

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
BIOMEDICINA

GABRIELA RAIDE ZILLIG

**CAR-T *cell* como tratamento para a Leucemia Linfoblástica Aguda
de células B em crianças**

SÃO PAULO
2023

GABRIELA RAIDE ZILLIG

**CAR-T cell como tratamento para a Leucemia Linfoblástica
Aguda de células B em crianças**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Biomedicina do
Centro Universitário São Camilo como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^a. Msc. Patrícia Aparecida
Ferreira de Oliveira

SÃO PAULO

2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Zillig, Gabriela Raide

CAR-T cell como tratamento para a Leucemia Linfoblástica Aguda de células B em crianças / Gabriela Raide Zillig. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.

49 p.

Orientação de Patrícia Aparecida Ferreira de Oliveira.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Imunoterapia adotiva 2. Leucemia-linfoma linfoblástico de células T precursoras 3. Metátese em rede I. Oliveira, Patrícia Aparecida Ferreira de II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.079

GABRIELA RAIDE ZILLIG

**CAR-T CELL COMO TRATAMENTO PARA A LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA
AGUDA DE CÉLULAS B EM CRIANÇAS**

Trabalho de Conclusão de Curso para
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina apresentado ao Centro
Universitário São Camilo.

Aprovado em:

Mestre Patrícia Aparecida Ferreira de Oliveira

(data)

Doutora Andreia Neves Comodo Navarro

(data)

Doutora Cecília Salete Alencar da Silva

(data)

São Paulo, SP

2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo o apoio, motivação e pela compressão dados ao longo da minha vida. Sou muito grata por ter todos vocês na minha vida.

Agradeço à minha orientadora, Prof^a. Msc. Patrícia Aparecida Ferreira de Oliveira, que sempre esteve presente e que sempre foi atenciosa enquanto esclarecia as minhas dúvidas, nas correções e nos apontamentos enquanto realizava este trabalho.

Agradeço aos meus amigos por me dar forças, motivações e por toda a ajuda oferecida.

Agradeço às professoras da banca, doutoras Andreia Neves Comodo Navarro e Cecília Salete Alencar da Silva por lerem e darem apontamentos nesta monografia.

Agradeço aos meus colegas de classe e aos professores por todo o ensinamento adquirido ao longo de todo o curso.

RESUMO

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia hematológica decorrente da transformação maligna dos precursores linfoides na medula óssea, com posterior proliferação e expansão para sangue periférico e sítios extramedulares. Para tentar contornar os efeitos colaterais da quimioterapia e a possibilidade de recidiva da doença, foi desenvolvido um tipo de tratamento com CAR-T *cell*, que é uma terapia de células T com receptor de antígeno quimérico. Neste modelo, são apresentadas altas taxas de resposta na população com leucemia recidivada ou refratária. Essa nova terapia foi criada para ser um tratamento com eficácia maior do que a quimioterapia, porém existem diversas reações adversas associadas a essa nova terapia, como a síndrome de liberação de citocinas, neurotoxicidade, síndrome de neurotoxicidade associada a células efectoras imunes (ICANS) e a citotoxicidade. A única terapia aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) é a Kymriah® (tisagenlecleucel), tendo como indicação a utilização em pacientes infantis e adultos de até 25 anos portadores de LLA. O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico sobre a eficácia da CAR-T *cell* e realizar uma análise comparativa entre os tratamentos convencionais para LLA com a CAR-T *cell*. As vantagens notáveis da terapia CAR-T *cell* em comparação com os outros tratamentos é a intervenção abrupta e a infusão única de células CAR-T, além da eficácia poder persistir por décadas, já que as células podem sobreviver a longo prazo no paciente, tendo a aptidão constante de encontrar e eliminar as células leucêmicas durante uma possível recidiva. A principal desvantagem deste tratamento é o preço, podendo ultrapassar o valor de um milhão de dólares. A partir das informações apresentadas, observa-se que a terapia CAR-T *cell* é bem-sucedida na eliminação da doença, sem necessitar de uma combinação entre os tratamentos já existentes. Entretanto, é necessário o barateamento da técnica para conseguir ser implementada no sistema de tratamento dos hospitais, principalmente os públicos.

Palavras-chaves: leucemia linfoblástica aguda; CAR-T *cell*; análise comparativa entre tratamentos.

ABSTRACT

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is a hematological neoplasm resulting from the malignant transformation of lymphoid precursors in the bone marrow, with subsequent proliferation and expansion to peripheral blood and extramedullary sites. To try to overcome the side effects of chemotherapy and the possibility of disease recurrence, a type of treatment with CAR-T cells was developed, which is a T cell therapy with chimeric antigen receptor. In this model, high response rates are presented in the population with relapsed or refractory leukemia. This new therapy was created to be a treatment with greater efficacy than chemotherapy, however there are several adverse reactions associated with this new therapy, such as cytokine release syndrome, neurotoxicity, immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome (ICANS) and cytotoxicity. The only therapy approved by Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) is Kymriah® (tisagenlecleucel), which is indicated for use in pediatric and adult patients up to 25 years of age with ALL. The aim of this work was to carry out a bibliographical survey on the effectiveness of CAR-T cell and to carry out a comparative analysis between conventional ALL treatments with CAR-T cell. The notable advantages of CAR-T cell therapy compared to other treatments are the abrupt intervention and single infusion of CAR-T cells, in addition to the effectiveness being able to persist for decades, as the cells can survive long-term in the patient, having the constant ability to find and eliminate leukemic cells during a possible relapse. The main disadvantage of this treatment is the price, which can exceed a billion dollars. From the information presented, it is observed that CAR-T cell therapy is successful in eliminating the disease, without requiring a combination of existing treatments. However, it is necessary to make the technique cheaper in order to be able to implement it in the treatment system of hospitals, especially public ones.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia; CAR-T cell; comparative analysis between treatments.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Leucemia linfoblástica na medula óssea	20
Figura 2. Blastos de LLA-B no sangue	24
Figura 3. Mielograma da LLA-B	25
Figura 4. Gráfico de Citometria de Fluxo de LLA-B que expressa o marcador de CD10	26
Figura 5. Gráfico de Citometria de Fluxo de LLA-B que co-expressa os marcadores CD34 e CD38	26
Figura 6. Citogenética Ph+ LLA	28
Figura 7. Resumo em forma de figura que retrata o processo da realização e aplicação da terapia CAR-T Cell	32
Figura 8. Resumo em forma de figura da estrutura da terapia CAR-T cell	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação Imunofenotípica proposta pela EGIL	22
Tabela 2. Tradução da tabela criada pela OMS para representação das mudanças feitas	23

LISTA DE ABREVIATURAS

4-1BB: receptor de glicoproteína coestimulatório que faz parte da superfamília do fator de necrose tumoral

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APCs: células apresentadoras de antígenos

CARs: receptores de antígenos quiméricos

CAR-T *cell*: terapia de células T com receptor de antígeno quimérico

CGH: hibridização genômica comparativa

DNA: ácido desoxirribonucleico

DRM: doença residual mínima

EGIL: *European Group for Immunophenotyping Leukemias*

EMA: *European Medicines Agency*

FAB: Franco Americano-Britânico

FISH: técnicas de hibridação *in situ* por fluorescência

FDA: *Food and Drug Administration*

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICANS: *Immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome* (síndrome de neurotoxicidade associada a células efectoras imunes)

Ig: imunoglobulinas

INCA: Instituto Nacional do Câncer

LLA: leucemia linfoblástica aguda

LLA-B: leucemia linfoblástica aguda do tipo B

MHC: molécula do complexo de histocompatibilidade maior

MLL: translocações do gene 11q23

OMS: Organização Mundial de Saúde

PCR: reação em cadeia da polimerase

Ph: cromossomo Philadelphia

Ph+: cromossomo Philadelphia positivo

PBMCs: células mononucleares do sangue periférico

RC: taxas de resposta completa

RNA: ácido ribonucleico

RNAm: RNA mensageiro

r/r: recidiva ou refratária

SB: *sleeping beauty*

scFv: cadeia simples de fragmento variável

SciELO: *Scientific Electronic Library Online*

SLE: sobrevida livre de eventos

Smlg: imunoglobulina de superfície

SNC: sistema nervoso central

SKY: cariotipagem espectral

SUS: Sistema Único de Saúde

TMO: transplante de medula óssea

TCRs: receptores de células T

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO	15
3 MÉTODOS	16
4 DESENVOLVIMENTO	17
4.1 Leucemia linfoblástica aguda	17
4.2 Classificações	19
4.2.1 Classificação FAB (Franco-Americana-Britânica)	19
4.2.2 Classificação EGIL (<i>European Group For The Immunological Characterization Of Leukemias</i>)	21
4.2.3 Classificação OMS (Organização Mundial da Saúde)	22
4.3. Diagnóstico	23
4.3.1 Hemograma	23
4.3.2 Mielograma	24
4.3.3 Imunofenotipagem por Citometria de fluxo	25
4.3.4 Citogenética	27
4.4 Tratamento	28
4.5 Terapia CAR-T <i>cell</i>	30
4.5.1 Produção	30
4.5.2 Estrutura da terapia	32
4.5.3 Tratamentos aprovados	34

4.6 Comparação entre tratamentos convencionais e a terapia CAR-T <i>cell</i>	36
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia hematológica decorrente da transformação maligna dos precursores linfoides na medula óssea, com posterior proliferação e expansão para sangue periférico e sítios extramedulares (Terwilliger, 2017).

A LLA acomete principalmente crianças entre 0 e 15 anos de idade, sendo três quartos destas com idade até 6 anos, diz-se que é o tipo mais comum de câncer infantil (Pedrosa, 2002 e Silva, 2015). Apesar disso, não se exclui a possibilidade de ocorrência em adultos, representa 20% dos cânceres neste grupo de pacientes (Silva, 2015); mais de 75% dos casos em adultos mostram alteração nos precursores de linhagem B e o restante nos precursores de linhagem T (Terwilliger, 2017).

No município de São Paulo, a taxa de incidência é de 37,4 novos casos por 1 milhão de habitantes, que chega a ser equivalente às taxas de alguns países da América Latina e Caribe, além do Canadá e Estados Unidos. Entretanto, a taxa de mortalidade do município de São Paulo é considerada alta quando comparada a outros locais como Canadá, Bélgica, Reino Unido, Holanda, Suíça, Alemanha e Dinamarca (Silva, 2015). Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2019, faleceram 524 crianças de 0 a 19 anos no Brasil portadoras de LLA. Neste mesmo ano, vieram a óbito 1.710 adultos com esta doença (Seber, 2021). Dados de 2019 a 2020 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), mostram que a população brasileira que possui até 25 anos de idade corresponde a cerca de 80 milhões de indivíduos. Dos pacientes com LLA, 80% representam a LLA-B, logo a incidência estimada nessa população é de aproximadamente de 1,76 casos a cada 100.000 indivíduos (ANVISA, 2022).

Os sintomas apresentados pelos portadores desta doença estão relacionados à anemia, trombocitopenia e neutropenia devido à infiltração da medula óssea pelas células tumorais. Além disso, os sinais clínicos podem incluir hematomas ou sangramentos espontâneos, fadiga, infecções recorrentes, febre, sudorese noturna e perda de peso. O paciente pode desenvolver hepatomegalia, esplenomegalia e linfadenopatia, porém depende do grau de comprometimento da doença (Puckett, 2022). Os sintomas iniciais da LLA podem ser confundidos com outras doenças

frequentes da infância, como a coqueluche, mononucleose infecciosa, processos inflamatórios, artrite reumatoide juvenil e artralgia (Dantas, 2015).

A etiologia ainda não está totalmente esclarecida, porém estudos apontam o surgimento da doença a seguintes causas: uso de drogas antineoplásicas, radioterapia, além de fatores genéticos associados, exposição a agentes químicos, fármacos e exposição à radiação ionizante, como o ataque nuclear às cidades de Hiroshima e Nagasaki (Cavalcantes, 2017).

O diagnóstico parte da identificação dos blastos por análise morfológica seja no sangue periférico e/ou medula óssea, seguido da caracterização imunológica pela realização da técnica de imunofenotipagem por citometria de fluxo; e determinação das alterações genéticas e moleculares que contribuem para, além da classificação, também a determinação do prognóstico da doença (RODRIGUES, 2019). Como exemplo de alterações genéticas, pode-se citar a formação do cromossomo *Philadelphia* (Ph), um minúsculo cromossomo 22 derivado, resultado da $t(9;22)(q34;q11.2)$ que desenvolve o gene de fusão *BCR-ABL1* (Loghavi, 2015).

Atualmente, a classificação utilizada é proposta pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que adequou os critérios morfológicos da classificação do grupo cooperativo Franco Americano-Britânico (FAB), e a classificação que se baseia no perfil imunofenotípico das células, desenvolvida pelo *European Group for Immunophenotyping Leukemias* (EGIL); além de cada vez mais trazer características genéticas e moleculares (Silva, 2009).

O tratamento desta leucemia pode variar de dois a três anos; por mais que os esquemas quimioterápicos possam sofrer modificações de centro para centro, os protocolos mais recentes são constituídos de quatro fases, sendo elas: indução da remissão junto com o tratamento ou a profilaxia do sistema nervoso central (SNC), a consolidação e a manutenção (Pedrosa, 2002 e Cavalcante, 2017). Como os medicamentos utilizados nos esquemas quimioterápicos agem sobre as células cancerígenas e as células normais, o risco de ocorrência de efeitos colaterais acaba sendo alto. Os efeitos mais comuns são: perda de cabelo, náuseas e vômitos, diarreia ou constipação, além disso ocorrem mudanças na aparência física, infecções, hematomas ou hemorragia e falta de ar (Wakiuchi, 2019).

Para tentar contornar os efeitos colaterais e a possibilidade de recidiva da doença, foi desenvolvido um tipo de tratamento com *CAR-T cell*. Neste modelo, são

apresentadas altas taxas de resposta na população com leucemia recidivada ou refratária. Por enquanto, o único tratamento aprovado para a comercialização pelas agências estadunidense e europeia de controle de medicamentos, sendo respectivamente a FDA (*Food and Drug Administration*) e EMA (*European Medicines Agency*) para tratamento de pacientes com LLA-B é o tiasegenlecleucel, que é uma célula CAR-T anti-CD19 autóloga que contém o 4-1BB como molécula co-estimulatória (Seber, 2021). As células T infundidas para o paciente, através do medicamento, farão a eliminação das células neoplásicas com baixa toxicidade (Martho, 2017).

No Brasil, esta terapia é reconhecida como uma terapia de resgate, assim, é recomendado que a sua indicação seja para pacientes infantis e adultos de até 25 anos portadores de LLA, após o uso de diversos antineoplásicos sem sucesso ou quando ocorre recidiva da doença (Seber, 2021).

2 OBJETIVO

O objetivo geral do trabalho foi realizar uma análise, síntese e discussão das informações mais recentes sobre a leucemia linfoblástica aguda do tipo B (LLA-B), correlacionando a estrutura e aplicação da terapia CAR-T *cell*. Especificamente sobre a LLA-B, foram discutidos os fatores que influenciam o aparecimento da doença, diagnóstico e tratamento. Para a terapia CAR-T foram apresentadas informações sobre a história da terapia, produção, estrutura e tratamentos aprovados para a leucemia estudada. Por fim, houve a construção de uma análise comparativa dos tratamentos convencionais com a terapia CAR-T *cell*.

3 MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho, foi realizada uma revisão bibliográfica a partir de artigos publicados em português e inglês, entre 2015 a 2023, encontrados nas bases de dados Pubmed, Scielo e Google acadêmico, utilizando as seguintes palavras-chaves: leucemia linfoblástica aguda do tipo B, *CAR-T cell, type B acute lymphoblastic leukemia*.

Foram levantados 112 publicações entre artigos e livros, porém foram utilizados somente 53 artigos, e 3 livros publicados periodicamente. Os critérios de escolha para a inclusão destas publicações foram: ter parte da informação buscada pelas palavras-chaves, apresentar fácil acesso de leitura, podendo até estender o período inicial de busca. Para os critérios de exclusão dos artigos foram utilizadas as seguintes análises: não ter as informações necessárias ou que fossem consideradas relevantes e dificuldade de acesso ao material na íntegra.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Leucemia Linfoblástica aguda

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) pode ser definida como uma proliferação maligna das células linfoides imaturas. Esta leucemia é imunofenotipicamente heterogênea, apresentando expansões clonais de linfoblastos nos diferentes estágios da hematopoese. O comprometimento dos linfoblastos na medula óssea dificulta que a produção de outros glóbulos brancos, glóbulos vermelhos e plaquetas aconteça de maneira regular, fazendo com que haja a substituição desses elementos pelas células leucêmicas. Como a proliferação é desregulada, a célula leucêmica apresenta um maior crescimento quando comparada às demais células saudáveis, e quando da realização do mielograma, é possível observar o infiltrado leucêmico. A infiltração acomete também sítios extramedulares que realizavam a hematopoiese fetal, por exemplo o fígado e baço; e linfonodos. Pode ocorrer a invasão e proliferação em órgãos e tecidos não hematopoiéticos, como no sistema nervoso central, testículos, trato gastrintestinal e até na pele (Almeida, 2009; Dantas, 2015 e Gómez-Mercado, 2019).

Essa infiltração em diferentes órgãos e tecidos contribui para o aparecimento de sinais e sintomas clínicos, como infecções frequentes, febre, fraqueza e cansaço constantes, dores nos ossos, palidez, sangramentos ou aparecimento de hematomas, linfonodomegalia no pescoço, axilas e virilhas, falta de ar, cefaleia, hepatomegalia e esplenomegalia. Por mais que a LLA seja uma doença de aparecimento abrupto e de evolução rápida, ela possui um alto índice de cura (Almeida, 2009; Dantas, 2015 e Gómez-Mercado, 2019).

As leucemias linfoblásticas agudas são caracterizadas conforme a expressão de antígenos específicos da linhagem, que podem ser B ou T. Essa descrição é feita através das características imunofenotípicas dos linfoblastos (Almeida, 2009 e Chauffaille, 2013).

A LLA apresenta uma incidência maior, cerca 70% dos casos, entre crianças de 2 a 5 anos; a incidência cai para 20% entre adolescentes e jovens adultos, porém volta a crescer após os 60 anos de idade. Nas crianças, a leucemia é mais frequente no sexo masculino e em indivíduos de raça branca (Farias, 2004).

A LLA caracteriza-se com várias mutações genéticas, incluindo aneuploidia e translocações cromossômicas nos genes envolvidos no desenvolvimento das células linfoides e no ciclo celular, fazendo com que a diferenciação celular fique comprometida. Esse comprometimento aliado à uma proliferação excessiva dos blastos, fazem com que ocorra um acúmulo de blastos na medula óssea, na corrente sanguínea e em sítios extramedulares. Na LLA-B, como a proliferação ocorre nas células precursoras linfoides do tipo B, há o acúmulo dos linfoblastos B. Visto que há uma rápida progressão da doença, além do nível de imaturidade das células leucêmicas, há a necessidade do início do tratamento ser imediato (Matias, 2019).

Em alguns estudos realizados com a população pediátrica foi possível identificar algumas síndromes genéticas que podem predispor à LLA, sendo elas a síndrome de Down, anemia de Fanconi, síndrome de colapso de Nijmegen, síndrome de Bloom e a ataxia telangiectasia. A radiação ionizante, pesticidas, vírus como o Epstein-Barr e o da imunodeficiência humana e certos solventes podem ser fatores predisponentes. Esses fatores representam a minoria dos casos, já que a maioria aparece devido a translocações cromossômicas. Essas translocações incluem a $t(12;21)$ [*ETV6-RUNX1*], $t(1;19)$ [*TCF3-PBX1*], $t(9;22)$ [*BCR-ABL 1*] e rearranjo de *MLL* (Terwilliger, 2017).

As alterações citogenéticas na banda 11q23 são encontradas em cerca de 8% dos casos, sendo a mais comum a $t(4,11)$ (q21,Q23) estando presente em 2% a 5% dos casos, vista principalmente em lactantes com idade inferior a 1 ano de idade. A translocação $t(9;22)$ (q34;q11), conhecida como cromossomo Philadelphia (Ph), é a fusão gênica BCR-ABL que resulta em proliferação celular e leucemogênese. Esse cromossomo é encontrado em 30% dos pacientes adultos e em 3% a 5% dos casos pediátricos. Já a $t(8;14)$ (q24;32) está relacionada ao rearranjo cromossômico de neoplasias linfoides B maduras, representa de 2% a 5% de todas as LLAs em crianças ou adultos. A mutação $t(1;19)$ pode ser encontrada em vários tipos de LLA-B, estando presente em 5% a 6% de todos os casos de LLA, a sua incidência em crianças é de cerca 25% a 30% com LLA do tipo pré-B e menos de 5% dos casos em adultos. A anormalidade no braço curto do cromossomo 12 $t(12;21)(p13;q22)$ está relacionado ao imunofenótipo precursor de células B, é a alteração genética com maior incidência pediátrica, estando presente em 20% a 30% dos casos e em 3% dos adultos (Fadel, 2010).

Os portadores do cromossomo Philadelphia apresentam um mau prognóstico (Matias, 2019). Já a translocação (12;21) em crianças é conhecida por ter um excelente prognóstico, facilitando no tratamento, a escolha de quimioterápicos menos agressivos e tóxicos (Farias, 2004).

Em cerca de 80% dos casos desta LLA semelhante à Ph, foram encontradas deleções nos principais fatores de transcrição que estão presentes na maturação dos linfócitos B, abrangendo a família IKAROS *Family Zinc Finger 1* (IKZF1), fator de transcrição 3 (E2A), *B precece-cell factor 1* (EBF1) e *Paired Box 5* (PAX5). Em 90% das LLAs, à semelhança do Philadelphia, são encontradas mutações ativadoras de quinase. As mais frequentes incluem rearranjos envolvendo ABL1, JAK2, PDGFRB, CRLF2 e EPOR, que ativam as mutações de IL7R e FLT3 e deleção de SH2B3, que vão codificar o gene regulador negativo de JAK2 LNK. Essas alterações possuem implicações terapêuticas relevantes, visto que a LLA tipo Ph, que já é propensa a ter um prognóstico ruim, pode começar a responder aos inibidores da quinase (Terwilliger, 2017).

4.2 Classificações

Atualmente, a classificação utilizada é a proposta pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que adequou os critérios do grupo cooperativo Franco Americano-Britânico (FAB) e a classificação imunológica desenvolvida pelo *European Group for Immunophenotyping Leukemias* (EGIL) (Silva, 2009).

4.2.1 Classificação FAB (Franco-Americana-Britânica)

Em 1976, foi publicada a classificação que ficou conhecida como FAB, pois foi idealizada por especialistas franceses, americanos e britânicos (Porwitt, 2011). Os critérios foram definidos de acordo com a incidência de características citológicas, sendo: (1) tamanho da célula, cromatina celular, forma nuclear, nucléolos, quantidade e basofilia do citoplasma, e (2) o grau de heterogeneidade nos arranjos da população de células leucêmicas. Dessa maneira foram descritos três tipos, sendo L1, L2 e L3 (Bennet, 1976), exemplificados na figura 1.

L1: Nesse tipo, as células são homogêneas e pequenas. A cromatina pode

aparecer levemente dispersa ou agrupada nas células menores. A forma nuclear é regular mas se tem a presença de grau de fenda, indentação ou dobramento, os nucléolos normalmente não são visíveis com tanta facilidade. Possui alta relação núcleo-citoplasma (Bennet, 1976). Citoplasma é levemente basofílico. A sua incidência é de 74% em crianças menores de 15 anos (Antica, 2011).

L2: As células estão duas vezes maiores do que o normal e são mais heterogêneas. A cromatina nuclear pode estar dispersa a condensada. Alterações no núcleo, como fenda nuclear, indentação e dobramento são característicos. Os nucléolos estão presentes, normalmente variando de tamanho e número. O citoplasma pode ser abundante e basófilo. Pode ser chamada de “leucemia indiferenciada”, pois precisa de testes para conseguir se diferenciar da leucemia mieloblástica sem maturação (Bennet, 1976). Cerca de 66% dos casos de L2 ocorrem em pacientes com idade acima de 15 anos (Antica, 2011).

L3 (também conhecido por linfoma do tipo Burkitt): células grandes e homogêneas. Apresenta cromatina nuclear densa, núcleo oval e redondo. Nucléolos vesiculares abundantes, citoplasma relativamente grande e presença de vacuolizações citoplasmáticas. Está presente a basofilia citoplasmática (Bennet, 2011). O tipo L3 incluiu a maioria dos casos anteriormente denominados B-ALL com expressão de imunoglobulina de superfície (Sig). No entanto, alguns outros tipos de LLA, particularmente aqueles com t(1;19), também podem apresentar esta citologia. É específico um alto índice mitótico com a aparição de macrófagos. Normalmente, são expressos marcadores linfoides B maduros e imunoglobulina de superfície (Antica, 2011 e Porwitt, 2011).

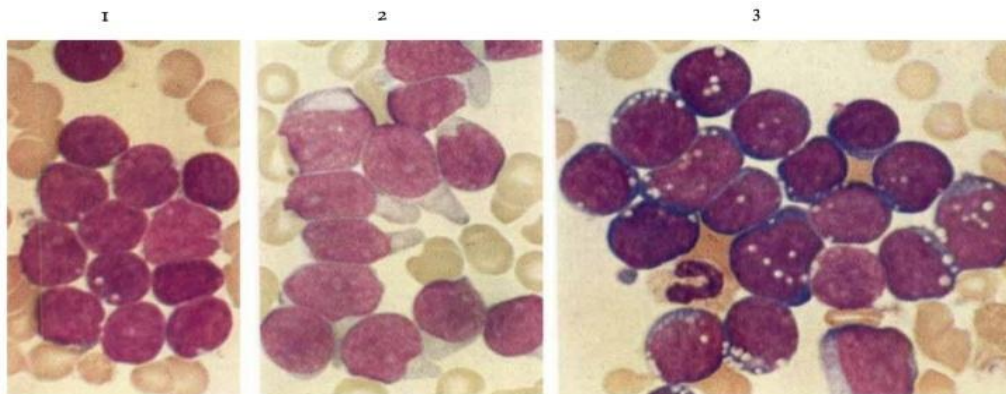


Figura 1. Leucemia linfoblástica na medula óssea. Fig 1: L1, Fig 2: L2, Fig 3: L3. (Fonte: *Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias*, disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/188440/>)

4.2.2 Classificação EGIL (*European Group For The Immunological Characterization Of Leukemias*)

Desenvolvida pelo *European Group for the Immunological Characterization of Leukemias* (EGIL), em 1995, apresenta características dos marcadores imunológicos celulares (Bene, 1995) (tabela 1).

A leucemia linfoblástica aguda do tipo B é definida através da expressão de no mínimo dois dos três marcadores precoces das células B, sendo eles: CD19, CD79a (mb-1) ou CD22. O mb-1, que é expresso no citoplasma, se liga não covalentemente a imunoglobulinas (Ig), que por sua vez estão ligadas à membrana celular. O marcador CD22 é encontrado durante o desenvolvimento do linfócito B, sendo expresso primeiro no citoplasma e depois na membrana. Foram propostas quatro categorias da LLA-B, numeradas de B-I a B-IV, que foram estipuladas conforme com o grau de diferenciação das células B imaturas. Os marcadores mais importantes para o diagnóstico diferencial e subclassificação da LLA são CD19, CD20, CD22, CD24 e CD79a. Os primeiros marcadores a surgir nas células da leucemia de linhagem B são CD19, CD22 (presente na membrana e citoplasma) e CD79a. Para a identificação do tipo B-I, é necessário ter a presença de dois desses três marcadores, sem marcadores de diferenciação adicionais. Para o subtipo B-II, é necessário a presença do antígeno CD10, além dos outros marcadores já reportados, representa 75% dos casos da LLA infantil e 50% dos casos em adultos. Já para o B-III vai consistir a identificação adicional de cadeia μ pesada citoplasmática; representa 15% dos casos em crianças e 10% dos casos em adultos. A B-IV foi considerada a mais madura, podendo ser definida conforme a expressão da imunoglobulina de superfície (Smlg), pela expressão citoplasmática de algumas das cadeias leves de Ig e pela perda da expressão de TdT, fazendo com que tenha um prognóstico desfavorável já que envolve um aumento da incidência de acometimento do sistema nervoso central (SNC), além de apresentar uma deficiência à terapia (Bene, 1995; Chiaretti, 2014 e Farias, 2004).

Classificação	Imunofenótipo	Frequência	
		Adultos*	Crianças**
LLA de linhagem B	CD19+ e/ou CD79a+ e/ou CD22+		
BI (Pró-B)	Sem expressão de outros antígenos	11%	5-9%
BII (B comum)	CD10+	49%	53-65%
BIII (pré-B)	IgM+ citoplasmático	12%	14-20%
BIV (B madura)	Cadeia κ + ou λ + (citoplasma ou superfície)	2-4%	2-3%

Tabela 1. Classificação Imunofenotípica proposta pela EGIL. Fonte: Classificação das Leucemias Agudas. Citologia, Citoquímica, Imunofenotipagem, Citogenética e Genética Molecular, disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/mod/resource/view.php?id=1268091>)

4.2.3 Classificação OMS (Organização Mundial da Saúde)

A classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) adotou em 2001 a classificação franco-americana-britânica (FAB). Com isso, a OMS legitimou as neoplasias precursoras de células T e B que correspondem a LLA, porém foram excluídos alguns casos, como $t(8;14)(q24;q32)$ e os casos raros de variantes, como $t(2;8)(p12;q24)$ e $t(8;22)(q24;q11)$, que apresentam rearranjos gênicos de imunoglobulina e começam a expressar imunoglobulinas de superfície. Esses casos representam o linfoma de Burkitt, que pela OMS foi determinado como neoplasia de células B maduras (Porwitt, 2011).

As leucemias linfoblásticas B podem ser diagnosticadas somente pela família/classe na morfologia e pelo imunofenótipo. Pode ser classificada com embasamento nos dados disponibilizados de testes citogenéticos, porém a subtipagem genética molecular pode ser apresentada em alguns lugares. O termo LLA-B NOS é utilizado nos casos que não consigam ser classificados após os testes amplamente utilizados. Na 5ª edição da Classificação da Organização Mundial da Saúde de Tumores Hematolinfoides: Neoplasias Linfoides, grande parte das neoplasias de células precursoras B foram determinadas de acordo com alterações da ploidia, como hiperdiploidia e hipodiploidia, além dos rearranjos cromossômicos ou a apresentação de outros genes mutados. Normalmente os genes mutados são: $iAMP21$, fusão $BCR::ABL1$, rearranjos $KMT2A$, fusão $ETV6::RUNX1$, fusão $TCF3::PBX1$ ou fusão $IGH::IL3$ (Alaggio, 2022).

A tabela 2 mostra a atual classificação OMS para Neoplasias de células

precursoras B em comparação à edição anterior.

Classificação da OMS, 5ª edição	Classificação da OMS, revisada 4ª edição
Neoplasias precursoras de células B	
Leucemias/linfomas linfoblásticos de células B	
Leucemia/linfoma linfoblástico B, NOS	(Mesmo)
Leucemia/linfoma linfoblástico B com hiperdiploidia elevada	Leucemia/linfoma linfoblástico B com hiperdiploidia
Leucemia/linfoma linfoblástico B com hipodiploidia	(Mesmo)
Leucemia/linfoma linfoblástico B com iAMP21	(Mesmo)
Leucemia/linfoma linfoblástico B com fusão BCR::ABL1	Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL1
Leucemia/linfoma linfoblástico B com características semelhantes a BCR::ABL1	Leucemia/linfoma linfoblástico B, semelhante a BCR-ABL1
Leucemia/linfoma linfoblástico B com rearranjo KMT2A	Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(v;11q23.3); KMT2A reorganizado
Leucemia/linfoma linfoblástico B com ETV6:: fusão RUNX1	Leucemia/linfomas linfoblásticos B com t(12;21)(p13.2;q22.1); ETV6-RUNX1
Leucemia/linfoma linfoblástico B com características semelhantes a ETV6::RUNX1	Não incluído anteriormente
Leucemia/linfoma linfoblástico B com fusão TCF3::PBX1	Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(1;19)(q23;p13.3); TCF3-PBX1
Leucemia/linfoma linfoblástico B com fusão IGH::IL3	Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(5;14)(q31.1;q32.1); IGH/IL3
Leucemia/linfoma linfoblástico B com fusão TCF3::HLF	Não incluído anteriormente
Leucemia/linfoma linfoblástico B com outras anomalias genéticas definidas	(Mesmo)

Tabela 2. Tradução da tabela criada pela OMS para representação das mudanças feitas. (Fonte: The 5th edition of the World Health Organization Classification of Hematolymphoid Tumors: Lymphoid Neoplasms, disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35732829/>).

4.3. Diagnóstico

O diagnóstico começa pela análise morfológica das células pelo hemograma e mielograma. Entretanto, para se ter a confirmação, devem ser realizados exames de imunofenotipagem por citometria de fluxo e citogenética (Almeida, 2009).

4.3.1 Hemograma

O hemograma, junto com os sinais e sintomas, é o exame onde se suspeita da doença, nele pode se encontrar anemia normocítica e normocrômica, podendo também ser encontrado trombocitopenia (Farias, 2004). O critério diagnóstico de LLA é a presença de no mínimo 20% de blastos no sangue periférico (figura 2) ou medula óssea (Chauffaille, 2013).

Por volta de 60% dos pacientes apresentam leucometria superior a 100.000/mm³. Entretanto, 25% dos indivíduos com a doença apresentam leucopenia, que são leucócitos abaixo de 4.000/mm³. Indivíduos com leucopenia podem

apresentar a situação “aleucêmica”, que são encontrados blastos em pequeno número ou até mesmo ausentes (Fadel, 2010).

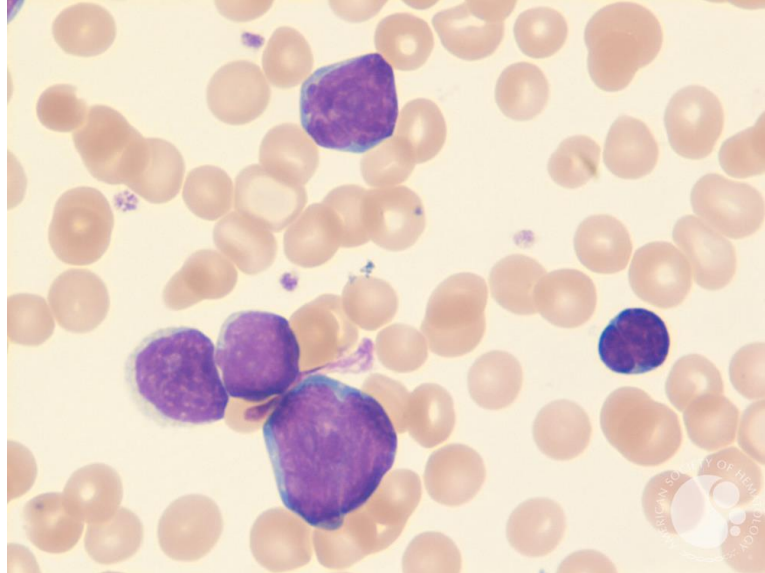


Figura 2. Blastos de LLA-B no sangue. (Fonte: ASH - American Society Hematology, disponível em: <https://imagebank.hematology.org/collection/61570>).

4.3.2 Mielograma

Na maioria dos pacientes com LLA, o mielograma mostra uma medula óssea hipercelular com mais de 25% de blastos. Além do mais, se começa a apresentar modificação dos espaços adiposos e de elementos medulares, que vão começar a conter células leucêmicas, com precursores mieloides e eritroides residuais de aparência normal, porém os megacariócitos estarão ausentes ou diminuídos (Fadel, 2010 e Farias, 2004).

A fibrose medular pode acontecer em 10 a 15% dos casos, nesse caso o material que foi aspirado da medula óssea precisa ser submetido a colorações citoquímicas, como Sudan Black, PAS, mieloperoxidase e esterases (Fadel, 2010).

Pela inespecificidade do hemograma e do mielograma, podem ocorrer atrasos de diagnósticos em alguns casos, sendo entre 2 semanas a 13 meses (Barbosa, 2002).

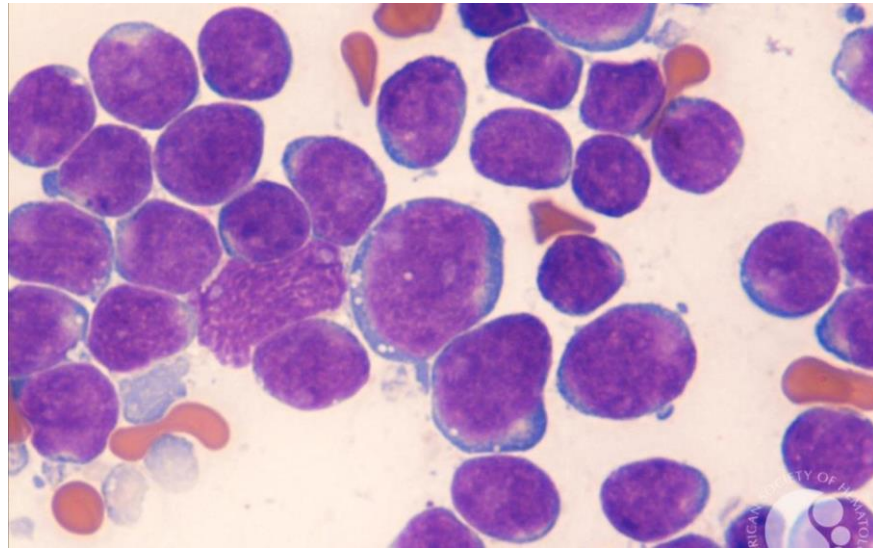


Figura 3. Mielograma da LLA-B. (Fonte: ASH - ASH - American Society Hematology, disponível em: <https://imagebank.hematology.org/collection/61573>).

4.3.3 Imunofenotipagem por Citometria de fluxo

Com esta técnica é possível apresentar informações importantes por meio da identificação de proteínas celulares, identificando a linhagem celular dos blastos. Pela imunofenotipagem por citometria de fluxo consegue se demonstrar o tipo de leucemia (mieloide ou linfóide), além de apresentar relevância na ação pós-diagnóstica, como a detecção da doença residual mínima (Sanchez, 2020). Este exame também serve para acompanhar os pacientes que foram submetidos ao transplante de medula óssea (Azevedo, 2019).

Para realizar este exame, é feito um aspirado da medula óssea ou do sangue periférico (Sanchez, 2020).

A técnica de imunofenotipagem por citometria de fluxo apresenta a capacidade de fazer medições rápidas em células ou em partículas, além de permitir a análise dos critérios com base na fluorescência e na dispersão de um feixe de luz. A dispersão de luz permite analisar características celulares como tamanho e complexidade interna e as características moleculares quando as células são incubadas com anticorpos monoclonais, que foram marcados com fluorocromos. Os fluorocromos são moléculas fluorescentes, ligadas a anticorpos monoclonais, que “dão cor” para o que está sendo analisado (Azevedo, 2019). Assim, vai ser possível a detecção dos antígenos expressos pelas células leucêmicas, podendo estar

presentes na superfície, no citoplasma e no núcleo (Silveira, 2008) (figuras 4 e 5).

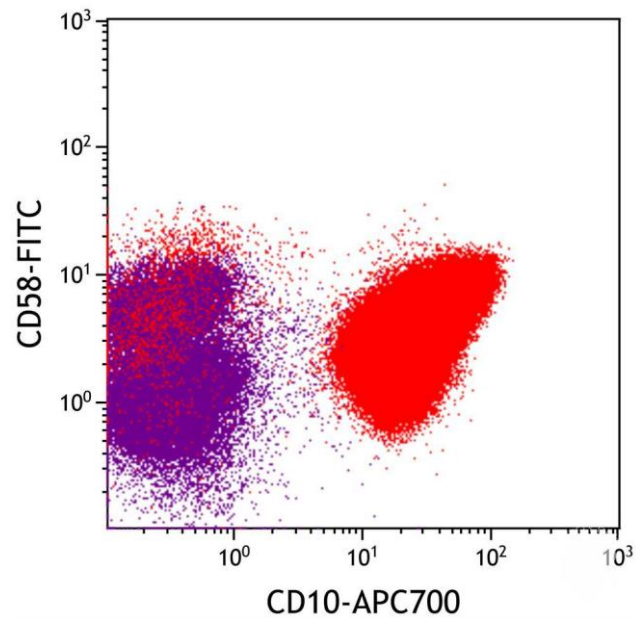


Figura 4. Gráfico de Citometria de Fluxo de LLA-B que expressa o marcador de CD10.

(Fonte: ASH - American Society Hematology, disponível em:

<https://imagebank.hematology.org/collection/61579>).

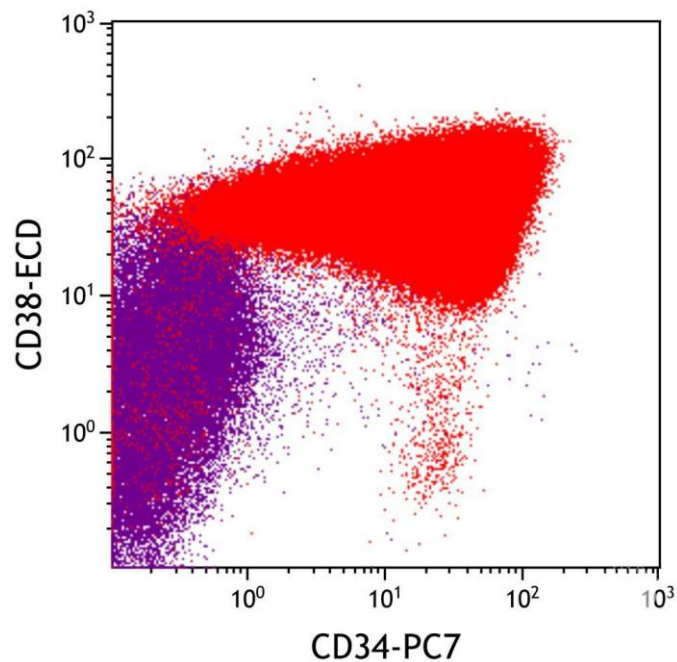


Figura 5. Gráfico de Citometria de Fluxo de LLA-B que co-expressa os marcadores CD34 e

CD38. (Fonte: ASH - American Society Hematology, disponível em:

<https://imagebank.hematology.org/collection/61578>).

4.3.4 Citogenética

O exame de citogenética faz a pesquisa das alterações cromossômicas das leucemias, sendo eficaz para o entendimento dos mecanismos associados à malignidade, para descobrir genes de importância clínica e avaliar o prognóstico (Fadel, 2010). As alterações genéticas podem ser compostas por inversões, deleções ou translocações no cariótipo, por exemplo alterações numéricas ou estruturais no cromossomo. O aparecimento de polimorfismos genéticos pode interferir no tratamento dos pacientes, já que se forem encontrados em genes que codificam enzimas metabolizadoras ou transportadoras ou receptoras ou alvos farmacológicos, vão induzir a uma intervenção e restrição no efeito do tratamento da neoplasia (Moreira, 2018).

A citogenética é dividida em clássica e molecular. A clássica é a análise dos cromossomos da célula em divisão, sendo a metáfase da mitose. Após interromper a mitose, são realizadas as etapas para se fazer a montagem do cariótipo (figura 6). Por sua vez, a citogenética molecular não depende da divisão celular, pois é feita pela análise do DNA. Para a citogenética molecular são empregadas as técnicas de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH), hibridação genômica comparativa (CGH) e cariotipagem espectral (SKY) (Chauffaille, 2005).

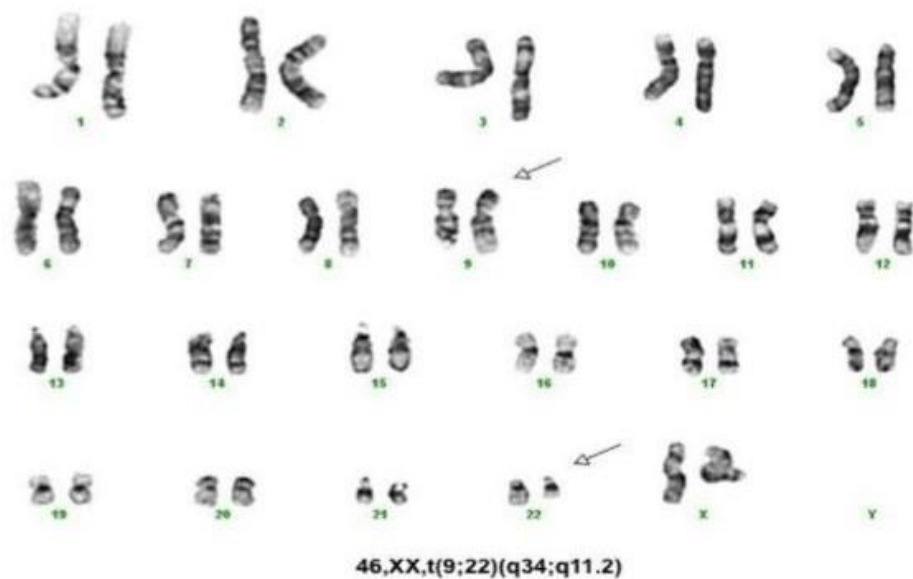


Figura 6. Citogenética Ph+ LLA. (Fonte: ASH - American Society Hematology, disponível em: <https://imagebank.hematology.org/collection/60363>).

4.4 Tratamentos

O início do tratamento da LLA acontece logo após o diagnóstico confirmado pela técnica de imunofenotipagem por citometria de fluxo e, quando possível, da citogenética. Além disso, considera-se o quadro clínico apresentado e a idade para que possa ser determinado o melhor protocolo terapêutico (Cavalcante, 2017).

O tratamento da LLA apresenta quatro fases, sendo elas: indução da remissão junto com o tratamento ou a profilaxia do sistema nervoso central (SNC), a consolidação e a manutenção. Na fase de indução busca-se atingir os valores dos exames dentro dos valores de referência, implicando em um sistema hematopoiético restaurado e em funcionamento. Além disso, precisa ocorrer o tratamento ou prevenção da doença no sistema nervoso central, que ocorre com o uso de quimioterapia intratecal ou da radioterapia. Após esta etapa, vem a fase de consolidação, que é quando se faz um tratamento intenso visando prevenir o aparecimento de células resistentes aos tratamentos realizados. A associação da quimioterapia sistêmica com a quimioterapia intratecal, faz com que se consolide a fase de indução. Por fim, há a fase de manutenção, o seu início acontece após completar entre seis a doze meses de tratamento intensivo, como principal objetivo é prevenir a recidiva, essa fase pode durar até dois anos após a remissão (Cavalcante, 2017).

É desejável a remissão completa após o tratamento, sendo caracterizado pela presença de valores menores que 5% de blastos na medula óssea e pelo sinal da recuperação hematopoiética. Em alguns casos, pode ocorrer a remissão clínica porém ainda estar presente na medula óssea uma quantidade pequena de blastos disfuncionais, que é caracterizado como doença residual mínima (DRM) positiva. A pesquisa de DRM deve ser realizada durante o tratamento através da reação em cadeia da polimerase (PCR) ou por imunofenotipagem por citometria de fluxo. A sobrevida sem recidivas a longo prazo está relacionada ao diagnóstico precoce ou tardio da DRM (Ministério da Saúde, 2022).

A radioterapia pode ser associada com a quimioterapia com o propósito de eliminar as células leucêmicas na medula óssea e em órgãos que as células estejam presentes, além de ser utilizada na prevenção e no tratamento da infiltração do sistema nervoso central (Souza, 2020 e Zago, 2013). A radioterapia tem como ação

induzir a ionização celular, tendo como resultado a geração de nitrogênio e oxigênio reativos que vão atuar nos radicais livres, levando assim a um dano celular (Zago, 2013).

As crianças que apresentam recidiva após o tratamento inicial e após uma segunda remissão completa, são elegíveis para o transplante de células hematopoiéticas (Ministério da Saúde, 2022).

A utilização do transplante de medula óssea (TMO) acontece em quadros de pacientes com grande comprometimento sistêmico ou quando não se tem outra terapia eficiente ou após a recidiva. O transplante é realizado após a eliminação do tecido hematopoiético e imunológico do paciente receptor, podendo acontecer com o uso da quimioterapia ou pela radioterapia, após esta etapa é feita a substituição do tecido lesionado pelo recebimento das células-tronco do paciente doador. Aproximadamente, 70% dos enfermos que precisam realizar o transplante não possuem doadores compatíveis na família, necessitando assim de doadores voluntários fora deste ciclo. Entretanto, devido a compatibilidade entre os genes HLA ser determinante para o sucesso do transplante, as chances de encontrar um doador compatível na população diminui consideravelmente, já que estes genes demonstram uma alta taxa de polimorfismo entre a população (Diniz, 2021).

Enquanto se espera um doador compatível, os enfermos em primeira recidiva realizam uma quimioterapia mais agressiva com uma fase inicial de indução, sendo seguida por três blocos da quimioterapia de consolidação. Apesar disso, cerca de 20% das crianças que estão na primeira recidiva vão a óbito devido aos efeitos adversos agudos ou pelo longo período da quimioterapia ou ainda devido a resistência ao tratamento. Esses pacientes podem ser submetidos a terapia de células T com receptor de antígeno quimérico (CAR-T *cell*) (Ministério Da Saúde, 2022).

4.5 Terapia Car-t *cell*

A primeira terapia com célula T projetada com molécula quimérica foi criada em 1987 pelos imunologistas Zelig Eshhar e Gideon Gross. Esses CARs são chamados de primeira geração, porém não eram clinicamente eficazes (Styczyński, 2020).

4.5.1 Produção

A elaboração das células CAR requer diversas etapas (Levine, 2017) (figura 7).

O processo de produção da terapia começa no isolamento das células T do paciente (autólogo) ou algum doador saudável (alogenico), através de leucaférese. A aférese é um procedimento que envolve a separação e retenção de um ou mais componentes sanguíneos, enquanto se devolve os demais componentes. A aférese pode ser dividida em cinco procedimentos, sendo a utilizada nesse caso a leucaférese. A leucaférese possui a função de retirar os leucócitos e reinfundir um plasma pobre em leucócitos. As células obtidas vão ser enriquecidas com linfócito T, além de serem lavadas com substância com anticoagulantes. Pode ocorrer a separação de subconjuntos de células T com CD4/CD8 através de conjugados ou marcadores de esferas de anticorpos específicos (Alnefaie, 2021; Levine, 2017 e Zhang, 2021).

Após esta etapa, as células T vão ser cultivadas e ativadas por células apresentadoras de antígenos (APCs) autólogas ou com anticorpos monoclonais anti-CD3 ou anti-CD28, podendo ser utilizado uma mistura de ambos com citocinas. A citocina normalmente utilizada para obtenção de uma rápida proliferação celular é a IL-12 (interleucina-12). Para a entrega do material genético estranho (RNA ou DNA) (ácido ribonucleico ou ácido desoxi-ribonucleico) em células humanas podem ser utilizados vetores virais ou não virais. Os vetores virais são utilizados como vetores de transdução por apresentarem alta eficácia de transferência e da sua capacidade de obtenção de grandes números de células T transduzidas durante pouco tempo. O vetor viral mais utilizado é o retrovírus geneticamente modificado. Os vetores virais são eliminados da cultura pela diluição e troca de meio durante o período de ativação. Como a utilização desses vetores podem causar tumorigênese e toxicidades ocasionadas pela mutagênese insercional feita por esses agentes, foram desenvolvidos os vetores não virais. Os vetores não virais entregam o material genético para dentro dos linfócitos de uma maneira mais precisa e segura, entre eles existem os baseados em transposons e o *sleeping beauty* (SB). Pode ser utilizado eletroporação de RNAm (RNA mensageiro) codificante (Alnefaie, 2021; Levine, 2017

e Zhang, 2021).

A próxima etapa é a expansão celular através de biorreatores. Quando as células atingem o volume desejado, as células são re-infundidas no paciente. Entretanto, antes da re-infusão, o paciente recebe nas 48 a 96 horas anteriores uma quimioterapia para linfodepleção, como forma de desenvolver um ambiente imunológico favorável que vai permitir a proliferação e a função ideal do CAR-T. Além disso, os testes de contaminação devem ser negativos para a detecção de bactérias, fungos, micoplasmas ou presença de endotoxinas e é necessário que a expressão do CD19 seja avaliada e confirmada por citometria de fluxo. Após estes cuidados, as células geneticamente modificadas podem ser re-infundidas e ocorre o monitoramento do paciente para averiguar se há o aparecimento de algum efeito adverso decorrente da imunoterapia. Todos esses processos demoram cerca de 3 semanas, sendo a produção da terapia a mais demorada (Alnefaie, 2021; Cappel, 2023; Ramos, 2021 e Seber, 2021).

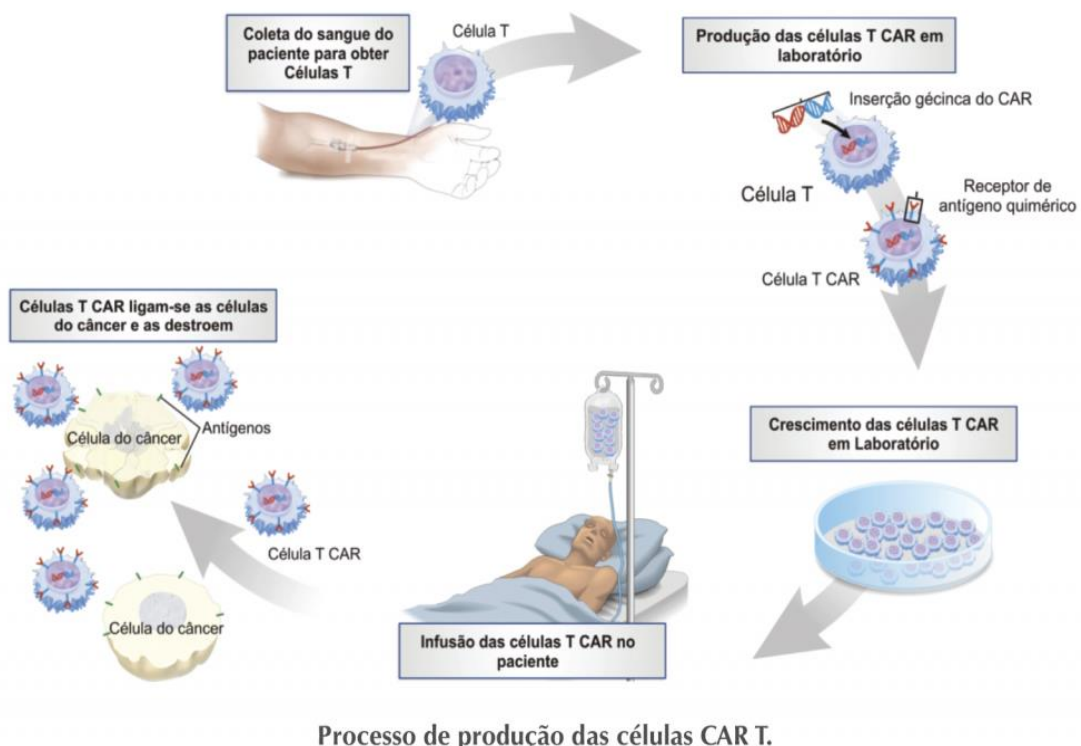


Figura 7. Resumo em forma de figura que retrata o processo da realização e aplicação da terapia CAR-T Cell. (Fonte: Centro de terapia celular, disponível em: <https://ctcusp.org/celulas-t-car/o-que-sao-celulas-car-t/>).

4.5.2 Estrutura da terapia

O reconhecimento e as respostas para as células leucêmicas são realizados pelos TCRs (receptores de células T) através de antígenos expressos por essas células, que por sua vez tem os seus antígenos expressos por uma molécula do complexo de histocompatibilidade maior (MHC) (Kershaw, 2013).

Os receptores de antígenos quiméricos (CARs) são produtos sintéticos capazes de perceber sinais para aprimorar a habilidade de destruição dos linfócitos, pelo mecanismo de receptor de célula T (TCR). Os CARs são capazes de atuar como um TCR específico, via reconhecimento dos antígenos expressos pelas células leucêmicas. O CAR é manuseado *in vitro* e é expresso na superfície de linfócitos T CD8+ autólogos. Após o reconhecimento do antígeno-alvo, o ataque celular é ativado e redirecionado unicamente contra a célula leucêmica, o que garante a especificidade no tratamento apesar da restrição do complexo de histocompatibilidade maior (MHC), já que os CARs são estruturados molecularmente independentes do MHC. A terapia CAR-T *cell* teria como alvo ideal um antígeno produzido somente por células neoplásicas, por mais que esses marcadores sejam altamente raros, existem opções viáveis, como a utilização de um antígeno que é expresso pela célula cancerígena mas também seja expresso por uma linhagem de células com função dispensável, como é o caso dos linfócitos B. Assim, a terapia CAR-T para os casos de LLA são utilizados antígenos presentes em linfócitos B, como o CD19 que é encontrado na LLA-B. A molécula CAR são receptores membranares híbridos elaborados com sítios responsáveis pelas funções específicas no tratamento, esses sítios são chamados de domínio extracelular, transmembranar e intracelular. A complexidade da estrutura da molécula CAR manipulada vai conferir ao linfócito o sistema de sinalização essencial para a reprogramação do ataque citolítico (Martho, 2017 e Maus, 2014).

O domínio extracelular da molécula CAR pode ser dividido em um domínio de reconhecimento de antígeno, sendo somente um único peptídeo na superfície celular clivado da célula CAR madura. Esse domínio é representado pela cadeia simples de fragmento variável (scFv), que compreende as regiões de cadeia pesada e variável leve constituída por uma imunoglobina específica do antígeno, sendo separada por um ligante flexível e ligada ao domínio transmembranar por um espaçador (*hinge*). Essa dobradiça é responsável pela transmissão de sinais da ligação ao receptor. O

domínio transmembranar é de extrema importância para a estabilidade do receptor e expressão superficial, sendo composta por uma hélice alfa hidrofóbica que se expande na membrana celular até o domínio intracelular, após a sua estimulação, vai se agrupar e sofrer alterações na sua estrutura, possibilitando o recrutamento e a fosforilação de proteínas sinalizadoras (Alnefaie, 2022).

O domínio intracelular classifica os CARs em cinco gerações. A primeira geração apresenta um único domínio de ativação, sendo um domínio citoplasmático principalmente CD3 zeta (CD3 ζ). A segunda geração detêm o CD3 ζ mais um domínio coestimulatório, que foi obtido a partir de moléculas coestimuladoras, como 4-1BB ou CD28, conectadas a um domínio ativador, podendo ser uma cadeia CD3 ζ / γ do receptor Fc para aumentar as competências proliferativas e citotóxicas das células T CAR. Para os CARs de terceira geração foram projetados a partir da segunda geração, sendo melhoradas as funções efetoras e a persistência *in vivo*, além de possuir múltiplos domínios coestimulatórios com CD3 ζ , como 4-1BB e CD28, CD137 e CD134. Os CARs de quarta geração, também chamados de CARs blindados ou de TRUCKs (pelas células T serem redirecionadas por CAR que vão entregar um produto transgênico ao tecido tumoral alvo), apresentam aumento adicional na potência antitumoral, ligantes e atividade de citocinas e enzimas coestimulatórios que podem degradar o tecido extracelular. Por fim, os CARs de quinta geração ainda estão em desenvolvimento mas foram embasados pelos de segunda geração, as diferenças estão que contém um receptor citoplasmático truncado (IL-12) e um domínio de cadeia β (receptor de cadeia de interleucina 2 β intracelular truncado IL-2R β) junto com a ligação do fator de transcrição STAT3/5 (Alnefaie, 2022; Dejenie, 2022 e Styczyński, 2020) (figura 8).

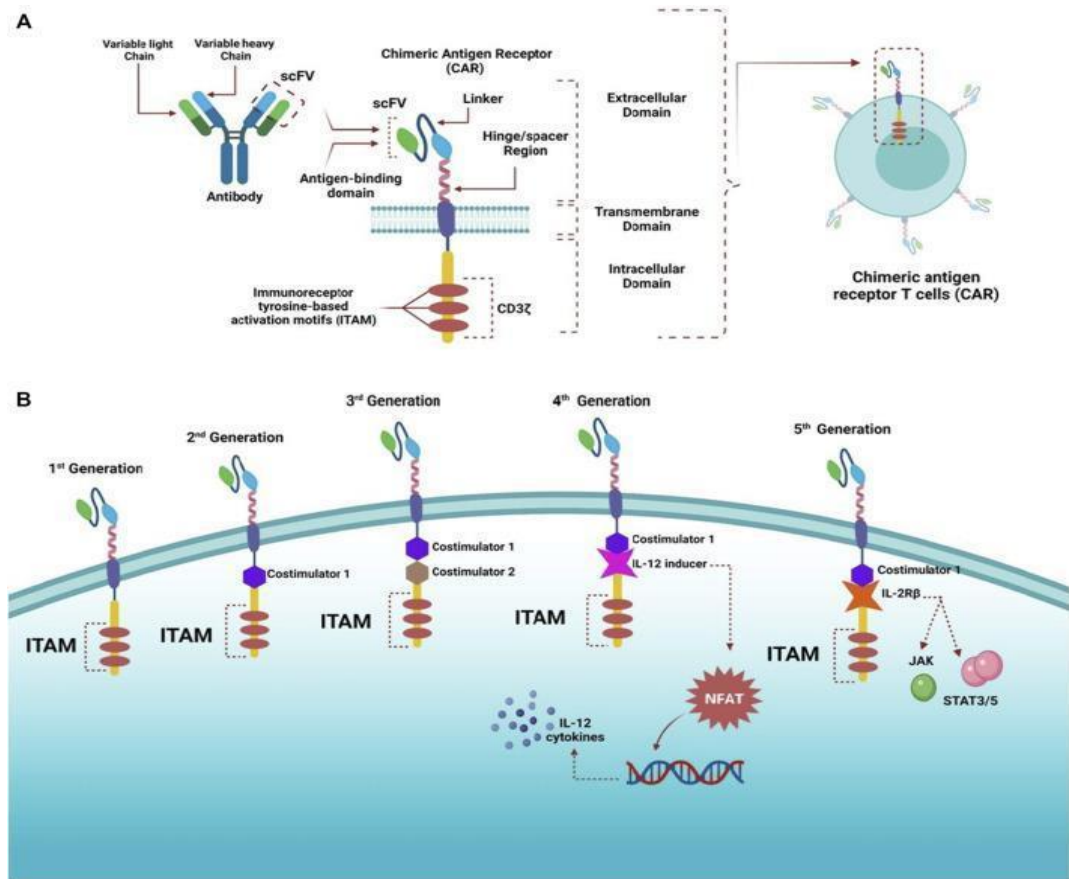


Figura 8. Resumo em forma de figura da estrutura da terapia CAR-T cell. (Fonte: Gene Therapy, disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41434-021-00246-w>).

4.5.3 Tratamentos aprovados

A Novartis desenvolveu a Kymriah® (tisagenlecleucel-T), que é a terapia com células CAR-T para o tratamento de leucemia linfoblástica aguda (LLA). Em 2017 e 2018 houveram, respectivamente, a aprovação pela *Food and Drugs Administration (FDA)* e pela *European Medicines Agency (EMA)*, do medicamento Kymriah® para pacientes pediátricos com recidiva ou LLA refratária (r/r) (Rachana, 2018 e Subklewe, 2021). No Brasil, esta mesma terapia só foi aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2022 (ANVISA, 2022). Este medicamento é produzido a partir do enriquecimento autólogo de células T CD4/8 das células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), posteriormente vão ser transduzidas usando vetor lentiviral. Esse vetor vai codificar um CAR, da segunda geração, que possui scFv, originada do anticorpo monoclonal FMC63 específico para CD19 e o domínio co-estimulador de 4-1BB, em conjunto com o domínio de sinalização CD3zeta (Albinger, 2021). O medicamento tem como alvo as células que expressam CD19, que é uma glicoproteína

transmembrânica encontrada nos linfócitos B, logo é expressa uniformemente nas LLA-B (ANVISA, 2022).

O Kimriah® apresenta algumas indicações de uso, sendo elas:

- a indicação do tisagenlecleucel aprovada pela EMA é para que o medicamento seja utilizado em pacientes pediátricos e jovens adultos com até 25 anos de idade, além de ter LLA-B refratária/recidivada (r/r), sendo após TMO ou na segunda ou mais recidivas (Novartis, 2018). Já a FDA indica que o tratamento seja para pacientes com até 25 anos e ter LLA refratária ou esteja a partir da segunda recidiva (FDA, 2021).

- para a ANVISA, até o momento a terapia é reconhecida como terapia resgate, com isso, é recomendado que a indicação seja para pacientes pediátricos e adultos até 25 anos de idade e serem portadores de doença refratária, podendo ser primária ou após a primeira recidiva ou recidivada após o TMO (Seber, 2021).

A terapia pode ser utilizada em casos de infiltração leucêmica em sistema nervoso central (SNC), já que alguns estudos demonstraram que a segurança é aceitável. No entanto, não aparece nas recomendações do FDA e EMA essa informação e solicita que a infiltração esteja controlada quando for infundido o tratamento, já que apresenta um maior risco de neurotoxicidade (Seber, 2021).

4.6 Comparação entre tratamentos convencionais e a terapia CAR-T cell

A quimioterapia combinada com a radioterapia e o transplante de medula óssea são as primeiras opções para tratamento, apresentando um grande índice de cura nos pacientes. Devido às reações adversas e ao índice de óbitos durante a espera de um doador compatível para o TMO após a recidiva, foi produzida a terapia CAR-T Cell. Essa nova terapia foi criada para ser um tratamento com eficácia maior do que a quimioterapia, porém existem algumas reações adversas associadas a essa nova terapia, como a síndrome de liberação de citocinas, neurotoxicidade, síndrome de neurotoxicidade associada a células efetoras imunes (*ICANS*, do inglês, *Immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome*) e a citotoxicidade (Sternier, 2021). Além de infecções graves a longo prazo, podem ocorrer citopenias, como anemia, trombocitopenia e neutropenia (Cappel, 2023).

Os efeitos colaterais da radioterapia são anorexia, náuseas, diarreia, alopecia

na área irradiada e mielossupressão (Zago, 2013). Já os efeitos colaterais da quimioterapia são mielossupressão, anemia, alopecia, mucosite gastrointestinal, náuseas e vômito, hemorragias ou hematomas, infecções, diarreia ou constipação e infertilidade (Cavalcante, 2017; Wakiuchi, 2019 e Zago, 2013).

As vantagens notáveis da terapia CAR-T *cell* em comparação com os outros tratamentos é a intervenção abrupta e a infusão única de células CAR-T, além da eficácia poder persistir por décadas, já que as células podem sobreviver a longo prazo no paciente, tendo a aptidão constante de encontrar e eliminar as células leucêmicas durante uma possível recidiva. Estudos mostram que mesmo nos pacientes com diversas recidivas após transplantes, a terapia CAR-T *cell* foi bem-sucedida na eliminação da doença. No entanto, a principal desvantagem deste tratamento é o preço, sendo de US\$373.000 (trezentos e setenta e três mil dólares) para a Kymriah (tisagenlecleucel), porém considerando as despesas de internação e dos medicamentos necessários, o custo pode chegar a quase US\$1.500.000 (um milhão e quinhentos mil dólares) por paciente (Mohanty, 2019).

Já para os valores da quimioterapia, radioterapia e transplante de medula óssea, foi feito um estudo em 2021 que demonstrou os valores desses tratamentos. Os custos obtidos para cada tratamento foram: quimioterapia (R\$11.644,00) (onze mil e seiscentos e quarenta e quatro reais); radioterapia (R\$3.159,00) (três mil reais e cento e cinquenta e nove reais) e o transplante de medula óssea (TMO) que apresenta dois valores, sendo de R\$ 54.939,27 (cinquenta e quatro mil e novecentos e trinta e nove reais e vinte e sete centavos) para os doadores aparentados e R\$ 71.602,25 (setenta e um mil e seiscentos e dois reais e vinte e cinco centavos) para os doadores não aparentados, a média do custo ficou em R\$63.270,76 (sessenta e três mil e duzentos e setenta reais e setenta e seis centavos). Já os valores da associação dos tratamentos foram somados, logo a radioterapia com a quimioterapia ficou em R\$14.803,00 (quatorze mil e oitocentos e três reais) e o TMO com a quimioterapia custando por volta de R\$74.934,76 (setenta e quatro mil, novecentos e trinta e quatro reais e setenta e seis centavos) (Cavalcante, 2021).

Quando os pacientes são tratados com quimioterapia, mais de 95% dos casos pediátricos atingem a remissão completa no primeiro tratamento e entre 75% a 85% permanecem livres da doença durante cinco anos após o diagnóstico. Entretanto, 15% a 20% acabam sofrendo recidiva. Quando a criança está com a primeira recidiva

medular muito precoce, a sobrevida global é de 20%. Se for tardia, a sobrevida global varia de 40% a 50% (Ministério da Saúde, 2022).

Para a eficácia do tratamento com células CAR-T, foram obtidos dados de 12 estudos que confirmam as taxas iniciais das taxas de resposta completa (RC) de 62 a 86%, sendo a maioria remissões negativas para a doença residual mínima (DRM). Entretanto, houve uma variação entre os estudos sobre a duração mediana da sobrevida livre de eventos (SLE), já que uma parte dos pacientes receberam transplante de medula óssea durante o tratamento. Dados de longo prazo do estudo inicial de tisagenlecleucel, indicam uma taxa de RC de 69% com a SLE na média de 5,6 meses com a duração do acompanhamento de 13 meses. O estudo ELIANA, indica uma taxa de remissão completa de 82% e a duração média da SLE de 24 meses (Laetsch, 2022). Entretanto, mesmo nos pacientes pediátricos, $\leq 50\%$ manifestaram a SLE de longo prazo. Portanto, casos com LLA-B são mais dispostos a ter RC, por mais que uma proporção menor de pacientes com RC sejam curados sem terapia subsequente (Cappel, 2023).

Os casos pediátricos apresentam remissões de longo prazo após somente o tisagenlecleucel, então não foi feito o transplante de medula óssea consolidado. No estudo ELIANA, 17 dos 79 pacientes foram submetidos a TMO consolidado, sendo 11 pacientes estavam sendo tratados com tisagenlecleucel, e após 18 meses não houve nenhum caso com recidiva (Laetsch, 2022). Outros quatro estudos detalharam que os pacientes alcançaram a RC e não procederam a TMO consolidado, esses estudos mostram uma taxa de recidiva de RC em pacientes que não foram consolidados de 68% a 100%. Em vista disso, uma quantidade maior de pacientes pediátricos podem ter remissão a longo prazo sem a TMO consolidada após o tratamento com tisagenlecleucel (Cappel, 2023).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) pode ser definida como uma proliferação anormal das células linfoides imaturas. Esta leucemia é imunofenotipicamente heterogênea, apresentando expansões clonais de linfoblastos nos diferentes estágios de sua maturação. Os sintomas iniciais da LLA podem ser confundidos com outras doenças frequentes da infância. O diagnóstico parte da identificação dos blastos por análise morfológica através do hemograma e/ou do mielograma, seguido pela imunofenotipagem por citometria de fluxo, e por fim a citogenética.

A quimioterapia combinada com a radioterapia e o transplante de medula óssea são as primeiras opções para tratamento, apresentando um grande índice de cura nos pacientes. Devido às reações adversas e ao índice de óbitos durante a espera de um doador compatível para o TMO após a recidiva, foi produzida a terapia CAR-T *cell*. A partir dos dados coletados, observou-se que a terapia CAR-T *cell* é mais bem-sucedida na eliminação da doença do que a quimioterapia convencional, além de não ser necessário uma combinação entre os tratamentos já existentes. No entanto, o tratamento quimioterápico é mais viável financeiramente, além de ser fornecido pelo SUS, assim sendo mais acessível para a população.

REFERÊNCIAS

ABDUL-HAMID, Gamal. Classification of Acute Leukemia. **IntechOpen**, 2011. 442 p. ISBN ISBN978-953-307-553-2. DOI 10.5772/19848. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/25114>. Acesso em: 3 jul. 2023.

ALAGGIO, Rita *et al.* The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. **Nature**, [s. l.], 22 jun. 2022. DOI <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41375-022-01620-2>. Acesso em: 30 jun. 2023.

ALBINGER, Nawid *et al.* Current status and perspective of CAR-T and CAR-NK cell therapy trials in Germany. **Gene Therapy**, [s. l.], 22 mar. 2021. DOI <https://doi.org/10.1038/s41434-021-00246-w>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41434-021-00246-w>. Acesso em: 8 ago. 2023.

ALMEIDA, Tereza Joelma Barbosa. AVANÇOS E PERSPECTIVAS PARA O DIAGNÓSTICO DA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA. **Candombá – Revista Virtual**, [s. l.], v. 5, ed. 1, p. 40-55, 1 jan. 2009. Disponível em: <http://web.unijorge.edu.br/sites/candomba/pdf/artigos/2009/a7.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2023.

ALNEFAIE, Alaa *et al.* Chimeric Antigen Receptor T-Cells: An Overview of Concepts, Applications, Limitations, and Proposed Solutions. **NIH**, [s. l.], 22 jun. 2022. DOI <https://doi.org/10.3389%2Ffbioe.2022.797440>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9256991/#B315>. Acesso em: 15 ago. 2023.

ANEXO I - Resumo das características do medicamento. **European Medication Administration (EMA)**, [s. l.], 2018. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2018/20180823142108/anx_142108_pt.pdf. Acesso em: 9 ago. 2023.

AZEVEDO, Fernanda Silva. Avaliação epidemiológica das leucemias linfoblásticas em crianças brasileiras e implicação de infecções na sua patogênese. **INCA**, [s. l.], 4

nov. 2009. Disponível em:

[https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Avaliacao_epidemiologica_das_leucemias_linfoblasticas_em_\(1\).pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Avaliacao_epidemiologica_das_leucemias_linfoblasticas_em_(1).pdf). Acesso em: 1 dez. 2022.

AZEVEDO, Maria Regina Andrade de. Hematologia Básica: Fisiopatologia e Diagnóstico Laboratorial. [Rio de Janeiro]: **Thieme Brazil**, 2019. E-book. ISBN 9788554651381. Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788554651381/>. Acesso em: 3 jul. 2023.

BARBOSA, Cássia *et al.* Manifestações músculo-esqueléticas como apresentação inicial das leucemias agudas na infância. **SciELO**, [s. l.], 1 dez. 2002. DOI

<https://doi.org/10.1590/S0021-75572002000600007>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/jped/a/GC8CQxqCXBtJqPwftWmjn8b/#:~:text=Tem%20sido%20muito%20bem%20documentado,com%20m%C3%A9dia%20de%202%20meses.> Acesso em: 3 jul. 2023.

BENE, MC *et al.* Proposals for the immunological classification of acute leukemias.

European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). **NIH**,

[s. l.], 1 out. 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7564526/>. Acesso em: 30 jun. 2023.

BENNET, JM *et al.* Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-

American-British (FAB) co-operative group. **NIH**, [s. l.], 1 ago. 1976. DOI

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1976.tb03563.x>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/188440/>. Acesso em: 30 jun. 2023.

BLINATUMOMABE para leucemia linfoblástica aguda (LLA) B derivada pediátrica em primeira recidiva medular de alto risco. Ministério da Saúde, [s. l.], maio 2022.

Disponível em: <https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/vtfa8>. Acesso em: 18 jul. 2023.

CAI, Changjing *et al.* A comprehensive analysis of the fatal toxic effects associated with CD19 CAR-T cell therapy. **NIH**, [s. l.], p. 18741–18753, 24 jul. 2020. DOI

<https://doi.org/10.18632/faging.104058>. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7585129/#:~:text=Of%20%20Kymriah%2Dassociated%20deaths,1%20from%20infection%20and%20infestation>. Acesso em: 10 jul. 2023.

CHAUFFAILLE, Maria de Lourdes L. F. *et al.* Classificação das Leucemias Agudas. Citologia, Citoquímica, Imunofenotipagem, Citogenética e Genética Molecular. **E-Disciplinas USP**, [s. l.], 1 jan. 2013. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/mod/resource/view.php?id=1268091>. Acesso em: 3 jul. 2023.

CHAUFFAILLE, Maria de Lourdes L. F. Citogenética e biologia molecular em leucemia linfocítica crônica. **SciELO**, [s. l.], 1 dez. 2005. DOI <https://doi.org/10.1590/S1516-84842005000400006> . Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/CZPqjPJ7zFdDKQSPwXy7xK#>. Acesso em: 4 jul. 2023.

CAPPELL, Kathryn M. *et al.* Long-term outcomes following CAR T cell therapy: what we know so far. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [s. l.], 13 abr. 2023. DOI <https://doi.org/10.1038/s41571-023-00754-1>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41571-023-00754-1>. Acesso em: 11 jul. 2023.

CARTA DE APROVAÇÃO DE PRODUTO DE TERAPIA AVANÇADA - Kymriah® (tisagenlecleucel). **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**, [s. l.], 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/terapias-avancadas/cartas-de-aprovacao/carta-de-aprovacao-kymriah.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2023.

CAVALCANTE, Francisca Thaís de Sousa *et al.* Custo-efetividade das abordagens terapêuticas da leucemia linfocítica aguda em pacientes pediátricos. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 14, 6 nov. 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/download/22056/19695/266762>. Acesso em: 14 jul. 2023.

CAVALCANTE, Matheus Santos *et al.* LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA E SEUS PRINCIPAIS CONCEITOS. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio**

Ambiente, [s. l.], 9 jul. 2017. DOI <http://dx.doi.org/10.31072/rcf.v8i2.578>. Disponível em: <https://revista.faema.edu.br/index.php/Revista-FAEMA/article/view/578/464>. Acesso em: 3 out. 2022.

DANTAS, Giselly Karitta Santana *et al.* DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA EM PACIENTES INFANTO-JUVENIS. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 3-18, 30 out. 2015. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5193289.pdf>. Acesso em: 4 jul. 2023.

DIAS, Priscila Pinheiro *et al.* MORTALIDADE INFANTIL POR LEUCEMIA LINFOIDE NAS REGIÕES DO BRASIL. **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde**, [s. l.], 1 jan. 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufrn.br/reb/article/download/9693/7091/27590>. Acesso em: 26 mar. 2023.

DE JESUS, Tiago Diniz *et al.* O impacto das campanhas de conscientização no número de doadores de medula óssea e os efeitos causados pelo covid-19. **Brazilian Journal of Health Review**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 6231-6264, 23 mar. 2021. DOI 10.34119/bjhrv4n2-177. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/26854/21251>. Acesso em: 6 jul. 2023.

DEJENIE, Tadesse Asmamaw. Current updates on generations, approvals, and clinical trials of CAR T-cell therapy. **Taylor & Francis Online**, [s. l.], 12 set. 2022. DOI <https://doi.org/10.1080/21645515.2022.2114254>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21645515.2022.2114254>. Acesso em: 31 ago. 2023.

FADEL, Ana Paula. Investigação Laboratorial de LLA. **Academia de Ciência e Tecnologia**, [s. l.], 1 jan. 2010. Disponível em: https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista_virtual/hematologia/artapfadel.pdf. Acesso em: 3 jul. 2023.

FARIAS, Mariela *et al.* Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. **SciELO**, [s. l.], 3 jul. 2023. DOI <https://doi.org/10.1590/S1676-24442004000200008>.

Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/jbpm/a/hqbmPwpLN5tLzxRX3kdnSpq/?lang=#>. Acesso em: 3 jul. 2023.

GAMBERALE, Romina *et al.* CAR T cells: Fundamentos de esta prometedora terapia imunológica. *Hematología*, [s. l.], v. 18, p. 28-31, out. 2014. Disponível em: <https://www.sah.org.ar/revistasah/numeros/2014/vol18/ex/07-28-31.pdf>. Acesso em: 4 set. 2023.

GOMEZ-MERCADO, Carlos A. *et al.* Incidencia y determinantes demográficos de la leucemia linfocítica aguda en pacientes con cáncer pediátrico, Antioquia. **SciELO**, [s. l.], 1 maio 2020. DOI <https://doi.org/10.22267/rus.202202.182>. Disponível em: <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/usalud/article/view/4396>. Acesso em: 10 ago. 2023.

KERSHAW, Michael H. *et al.* Gene-engineered T cells for cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], 24 jul. 2013. DOI <https://doi.org/10.1038/nrc3565>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrc3565#citeas>. Acesso em: 1 set. 2023.

LAETSCH, Theodore W. *et al.* Three-Year Update of Tisagenlecleucel in Pediatric and Young Adult Patients With Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia in the ELIANA Trial. **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], 18 nov. 2022. DOI 10.1200/JCO.22.00642. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.22.00642>. Acesso em: 10 jul. 2023.

LOGHAVI, Sanam *et al.* B-acute lymphoblastic leukemia/lymphoblastic lymphoma. **American journal of clinical pathology**, v. 144, n. 3, p. 393-410, 2015. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajcp/article/144/3/393/1760791?login=false>. Acesso em: 03 out. 2022.

MATIAS, Nídia Maria Antunes. Leucemia Linfoblástica Aguda: Fisiopatologia, Diagnóstico e Abordagens Terapêuticas. **Universidade de Lisboa**, [s. l.], 1 jan. 2019.

Disponível em: https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/43361/1/MICF_Nidia_Matias.p

df. Acesso em: 11 jul. 2023.

MAUDE, S. L. *et al.* Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. **NIH - National Library of Medicine**, [s. l.], 1 fev. 2018. DOI <https://doi.org/10.1056%2FNEJMoa1709866>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5996391/>. Acesso em: 8 ago. 2023.

MAUS, Marcela V. *et al.* Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. **ASH**, [s. l.], v. 123, ed. 17, p. 2625–2635, 24 abr. 2014. DOI <https://doi.org/10.1182/blood-2013-11-492231>. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/123/17/2625/32519/Antibody-modified-T-cells-CARs-take-the-front-seat>. Acesso em: 1 set. 2023.

MARTHO, Lisandra Juliani *et al.* IMUNOTERAPIA COM CÉLULAS T-CAR: BIOENGENHARIA CONTRA A LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA. **CuidArt Enfermagem**, [s. l.], p. 168-173, jul. 2017. Disponível em: <http://www.webfipa.net/facfipa/ner/sumarios/cuidarte/2017v2/168.pdf>. Acesso em: 4 set. 2023.

MITRA, Aroshi *et al.* From bench to bedside: the history and progress of CAR T cell therapy. **Frontiers**, [s. l.], 15 maio 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2023.1188049/full>. Acesso em: 2 set. 2023.

MOHANTY, Rimjhim *et al.* CAR T cell therapy: A new era for cancer treatment (Review). **Spandidos Publications**, [s. l.], v. 42, n. 6, p. 2183-2195, 24 set. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.2019.7335>. Disponível em: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/or.2019.7335?text=fulltext>. Acesso em: 10 jul. 2023.

PEDROSA, Francisco; LINS, Mecneide. Leucemia linfóide aguda: uma doença curável. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 2, p. 63-68, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbsmi/a/Jp59Gqff3tBPrSHX6tYYD3f/?lang=pt>. Acesso Em: 03 out. 2022.

PORWIT, A *et al.* Acute lymphoblastic leukemia/lymphoma and mixed phenotype

acute leukemias. **Elsevier**, [s. l.], 1 jan. 2011. DOI 10.1016/B978-0-7020-3147-2.00019-5. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=0Kaa7xbFC1gC&oi=fnd&pg=PA289&dq=Acute+lymphoblastic+leukemia/+lymphoma+and+mixed+phenotype+acute+leukemias&ots=ofjIWuh1a0&sig=lvJAYysTNAc6YITmfUapEjzfZ-g#v=onepage&q=Acute%20lymphoblastic%20leukemia%2F%20lymphoma%20and%20mixed%20phenotype%20acute%20leukemias&f=false>. Acesso em: 30 jun. 2023.

PUCKETT, Yana; CHAN, Onyee. Acute lymphocytic leukemia. In: StatPearls [Internet]. **StatPearls Publishing**, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459149/>?. Acesso em: 05 out. 2022.

RAMOS, Rodrigo Nalio *et al.* Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular Consensus on genetically modified cells. VII. Present and future of technologies for production of CAR cell therapies. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, [s. l.], 16 nov. 2021. DOI <https://doi.org/10.1016%2Fj.htct.2021.09.007>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8606694/>. Acesso em: 15 ago. 2023.

RODRIGUES, Adriana *et al.* Hematologia básica. 2. Porto Alegre SAGAH 2019. recurso online ISBN 9788595029491. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788595027688/pages/recent>. Acesso em: 05 out. 2022.

SANCHEZ, Laís de Holanda Bezerra. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS LEUCEMIAS AGUDAS. **Academia de Ciência e Tecnologia**, [s. l.], 1 jan. 2020. Disponível em: https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/serie_branca/leucemias_linfomas_mieloma/leucemias/79.pdf. Acesso em: 4 jul. 2023.

SEBER, Adriana *et al.* Consenso da Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular sobre Células Geneticamente Modificadas. II: Terapia com células CAR-T para pacientes portadores de leucemia linfoblástica aguda

CD19+. **ABHH - Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular**, [s. l.], 1 jan. 2021. Disponível em: <https://abhh.org.br/wp-content/uploads/2021/08/II.-Terapia-com-celulas-T-CAR-para-pacientes-adultos-e-criancas-portadores-de-leucemia-linfoide-aguda-CD19-1.pdf>. Acesso em: 9 ago. 2023.

SILVA, Fernanda Azevedo. Avaliação epidemiológica das leucemias linfoblásticas em crianças brasileiras e implicação de infecções na sua patogênese. **BVS - Ministério da Saúde**, [s. l.], 1 jan. 2009. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/bvsmms/resource/pt/biblio-934230>. Acesso em: 20 fev. 2023.

SILVA, Franciane Figueiredo da *et al.* Sobrevida das leucemias linfoides agudas em crianças no Município de São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.org/article/csp/2020.v36n3/e00008019>. Acesso em: 07 out. 2022.

SILVEIRA, Neiva Albertina *et al.* A IMUNOFENOTIPAGEM NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS LEUCEMIAS AGUDAS: UMA REVISÃO. **Editora da Universidade Estadual de Maringá**, [s. l.], v. 12, ed. 1, 19 nov. 2012. Disponível em: <https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ArqMudi/article/view/19208>. Acesso em: 4 jul. 2023.

SOUZA, Karolayne Silva *et al.* Imunoterapia dirigida com células T-CAR para tratamento de leucemia linfóide aguda. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 9, n. 11, 2 dez. 2020. DOI <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10372>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/download/10372/9285/142349>. Acesso em: 11 jul. 2023.

STERNER, Robert C. *et al.* CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. **Blood Cancer Journal**, [s. l.], 6 abr. 2021. DOI <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00459-7>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41408-021-00459-7#Sec18>. Acesso em: 11 jul.

2023.

SUBKLEWE, Marion. BiTEs better than CAR T cells. **Blood advances**, [s. l.], 26 jan. 2021. DOI <https://doi.org/10.1182%2Fbloodadvances.2020001792>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7839370/>. Acesso em: 8 ago. 2023.

TERWILLIGER, T. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. **Blood Cancer Journal**, [s. l.], 30 jun. 2017. DOI <https://doi.org/10.1038/bcj.2017.53>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/bcj201753>. Acesso em: 8 dez. 2022.

THAKU , Shruti; Rachana. CAR-T cell Therapy: Past Successes and Future Challenges. **Cancer Therapy & Oncology International Journal**, [s. l.], 1 abr. 2018. DOI 10.19080/CTOIJ.2018.10.555783. Disponível em: <https://ideas.repec.org/a/adp/jctoij/v10y2018i2p23-25.html>. Acesso em: 9 ago. 2023.

WAKIUCHI, J. *et al.* A QUIMIOTERAPIA SOB A ÓTICA DA PESSOA COM CÂNCER: UMA ANÁLISE ESTRUTURAL. **Textocontexto - enfermagem**, Florianópolis, v. 28, p 1-13, 2019. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-07072019000100329&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 11 dez. 2022.

ZAGO, M.A; FALCÃO RP; PASQUINI R; Tratado de Hematologia. São Paulo: **Ateneu**, p. 305-307, 2013.

ZANICHELLI, Maria Aparecida *et al.* Consenso da Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular sobre Células Geneticamente Modificadas. II: Terapia com células CAR-T para pacientes portadores de leucemia linfoblástica aguda CD19+. **CONSENSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA, HEMOTERAPIA E TERAPIA CELULAR SOBRE CÉLULAS GENETICAMENTE MODIFICADAS - ABHH**, [s. l.], 1 ago. 2021. Disponível em: <https://abhh.org.br/wp-content/uploads/2021/08/II.-Terapia-com-celulas-T-CAR-para-pacientes-adultos-e-criancas-portadores-de-leucemia-linfoide-aguda-CD19-1.pdf>. Acesso em: 5 out. 2022.

ZHANG, Dongdong *et al.* Leukapheresis and Hyperleukocytosis, Past and Future. **International Journal of General Medicine**, [s. l.], 14 jul. 2021. DOI <https://doi.org/10.2147%2FIJGM.S321787>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8286901/>. Acesso em: 30 out. 2023.