**: ausência de antígeno; **+/-**: expressão variável. **Fonte:** autoria própria.

Dentre os testes citogenéticos, Martins (2016) contempla os testes convencionais (*standards*) de citogenética e de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH). A citogenética convencional, apesar de mais barata, apresenta grandes desvantagens devido a possibilidade de não obtenção de metáfases perante a quantidade de material aspirado, que muitas vezes é escasso, além de ser uma técnica demorada (15 a 20 dias). A técnica de FISH, pelo contrário, apresenta uma maior sensibilidade, pois estuda as células em interfase.

Como teste molecular, o mais realizado é reação em cadeia polimerase com transcrição reversa (RT-PCR), pois é capaz de detectar uma célula positiva dentre 10.000 células, sendo mais sensível que as demais metodologias (SCHAFFEL, 2008). Também é mais rápido, obtendo o resultado em poucas horas e mais específico, uma vez que consegue pesquisar e identificar determinado rearranjo de interesse. É importante para a diferenciação dos subtipos de transcritos de

BCR::ABL1, baseando-se no ponto de quebra do cromossomo 22, que pode gerar a proteína quimérica p190, presente em 60% a 80% dos casos de LLA Ph+ ou a p210, presente de 20% a 30% dos casos. Um estudo realizado por Lan Qiu *et al* (2016) verificou que o grupo p190 tem maior probabilidade de recidivas em estágio precoce, e a sua sobrevida global e a sobrevida livre de eventos são menores do que no grupo p210, indicando que os pacientes com transcrição p190 provavelmente precisam receber uma terapia mais intensiva (FARIAS, 2004; PINTO, 2020). A biologia molecular também representa grande importância na classificação de todos os tipos de neoplasias de células precursoras B, uma vez que na nova classificação de neoplasias linfóides da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2022), as novas nomenclaturas concentram-se em eventos moleculares de recorrência (tabela 2) em vez de alterações citogenéticas.

Tabela 2 - 5ª edição da Classificação da Organização Mundial da Saúde sobre tumores de tecido hematopoiético e linfático.

Linfomas / Leucemias linfoblásticas de linhagem B	
Classificação OMS - 5ª edição	Classificação OMS - 4ª edição
NOS	NOS
Alta hiperdiploidia	Hiperdiploidia
Hipodiploidia	Hipodiploidia
iAMP21	iAMP21
Fusão <i>BCR::ABL1</i>	t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
Características <i>BCR::ABL1</i> -like	<i>BCR-ABL1</i> -like
Rearranjo <i>KMT2A</i>	t(v;11q23.3); rearranjo <i>KMT2A</i>
Fusão <i>ETV6::RUNX1</i>	t(12;21)(p13.2;q22.1); <i>ETV6-RUNX1</i>
Características <i>ETV6::RUNX1</i> -like	Sem classificação prévia
Fusão <i>TCF3::PBX1</i>	t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i>
Fusão <i>IGH::IL3</i>	t(5;14)(q31.1;q32.1); <i>IGH/IL3</i>
Fusão <i>TCF3::HLF</i>	Sem classificação prévia
Outras anomalias genéticas definidas	Outras anomalias genéticas definidas

NOS = reservado para casos onde não foi possível a classificação mesmo após testes abrangentes.

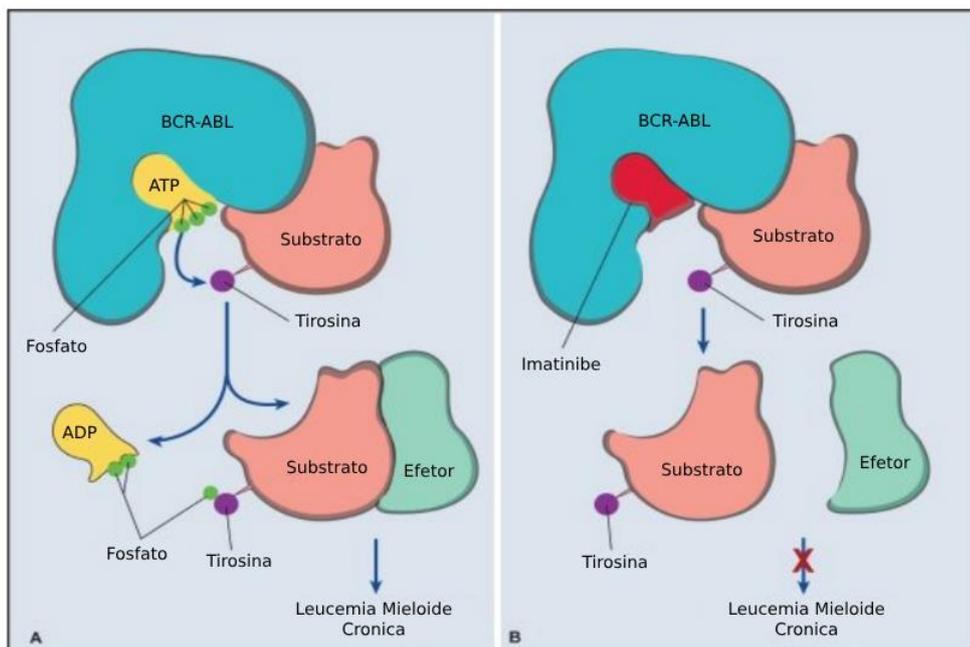
Quando tratada, a sobrevida global em pacientes com LLA é por volta de 90%, porém, destes pacientes, os que possuem cromossomo Philadelphia positivo, apresentam uma taxa de sobrevida global em 5 anos abaixo dos 20%, sendo uma doença caracterizada por um prognóstico desfavorável e descrevendo os poucos casos de cura só para pacientes que realizaram transplante alogênico de medula óssea (TMO), uma vez que, desta mutação, resultará a produção da oncoproteína BCR-ABL, de atividade não controlada de tirosina quinase, desregulando a proliferação celular e reduzindo a apoptose (MARTINS, 2016).

Com as recentes associações de inibidores de tirosina quinase (ITK), dentre eles, o Mesilato de Imatinibe, aos quimioterápicos, pacientes acometidos pela LLA Ph+ tiveram sua taxa de remissão completa aumentada, sua sobrevida livre de eventos evoluída para cerca de 90% e ganharam mais tempo para estarem aptos a uma TMO, mesmo que esse tempo ainda seja curto e que não seja efetivo em alguns subgrupos de pacientes. Entretanto, o surgimento de mutações no sítio *BCR::ABL1*, que conferem resistência ao Imatinib e o aumento das taxas de recaídas fazem com que seja necessária uma busca por novos ITKs para a terapêutica destes pacientes (JEĎRASZEK, 2022; PINTO *et al*, 2020).

4. TERAPIA COM ITKS

A terapia para pacientes com LLA e cromossomo Philadelphia positivo inicia-se, seguindo os parâmetros das Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Ministério da Saúde de 2021, com uma pré-fase de corticoterapia, seguido da terapia de indução com o quimioterápico, e incluindo, após o 15º dia, o Mesilato de Imatinibe (Glivec®). Trata-se de um inibidor de tirosina quinase (ITK) de primeira geração, com boa resposta terapêutica quando usado continuamente na fase de indução, demonstrando uma taxa de 97% de remissão completa. Este ITK liga-se somente na forma ativa da proteína BCR-ABL (Figura 2), atuando como um inibidor competitivo no sítio de ligação do ATP, impedindo que haja fosforilação e ativação do resíduo de tirosina, o que leva a uma diminuição na atividade de quinase, ou seja, diminui a proliferação das células neoplásicas, induz a apoptose e restabelece a hematopoese normal. Contudo, são relatados casos onde pacientes falham ao tratamento inicial, conferindo uma resistência primária e outros que desenvolvem, posteriormente, mutações no sítio *BCR::ABL1*, conferindo uma resistência secundária ao medicamento (DELAMAIN, 2008; LUCIONI *et al.*, 2015; SILVA, 2017; VIEIRA, 2016).

Figura 2 - Mecanismo de ação do fármaco Mesilato de Imatinibe.



A = Mecanismo fisiopatológico; B = Mecanismo de ação do Mesilato de Imatinibe.

Fonte: Adaptado de Vigorito *et al*, 2006.

Dentre as mutações de maior ocorrência nos pacientes Ph+, estão a T315I, a Y253F e a E255K, que compreendem uma alta taxa de insensibilidade, ou seja, reduzem e prejudicam o efeito dos inibidores de tirosina quinase, tanto de primeira quanto de segunda geração, em seu alvo terapêutico, tornando necessária a troca de terapia. Estima-se que essas mutações encontradas na alça de ligação do fosfato e na região de ligação do ITK causam maior atividade da proteína BCR-ABL e prejudicam ativamente a ligação do ITK ao alvo, devido a troca do aminoácido, que causa mudanças conformacionais em sua estrutura proteica (PINTO *et al*, 2020; ALIKIAN *et al*, 2017).

O Dasatinibe (Sprycel®) é um ITK de segunda geração que inibe a proteína BCR-ABL ligando-se tanto na forma ativa da proteína, quanto na inativa, além de inibir a família Src e receptores de tirosina quinase c-kit e PDGFR, o que pode reduzir uma proliferação neoplásica e estimular a apoptose. Dados *in vitro* demonstram que Dasatinibe contribui muito para os casos de pacientes com LLA Ph+ resistentes ao Imatinibe, exceto, é claro, aqueles casos onde a mutação confere uma resistência a vários graus de ITKs, como no caso da mutação T315I (AGUILERA *et al*, 2009; HOCHHAUS *et al*, 2013; STEIN *et al*, 2010; CERCHIONE *et al*, 2021).

Outra opção de ITK de segunda geração é o Nilotinibe (Tasigna®). Originalmente é uma droga usada em casos de Leucemia Mieloide Crônica, nas fases crônicas ou aceleradas e que possuem resistência ao Imatinibe, porém, estudos como o de Hijiya *et al* (2020), demonstram casos de pacientes LLA Ph+ que obtiveram bons resultados após usar o Nilotinibe depois de uma recaída e sem a necessidade de quimioterápicos adicionais. É uma droga que também inibe competitivamente o c-Kit, o PDGFR e a forma inativa da proteína BCR-ABL, prevenindo a ativação das vias mitogênicas e antiapoptóticas dependentes do BCR-ABL (SILVEIRA, 2013; CUNHA *et al*, 2014).

Devido ao grande número de mutações associadas ao sítio *BCR::ABL1* que conferem resistência aos ITKs de primeira e segunda geração, outras drogas vêm demonstrando grande utilidade para o tratamento das LLAs Ph+, como o Ponatinibe (Iclusig®). Desenvolvido como um Inibidor de Tirosina quinase de terceira geração, o Ponatinibe age inibindo a proteína BCR-ABL, c-Kit, o PDGFR e outras tirosinas quinases nos casos de pacientes com a mutação T315I, por exemplo, que é resistente a todos os ITKs anteriores. Contudo, uma nova mutação foi evidenciada, gerando

resistência também ao Ponatinibe, a T315L. Além dela, a mutação T315I quando associada a F359V ou a E255V, também confere resistência ao ITK de terceira geração (CUNHA *et al*, 2014; ZHANG *et al*, 2019).

6. METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão da literatura que tem como pergunta alvo: qual a melhor forma de tratamento em pacientes pediátricos diagnosticados com Leucemia Linfoblástica Aguda com Cromossomo Philadelphia positivo, baseado na taxa de remissão?

Esta questão será respondida a partir de pesquisas realizadas em bases de dados primárias como Pubmed e Lilacs. A fim de evitar a redução da representatividade dos estudos, como os não indexados, a pesquisa será realizada de forma abrangente incluindo também Google Acadêmico, além dos citados, os bancos de dados de teses e dissertações, por exemplo, da USP, Unicamp, Unifesp e CAPES serão utilizados como busca de dados.

Para a busca de trabalhos, usaremos como método de pesquisa, o acrônimo P.I.C.O. (onde o **P** corresponde ao paciente ou população, **I** de intervenção ou indicador, **C** de comparação ou controle, e **O** de "outcome" ou desfecho), cujos descritores ou palavras-chave, serão definidos na interface MeSH Terms - Pubmed. Os artigos avaliados serão os originais, cujos desenhos metodológicos devem ser obrigatoriamente de caráter prospectivo, por exemplo, os estudos de coorte e ensaios clínicos randomizados. Assim, estudos de caso-controle serão excluídos.

Os componentes do PICO, bem como os operadores booleanos, ficaram assim distribuídos:

P: ("Leukemia, Lymphoblastic, Acute, Pediatric, Philadelphia Chromosome-Positive" [Mesh]) AND

I: ("Imatinib Mesylate"[Mesh]) AND

*C: ("Dasatinib"[Mesh]) AND

*C: ("Nilotinib"[Mesh]) AND

*C: ("Ponatinib"[Mesh]) AND

O: ("Prognosis"[Mesh])

A busca foi realizada na plataforma Pubmed utilizando as palavras-chaves, apenas alterando o item "C" do acrônimo, variando-o de acordo com os diferentes medicamentos de interesse, resultando em 20 artigos. Dentre estes, 16 foram

excluídos após a leitura do título e do resumo, por não se encaixarem aos critérios de inclusão. Ao todo, foram selecionados 4 artigos (Figura 3) que abordavam o uso destes respectivos medicamentos de interesse e algum parâmetro de prognóstico, como a sobrevida livre de eventos e/ou sobrevida global.

Figura 3 - Fluxograma de seleção de artigos baseado nos critérios de inclusão.



Fonte: autoria própria.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a metodologia P.I.C.O. aplicada ao trabalho, realizando alterações apenas nas formas de comparação durante a pesquisa, foram encontrados 20 artigos, sendo 5 destes, pertinentes à análise de resultados e discussão.

O ensaio clínico randomizado de fase 3, realizado por Shen *et al* (2020), reuniu 225 pacientes de 20 hospitais da China, com o objetivo de analisar se uma dosagem diária de 80 mg/m² de Dasatinibe é mais eficiente do que o Mesilato de Imatinibe, com uma dosagem diária de 300 mg/m² em pacientes pediátricos com LLA e cromossomo Philadelphia positivo, após receberem uma intensa quimioterapia sem irradiação craniana profilática, a fim de melhorar a sobrevida livre de eventos. Este foi o primeiro estudo que elaborou a comparação entre estes dois inibidores de tirosina quinase, encorajando uma possível troca de terapia de primeira linha no futuro. A sobrevida livre de eventos em 4 anos e a taxa de sobrevida global foram de 71% e 88,4%, respectivamente, para o grupo que utilizou Dasatinibe e 48,9% e 69,2%, respectivamente, para o grupo que utilizou do Mesilato de Imatinibe. O cálculo de risco de qualquer recaída em 4 anos foi de 19,8% para o Dasatinibe e 34,4% para o grupo do Imatinibe e não foram evidenciadas grandes discrepâncias entre ambos no quesito toxicidade. Apesar do objetivo desta revisão ser avaliar o impacto da remissão e o presente estudo não abordar esta estatística em específico, ainda pode-se concluir que o uso do Dasatinib como terapia de primeira linha pode vir a ser uma nova opção na clínica.

Hijiya *et al* (2020) realizaram um estudo de fase 1 com com o objetivo de avaliar a farmacocinética do uso de Nilotinibe em pacientes acometidos por LLA Ph+ que obtiveram recidiva da doença ou não responderam ao tratamento padrão, aplicando uma dosagem de 230 mg/m² duas vezes ao dia, em um *n* de 4 pacientes entre 1 e 18 anos. A pesquisa demonstrou um bom perfil de segurança para o uso do medicamento em crianças, obtendo como resultado 3 pacientes com remissão completa e recuperação plaquetária e 1 paciente que permaneceu com a doença, porém de forma estável. Este estudo demonstra que o uso de Nilotinibe em pacientes pediátricos com LLA e Ph+ traz bons resultados de remissão completa, porém ainda é uma linha terapêutica que carece de mais pesquisas para uma maior aplicação na clínica.

O Ponatinibe é, atualmente, uma boa opção para os pacientes com LLA Ph+ que possuem a mutação T315I, que confere resistência aos ITKs de primeira e segunda geração, porém, ainda há poucos dados de seu uso em crianças com este diagnóstico. Millot *et al* (2020) reportou que a combinação do Ponatinibe com a quimioterapia foi efetiva em 3 de 5 crianças com a mutação T315I, sendo, as duas que não responderam, sugestivas de possuírem outro mecanismo de resistência. O estudo de Rossoff *et al* (2020), semelhante ao anterior, uniu um grupo de 21 pacientes (LLA Ph+ = 12 e LMC = 9), tratados com doses variadas de Ponatinibe e demonstrou que 71% dos pacientes apresentaram uma diminuição das células neoplásicas em 3 meses, porém com uma toxicidade de grau III em 29% da coorte.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir desta revisão bibliográfica, pode-se concluir que a introdução dos ITKs em pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda e Ph+ trouxe grandes benefícios relacionados ao prognóstico. Também foi observado que a escolha de geração irá depender da clínica do paciente, levando em consideração a existência de um mecanismo de resistência ou de recidiva. Todas estas terapias demonstraram bons resultados na clínica, mesmo que, para os ITKs de segunda e terceira geração, ainda seja necessário a realização de mais ensaios clínicos. O direcionamento de mais atenção para as pesquisas de terapias para estes pacientes é de suma importância, uma vez que a constante presença de novas mutações vem a causar, cada vez mais, um pior prognóstico.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, H.; HUMEIDA, A.; ABBASS, E. *et al.* **The Role of Kappa and Lambda in Subclassification of B Cell Lymphoblastic Leukemia in Sudanese Patients Using Flow Cytometry.** Open Journal of Blood Diseases. 2016. Vol. 6, p. 44-52.
- AGUILERA, D.; TSIMBERIDOU, A. **Dasatinib in chronic myeloid leukemia: a review.** Therapeutics And Clinical Risk Management. 2009. Vol. 5, n. 2, p.281-289.
- ALIKIAN, M. *et al.* **Molecular techniques for the personalised management of patients with chronic myeloid leukaemia.** Biomolecular Detection and Quantification. 2017. Vol. 11, p.4-20.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Acute Lymphocytic Leukemia.** 2018. Disponível em:<https://www-cancer-org.translate.goog/cancer/types/acute-lymphocytic-leukemia/about/what-is-all.html?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=pt&_x_tr_hl=pt-BR&_x_tr_pto=wapp> Acesso em: 25 jun 2023.
- BHOJWANI D.; YANG, J.; PUI, C. **Biology of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia.** *Pediatr Clin North Am.* 2015. vol 62, num 1, p. 47.
- BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de ciência, tecnologia e insumos estratégicos em saúde.** Portaria no 11, de 02 de julho de 2021.
- CERCHIONE, C.; LOCATELLI, F.; MARTINELLI, G. **Dasatinib in the Management of Pediatric Patients With Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia.** *Front. Oncol.* 2021. Vol. 11, art. 632231.
- CLARKE, R.; BRUEL, A.; BANKHEAD, C. *et al.* **Clinical presentation of childhood leukaemia: a systematic review and meta-analysis.** *Arch Dis Child.* 2016. Vol. 101, p. 894–901.
- CUNHA, E.; SANTOS, L.; REIS, L. *et al.* **Incorporação dos inibidores de tirosino quinase ao tratamento da leucemia linfóide aguda cromossomo philadelfia positivo em crianças e adultos.** *REV. BRAS. MED.* 2015. Vol. 72, n. 11, p. 474.
- DELAMAIN, M.; CONCHON, M. **Os inibidores de tirosino quinase de segunda geração.** *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2008. Vol. 30, n. 1, p. 37-40.
- FARIAS, M.; CASTRO, S. **Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas.** *Bras Patol Med Lab.* 2004. Vol. 40, n. 2, p. 91.
- FARNSWORTH, P.; WARD, D.; REDDY, V. **Persistent complete molecular remission after nilotinib and graft-versus-leukemia effect in an acute lymphoblastic leukemia patient with cytogenetic relapse after allogeneic stem cell transplantation.** *Experimental Hematology & Oncology.* 2012. Vol. 1, art. 29.
- HIJIYA, N.; ZWAAN, C. RIZZARI, C. *et al.* **Pharmacokinetics of Nilotinib in Pediatric Patients with Philadelphia Chromosome–Positive Chronic Myeloid Leukemia or Acute Lymphoblastic Leukemia.** *Clinical Cancer Research.* 2020. vol 6, num 4.

HILÁRIO, W.; HILÁRIO, L. **Principais alterações hematológicas da Leucemia Linfocítica Aguda (LLA)**. PECIBES. 2021. Vol. 01, p. 13-76.

HOCHHAUS, A.; KANTARJIAN, H. **The development of Dasatinib as a treatment for chronic myeloid leukemia (CML): from initial studies to application in newly diagnosed patients**. Journal Of Cancer Research And Clinical Oncology. 2013. Vol. 139, n. 12, p.1971-1984.

IACOBUCCI, I.; ROBERTS, K. **Genetic Alterations and Therapeutic Targeting of Philadelphia-Like Acute Lymphoblastic Leukemia**. Genes. 2021. Vol. 12, p. 687.

INABA, H.; GREAVES, M.; MULLIGHAN, C. **Acute lymphoblastic leukemia**. Lancet. 2013. Vol. 381, p. 9881.

JEDRASZEK, K.; MALCZEWSKA, M.; PARYSEK-WÓJCIK, K. *et al.* **Resistance Mechanisms in Pediatric B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia**. Int. J. Mol. Sci. 2022. Vol. 23, p. 3067.

LUCIONI, C. *et al.* **Cost-effectiveness of ponatinib in chronic myeloid leukemia in Italy**. Global & Regional Health Technology Assessment: Italian; Northern Europe and Spanish, Milano. 2015. Vol. 2, n. 1, p.1-16.

MARTINS, S. **Cromossoma Philadelphia e leucemia: biologia e terapêutica**. Universidade de Coimbra. 2016.

MATIAS, N. **Leucemia Linfoblástica Aguda: Fisiopatologia, Diagnóstico e Abordagens Terapêuticas**. Faculdade de Farmácia. Universidade de Lisboa. 2019.

MULLIGHAN, C. **Molecular genetics of B-precursor acute lymphoblastic leukemia**. The Journal of Clinical Investigation. 2012. Vol. 122, n. 10, p. 3407–3415.

MILLOT, F.; SUTTORP, M.; VERSLUYS, A. *et al.* **Ponatinib in childhood Philadelphia chromosome positive leukaemias: an international registry of childhood chronic myeloid leukaemia study**. European Journal of Cancer. 2020. vol 136, p. 107.

OMS. Organização Mundial da Saúde. 2022. **The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms**.

PINTO, D.; FIRMO, W.; SOUSA, F. *et al.* **Relação entre leucemias e Cromossomo Philadelphia**. Tópicos em Ciências da Saúde. 2020. Vol. 2, p. 57.

PINTO, L.; SALES, L.; AZEVEDO, T. *et al.* **Análise de mutações do domínio BCR-ABL quinase em pacientes com leucemia mielóide crônica refratários ao tratamento com Mesilato de Imatinibe**. Rev Cienc Saude. 2020. Vol. 10, n. 4, p. 77-84.

QIU, L; LU, Y; JING, Y *et al.* **Comparison of Clinical Outcomes between P190 and P210 Trans-crypts in Adult Ph Chromosome Positive Acute Lymphoblastic**

Leukemia in the New Era of TKI. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2016. Vol. 24, n. 2, p. 369-74.

RODRIGUEZ-ABREU, D.; BORDONI, A.; ZUCCA, E. **Epidemiology of hematological malignancies.** European Society for Medical Oncology. Annals of Oncology. 2007. Vol. 18, p. 3.

ROSSOFF, J.; HUYNH, V.; RAU, R. *et al.* **Experience with ponatinib in paediatric patients with leukaemia.** British Journal of Haematology. 2020. vol 189, p. 363.

SCHAFFEL, R.; SIMÕES, B. **Leucemia Linfoblástica Aguda Filadélfia positiva.** Rev. bras. hematol. hemoter. 2008. Vol. 30, n. 1, p. 52-58.

SEKIMIZU, M.; YAMASHITA, Y; UEKI, H. *et al.* **Nilotinib monotherapy induced complete remission in pediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia resistant to imatinib and dasatinib.** Department of Pediatrics and Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagoya Medical Center, Aichi, Japan. 2014. vol 55, num 7, p. 1652.

SHEN S.; CHEN, X.; CAI, J. *et al.* **Effect of Dasatinib vs Imatinib in the Treatment of Pediatric Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia: A Randomized Clinical Trial.** JAMA Oncology. 2022. vol. 6, num. 3, p. 333.

SILVA, D. **Caracterização do perfil de resistência da linhagem de leucemia mieloide crônica K-IM, resistente ao imatinibe.** Instituto Nacional do Câncer. 2017.

SILVEIRA, R. **Avaliação da resistência aos inibidores de tirosinoquinases em pacientes com leucemia mieloide crônica pela pesquisa de mutações do gene BCR-ABL e análise do perfil de expressão gênica de pacientes tratados com imatinibe e dasatinibe.** 2013. Vol. 331.

SOVERINI, S.; COLAROSSO, S.; GNANI, A. *et al.* **Contribution of ABL Kinase Domain Mutations to Imatinib Resistance in Different Subsets of Philadelphia-Positive Patients: By the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia.** Clin Cancer Res. 2006. Vol. 12, p. 24.

STEIN, B.; SMITH, B. **Treatment options for patients with chronic myeloid leukemia who are resistant to or unable to tolerate imatinib.** Clinical Therapeutics. 2010. Vol. 32, n. 5, p.804-820.

TASIAN, S.; LOH, M.; HUNGER, S. **Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia.** BLOOD. 2017. Vol. 130, n. 19, p. 2064.

VIEIRA, P. **Inibidores da tirosina quinase no tratamento da LMC: uma revisão narrativa.** Universidade Federal de Sergipe. 2016.

VIGORITO A.; CHIATTONE C.; SOUZA C. A. *et al.* **Análise do tratamento atual da leucemia mielóide crônica no Brasil: um estudo de 703 pacientes tratados com mesilato de imatinib em diversas instituições do País.** 1º Prêmio Saúde Oncologia da América Latina. 2006. São Paulo.

ZERBINI, M.; SOARES, F.; MORAIS, J. *et al.* **Classificação dos tumores hematopoéticos e linfoides de acordo com a OMS: padronização da nomenclatura em língua portuguesa, 4a edição.** Bras Patol Med Lab. 2011. Vol. 47, n. 6, p. 643-648.

ZHANG, H. *et al.* **How does the novel T315L mutation of breakpoint cluster region-abelson (BCR-ABL) kinase confer resistance to ponatinib: a comparative molecular dynamics simulation study.** Journal Of Biomolecular Structure And Dynamics. 2019. p.1-12.