

**Universidade de Lisboa  
Faculdade de Farmácia**



**Leucemia Linfocítica Crónica:  
fisiopatologia, diagnóstico e terapêutica**

**Inês Marques de Oliveira**

Monografia orientada pela Professora Doutora Isabel Bettencourt Moreira da Silva,  
Professora Auxiliar da Faculdade de Farmácia

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**2021**



**Universidade de Lisboa  
Faculdade de Farmácia**



# **Leucemia Linfocítica Crónica: fisiopatologia, diagnóstico e terapêutica**

**Inês Marques de Oliveira**

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentado  
à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Isabel Bettencourt Moreira da Silva,  
Professora Auxiliar da Faculdade de Farmácia

**2021**



# Resumo

A leucemia linfocítica crónica (LLC) é a leucemia mais comum nos países ocidentais e ocorre tipicamente em doentes idosos. Esta doença linfoproliferativa é caracterizada pela proliferação e acumulação na medula óssea, sangue periférico e tecidos linfoides de linfócitos B CD5+ monoclonais e maduros, com um imunofenótipo distinto. A LLC é uma doença incurável com um curso clínico heterogéneo, variando de uma doença assintomática, indolente até uma doença de rápida progressão ou ativa. Esta variabilidade deve-se a fatores intrínsecos (alterações genéticas e epigenéticas) e extrínsecos (microambiente tumoral e desregulação de várias vias de sinalização) às células leucémicas, que conduzem ao comprometimento da apoptose e à sobrevivência e proliferação celulares.

Na presença de linfocitose (pelo menos 5.000 linfócitos B monoclonais/ $\mu$ L no sangue periférico), o diagnóstico da LLC é estabelecido por imunofenotipagem. Os avanços na compreensão da patogénese da LLC levaram ao desenvolvimento de novas ferramentas de prognóstico, complementares aos sistemas de estadiamento de Rai e Binet, e de novas terapêuticas dirigidas que melhoraram o *outcome* clínico. Apenas os doentes com um estadio de Binet ou Rai avançado e os doentes com doença ativa ou sintomática beneficiam do início do tratamento, os restantes devem ser monitorizados, sem tratamento, até progressão da doença ou desenvolvimento de sintomas.

Muitos doentes ainda beneficiam do uso de quimioterapia e anticorpos monoclonais anti-CD20. Contudo, a descoberta da importância do recetor dos linfócitos B e das proteínas anti-apoptóticas na biologia da LLC, permitiu o aparecimento de novos agentes que têm estas vias chave da doença como alvo. Os agentes com ação dirigida são muito eficazes, bem tolerados e têm melhorado o *outcome* dos doentes de alto risco. Consequentemente, estes agentes revolucionaram o tratamento da LLC e conduziram a um declínio do uso da quimioimunoterapia na maioria dos doentes. A investigação de novas terapêuticas, incluindo inibidores das cinases de segunda e terceira geração, novas combinações de fármacos, agentes imunomoduladores e imunoterapia celular, promete melhorar ainda mais o tratamento da LLC.

**Palavras-chave:** leucemia linfocítica crónica; patogénese; diagnóstico; tratamento; epidemiologia.



# Abstract

Chronic lymphocytic leukaemia (CLL) is the commonest leukemia in western countries and typically occurs in elderly patients. This lymphoproliferative disorder is characterized by the proliferation and accumulation in bone marrow, peripheral blood, and lymphoid tissues of mature monoclonal CD5+ B lymphocytes with a distinct immunophenotype. CLL is an incurable disease with a heterogeneous clinical behavior, ranging from asymptomatic, indolent disease to rapidly progressive or active disease. This variability is due to factors intrinsic (genetic and epigenetic alterations) and extrinsic (tumor microenvironment and desregulation of various signaling pathways) to the leukemic cell, which leads to impaired apoptosis and cell survival and proliferation.

In the presence of lymphocytosis (at least 5000 monoclonal B lymphocytes/ $\mu$ L in the peripheral blood), the diagnosis of CLL is established by immunophenotyping. Advances in understanding the pathogenesis of CLL led to the development of new prognostic tools, that are complementary to the Rai and Binet staging systems, and novel targeted therapies that have improved clinical outcome. Only patients with advanced Binet or Rai stages and patients with active or symptomatic disease benefit from the initiation of treatment, the others should be monitored without therapy until disease progression or development of symptoms.

Many patients still benefit from the use of chemotherapy and anti-CD20 monoclonal antibodies. However, the discovery of the importance of the B-cell receptor and antiapoptotic proteins in the biology of CLL, led to the emergence of new agents that target these key disease pathways. Targeted agents are very effective, well tolerated and have improved the outcome of patients with high-risk disease. Consequently, these agents revolutionized CLL treatment and have led to a decline in the use of chemoimmunotherapy in most patients. Investigation of new therapies, including second and third generation kinase inhibitors, new combination schemes, immunomodulatory drugs and cellular immunotherapy, promises to further improve CLL treatment.

**Keywords:** chronic lymphocytic leukemia; pathogenesis; diagnosis; treatment; epidemiology

# Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Professora Doutora Isabel Bettencourt Moreira da Silva, pela simpatia, palavras de incentivo, disponibilidade e orientação exemplar acompanhada de um elevado rigor científico, a qual acrescentou valor à presente monografia.

Dirijo um agradecimento especial aos meus pais e família, pela sua ajuda na superação dos obstáculos que surgiram ao longo destes anos, pela paciência e amor incondicional.

Por último, agradeço aos meus amigos pelo apoio, motivação transmitida e presença nos momentos importantes. Estou grata pela vossa amizade.

# Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

**ADCC** – Citotoxicidade celular dependente de anticorpos

**ATM** – Gene telangiectasia atáxia

**BCR** – Recetor dos linfócitos B

**BiTE** – *Bispecific T-cell engagers*

**BR** – Bendamustina e rituximab

**BTK** – Bruton's tirosina cinase

**CAR** – Recetor antigénico quimérico

**CDC** – Citotoxicidade dependente do complemento

**CEH** – Células estaminais hematopoiéticas

**CG** – Centros germinativos

**CIRS** – *Cumulative Illness Rating Scale*

**CLBO** – Obinutuzumab e clorambucilo

**CICr** – *Clearence* de creatinina

**CLL-IPI** – Índice Prognóstico Internacional da LLC

**DAT** – Teste da antiglobulina direto

**DE** – Doença estável

**Del(11q)** – Deleção no braço longo do cromossoma 11

**Del(13q14)** – Deleção na banda 13q14 do braço longo do cromossoma 13

**Del(17p)** – Deleção no braço curto do cromossoma 17

**DR** – Doença refratária

**DRM** – Doença residual mínima

**EGFR** – Recetor do fator de crescimento epitelial

**EMA** – Agência Europeia do Medicamento

**ERK 1/2** – Cinases reguladas por sinais extracelulares

**FA** – Fludarabina e alemtuzumab

**FCR** – Fludarabina, ciclofosfamida e rituximab

**FDA** – *Food and Drug Administration*

**FISH** – *Interphase fluorescence in situ hybridization*

**GWAS** – *Genome-Wide Association Studies*

**Ig** – Imunoglobulina

**IGHV** – Genes da região variável da cadeia pesada da imunoglobulina

**IWCLL** – *International Workshop on CLL*

**LDGCB** – Linfoma difuso de grandes células B

**LDH** – Lactato desidrogenase sérica

**LMB** – Linfocitose monoclonal de células B

**LLC** – Leucemia linfocítica crônica

**NF-κB** – Fator nuclear κB

**NK** – *Natural killer*

**NLC** – *Nurse-like cells*

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**PD** – Progressão da doença

**PET** – Tomografia por Emissão de Positrões

**PI3K** – Fosfatidilinositol 3-cinase

**PLCy2** – Fosfolipase Cy2

**PPJ** – *Pneumocystis jirovecii*

**RC** – Remissão completa

**RM** – Ressonância magnética

**RP** – Remissão parcial

**SG** – Sobrevivência global

**SIOG** – *International Society of Geriatric Oncology*

**SNPs** – Polimorfismos nucleotídicos simples

**SLL** – Linfoma difuso de pequenos linfócitos (*small lymphocytic lymphoma*)

**SLP** – Sobrevivência livre de progressão

**SLT** – Síndrome de lise tumoral

**SR** – Síndrome de Richter

**SYK** – Tirosina cinase do baço

**TC** – Tomografia computadorizada

**TCHEH** – Transplante de células estaminais hematopoiéticas

**TDL** – Tempo de duplicação linfocitária

**TH** – Linfócitos T helper

**TLR** – *Toll-like receptors*

**T-regs** – Linfócitos T reguladores

**VEGF** – Fator de crescimento endotelial vascular

# Índice Geral:

1	Introdução .....	15
2	Objetivos .....	17
3	Neoplasias Hematológicas .....	18
4	Leucemia Linfocítica Crônica.....	20
4.1	Definição.....	20
4.2	Epidemiologia .....	20
4.3	Etiologia e Fatores de Risco .....	22
4.3.1	Fatores Hereditários.....	22
4.3.2	Fatores Ambientais .....	23
5	Fisiopatologia .....	24
5.1	Origem Celular da LLC .....	24
5.2	Recetor dos Linfócitos B e Via de Sinalização .....	26
5.3	Alterações Genéticas.....	28
5.3.1	Alterações Citogenéticas.....	29
5.3.1.1	Deleção (17p).....	29
5.3.1.2	Deleção (11q).....	29
5.3.1.3	Deleção (13q).....	30
5.3.1.4	Trissomia 12.....	30
5.3.2	Mutações Somáticas.....	30
5.3.3	Modificações Epigenéticas.....	33
5.4	Microambiente Tumoral .....	33
5.5	Resistência à apoptose.....	35
6	Apresentação Clínica .....	36
6.1	Sintomas.....	36
6.2	Sinais.....	36
6.3	Complicações da LLC.....	37
6.3.1	Infeções .....	37
6.3.2	Citopenias Autoimunes .....	38
6.3.2.1	Anemia Hemolítica Autoimune .....	39
6.3.2.2	Trombocitopenia Imune.....	39
6.3.2.3	Aplasia Pura das Células Vermelhas.....	39
6.3.2.4	Granulocitopenia Autoimune .....	39
6.3.3	Neoplasias Secundárias.....	40
6.3.4	Síndrome de Richter .....	40
6.4	Regressão Espontânea .....	41

7	Diagnóstico.....	42
7.1	Critérios de Diagnóstico.....	42
7.2	Hemograma e Contagem Diferencial de Leucócitos .....	42
7.3	Exame Morfológico .....	43
7.4	Imunofenotipagem do Sangue Periférico .....	44
7.5	Avaliação Complementar .....	45
7.5.1	Aspiração e Biópsia da Medula Óssea.....	45
7.5.2	Biópsia de Gânglios Linfáticos .....	46
7.5.3	Outros Testes .....	47
7.6	Diagnóstico Diferencial .....	50
8	Estadiamento Clínico.....	52
8.1	Sistema de Rai .....	52
8.2	Sistema de Binet.....	53
9	Prognóstico .....	54
10	Terapêutica.....	57
10.1	Controlo da Doença Assintomática .....	57
10.2	Critérios para Iniciar a Terapêutica .....	57
10.3	Critérios de Resposta à Terapêutica.....	58
10.4	Opções Terapêuticas Atuais .....	60
10.4.1	Quimioterapia Convencional .....	61
10.4.1.1	Agentes Alquilantes.....	61
10.4.1.2	Análogos das Purinas.....	61
10.4.2	Imunoterapia .....	62
10.4.2.1	Anticorpos Monoclonais Anti-CD20 .....	62
10.4.2.2	Outros Anticorpos Monoclonais .....	63
10.4.3	Quimioimunoterapia .....	64
10.4.3.1	Quimioimunoterapia usando Rituximab .....	64
10.4.3.2	Quimioimunoterapia usando Obinutuzumab.....	65
10.4.3.3	Quimioimunoterapia usando Ofatumumab .....	65
10.4.3.4	Quimioimunoterapia usando Alemtuzumab .....	65
10.4.4	Terapêutica Dirigida a Alvos Moleculares.....	66
10.4.4.1	Inibidores das Cinases .....	66
10.4.4.2	Inibidor da Proteína Anti-Apoptótica BCL-2 .....	70
10.5	Fatores que Condicionam a Seleção da Terapêutica.....	71
10.6	Terapêutica de Primeira Linha .....	73
10.6.1	Doentes <i>Fit</i> .....	73
10.6.2	Doentes <i>Unfit</i> .....	73

10.6.3	Doença de Alto Risco.....	74
10.7	Terapêutica de Segunda Linha .....	75
10.8	Transplante de Células Estaminais Hematopoiéticas.....	76
10.9	Tratamento das Complicações .....	78
10.10	Terapêuticas Emergentes .....	78
10.10.1	Inibidores das Cinases de Nova Geração .....	78
10.10.2	Novos Anticorpos .....	79
10.10.3	Imunoterapia Celular .....	79
10.10.4	Agentes Imunomoduladores.....	79
11	Conclusões.....	81
	Referências Bibliográficas .....	83

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> – Diferenciação das células estaminais hematopoiéticas em células sanguíneas de uma linhagem específica.....	17
<b>Figura 2</b> – Taxa de incidência específica por grupo etário e por tipo de população/etnia da LLC nos Estados Unidos, 2011-2015.....	20
<b>Figura 3</b> – Mecanismos de Suscetibilidade Genética.....	22
<b>Figura 4</b> – Patogênese da LLC.....	23
<b>Figura 5</b> – A origem celular da LLC.....	25
<b>Figura 6</b> – Via de sinalização do BCR.....	26
<b>Figura 7</b> – Célula da LLC com genes <i>IGVH</i> não mutados vs. Célula da LLC com genes <i>IGVH</i> não mutados.....	27
<b>Figura 8</b> – Genes significativamente mutados e vias de sinalização envolvidas na patogênese da LLC.....	30
<b>Figura 9</b> – O microambiente da LLC.....	34
<b>Figura 10</b> – Linfadenopatia bilateral cervical em doente com LLC.....	35
<b>Figura 11</b> – Esfregaço de sangue de doente com LLC.....	42
<b>Figura 12</b> – Morfologia do sangue periférico de doentes com LLC.....	43
<b>Figura 13</b> – Análise imunofenotípica da LLC por citometria de fluxo.....	44
<b>Figura 14</b> – Biópsias de medula óssea de doentes com LLC.....	45
<b>Figura 15</b> – Biópsias de gânglios linfáticos de doentes com LLC.....	46
<b>Figura 16</b> – Análise FISH.....	47
<b>Figura 17</b> – Áreas linfoides do sistema de Binet.....	52
<b>Figura 18</b> – Representação esquemática de uma célula da LLC com classificação dos fármacos (aprovados e experimentais) e respectivos alvos terapêuticos.....	59
<b>Figura 19</b> – Mecanismo de ação dos anticorpos anti-CD20.....	62
<b>Figura 20</b> – Resposta característica dos doentes com LLC ao tratamento com os inibidores das cinases.....	66
<b>Figura 21</b> – Determinação dos objetivos do tratamento da LLC.....	71
<b>Figura 22</b> – Terapêutica de primeira linha da LLC.....	74

<b>Figura 23</b> – Terapêutica de segunda linha da LLC.....	75
<b>Figura 24</b> – Algoritmo de decisão para a LLC de elevado risco.....	76

## **Índice de Tabelas**

<b>Tabela 1</b> – Avaliação inicial de doentes com LLC.....	48
<b>Tabela 2</b> – Diagnóstico diferencial da LLC.....	49
<b>Tabela 3</b> – Sistema de classificação de Rai modificada.....	51
<b>Tabela 4</b> – Sistema de classificação de Binet.....	52
<b>Tabela 5</b> – Os 4 subgrupos do CLL-IPI.....	55
<b>Tabela 6</b> – Critérios de resposta após o tratamento de doentes com LLC.....	58
<b>Tabela 7</b> – Fatores de condicionam a seleção da terapêutica da LLC.....	70

# 1 Introdução

A leucemia linfocítica crónica (LLC) é uma doença linfoproliferativa caracterizada pela expansão monoclonal de linfócitos B malignos maduros CD5+, funcionalmente incompetentes, no sangue periférico, medula óssea, gânglios linfáticos e baço (1,8,20). A LLC pode ser subdividida em dois subgrupos: os doentes que não apresentam mutações nos genes *IGHV*, com doença mais agressiva, e os doentes que os apresentam mutados (80). Esta patologia é o tipo de leucemia mais prevalente no adulto em países ocidentais e é predominantemente identificada no idoso (3,4).

Mutações somáticas recorrentemente observadas na LLC ocorrem em genes envolvidos nos danos do DNA, processamento do mRNA, modificação da cromatina, sinalização das células B e vias inflamatórias (24). A ativação do recetor dos linfócitos B por autoantígenos pode originar a sua sinalização constitutiva, aumentando a sobrevivência e proliferação celular, ou a anergia das células tumorais. Estas, por sua vez, infiltram-se nos gânglios linfáticos, onde formam centros de proliferação, contactando com células do estroma, *nurse-like cells* e células T, das quais dependem para sobreviver (7,80).

A LLC é uma doença heterogénea (10). A maioria dos doentes são assintomáticos, com doença indolente, sem necessidade de tratamento durante anos. Outros apresentam doença ativa, que pode desencadear sintomas relacionados com a doença (fadiga, perda de peso, suores noturnos, febre), infeções recorrentes ou complicações autoimunes, tendo de ser iniciado tratamento (8,11,37).

O diagnóstico inicial requer a presença de linfocitose ( $\geq 5.000$  linfócitos B/ $\mu\text{L}$  no sangue periférico, persistentes durante pelo menos 3 meses), um imunofenótipo característico, detetado por citometria de fluxo, e demonstração da monoclonalidade (2,37,57). Embora não seja necessário para o diagnóstico, poderá ser realizada uma biópsia da medula óssea ou dos gânglios linfáticos (80).

Após o diagnóstico, é feito o estadiamento dos doentes através do sistema de Rai ou de Binet, úteis para a decisão de início de terapêutica (80). Anomalias genéticas e cromossómicas da LLC, como a mutação *TP53* e a deleção 17p, apresentam valor prognóstico, sendo úteis para a seleção da terapêutica, bem como o estado mutacional dos genes *IGHV* e as comorbilidades do doente (7,8,21).

Quando os doentes apresentam doença em progressão ou sintomática/ativa, o tratamento deve ser iniciado (7). As opções terapêuticas da LLC incluem quimioterapia, quimioimunoterapia e agentes com ação dirigida às vias de sinalização

envolvidas no crescimento e sobrevivência das células tumorais, tais como os inibidores das cinases ou os inibidores da proteína anti-apoptótica BCL-2 (11,80). A única terapêutica potencialmente curativa é o transplante alogênico de células estaminais, limitado a uma pequena fração de doentes jovens (9). Vários tratamentos encontram-se sob investigação clínica, incluindo agentes dirigidos à sobrevivência celular, terapia com células T e inibidores dos *checkpoints* imunitários (80).

## **2 Objetivos**

A presente monografia tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica da literatura existente relativamente à leucemia linfocítica crónica, com enfoque nos mecanismos fisiopatológicos, meios de diagnóstico, abordagens farmacológicas existentes atualmente, mas também nas opções terapêuticas experimentais. Assim, é pretendida a exposição dos desafios atuais da doença, mas também das perspetivas futuras.

### 3 Neoplasias Hematológicas

As neoplasias hematológicas são doenças clonais que têm origem numa única célula da medula óssea ou tecido linfoide periférico, que sofreu alterações genéticas (13).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) introduziu, em 2001, a classificação dos tumores hematopoiéticos e do tecido linfoide, tendo sido posteriormente atualizada em 2008 e, pela última vez, em 2016. Atualmente, é amplamente utilizada e aceite, refletindo um consenso entre hematopatologistas, geneticistas e clínicos (14,15,19). As neoplasias são estratificadas em função da linhagem envolvida (mieloide, linfoide, histocítica/dendrítica) (Figura 1), sendo feita a distinção entre as neoplasias de células precursoras e as neoplasias constituídas por células funcionalmente maduras. Adicionalmente, esta classificação baseia-se em características morfológicas, imunofenotípicas, genéticas e clínicas para a definição de diagnósticos distintos (16).

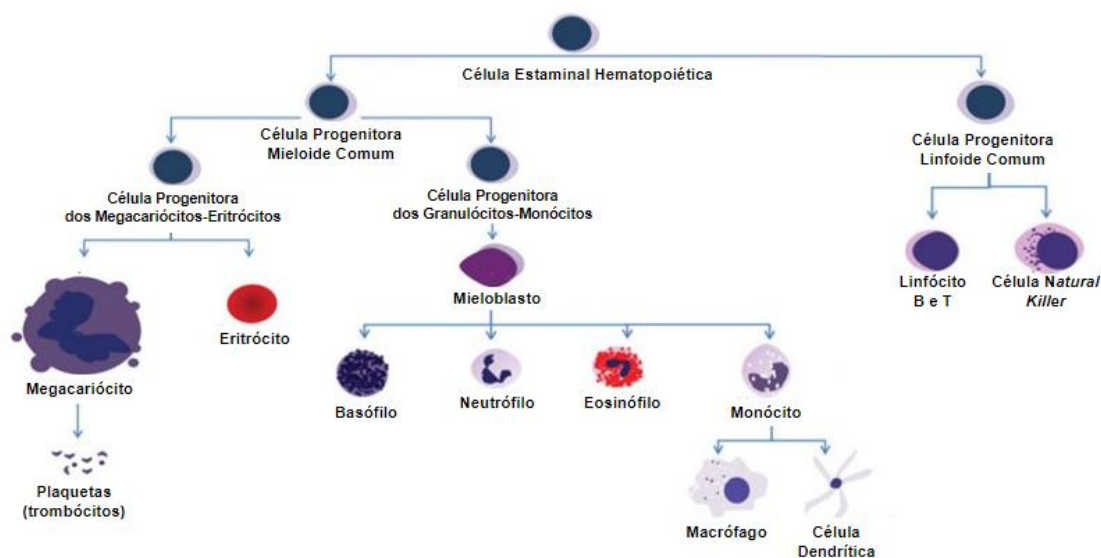


Figura 1 - Diferenciação das células estaminais hematopoiéticas em células sanguíneas de uma linhagem específica. Adaptado de (17)

As leucemias são um grupo de doenças hematológicas caracterizadas pela proliferação, desenvolvimento disfuncional e conseqüente acumulação de leucócitos malignos na medula óssea e sangue periférico. Podem ser classificadas como agudas ou crônicas, de acordo com o grau de diferenciação celular, e como mieloides ou linfocíticas, de acordo com o tipo predominante de célula envolvida (18,13).

As leucemias agudas caracterizam-se por células anormais imaturas, que se desenvolvem rapidamente e abandonam a medula óssea como células disfuncionais denominadas de "blastos". As leucemias crônicas desenvolvem-se lentamente e são compostas principalmente por células malignas maduras e não funcionais. Deste modo, os quatro principais subtipos de leucemia são (18):

- Leucemia linfocítica aguda
- Leucemia mieloide aguda
- Leucemia linfocítica crônica
- Leucemia mieloide crônica

O sistema de classificação da OMS considera a Leucemia Linfocítica Crônica e a sua variante predominantemente nodal, o linfoma difuso de pequenos linfócitos (SLL), como uma neoplasia linfoide das células B maduras (2).

## 4 Leucemia Linfocítica Crónica

### 4.1 Definição

A leucemia linfocítica crónica (LLC) é uma doença linfoproliferativa crónica caracterizada pela acumulação progressiva de linfócitos B monoclonais, funcionalmente incompetentes, na medula óssea, sangue periférico e órgãos linfoides secundários (gânglios linfáticos e baço). Na LLC, os linfócitos B apresentam um imunofenótipo distinto que se caracteriza pela expressão de marcadores dos linfócitos B (CD19 e CD20), juntamente com CD5 e CD23, que normalmente não são expressos nos linfócitos B normais (8,10,20). Em contrapartida, os níveis de CD20 e imunoglobulinas de superfície são tipicamente baixos em comparação com os encontrados em linfócitos B normais. As cadeias leves das imunoglobulinas, são exclusivamente *kappa* ou *lambda*, ou nenhuma das duas (21).

De acordo com a classificação da OMS, a LLC e o SLL (um linfoma não Hodgkin indolente) são considerados a mesma neoplasia das células B maduras, partilhando a mesma morfologia tecidual e características fenotípicas. No entanto, apresentam manifestações diferentes: a LLC manifesta-se principalmente no sangue, enquanto que no SLL o envolvimento é principalmente nodal, não apresentando uma fase leucémica (com menos de 5.000 linfócitos B monoclonais/ $\mu$ L no sangue periférico). Em muitos casos, o SLL evolui para LLC. (8,10,20,22).

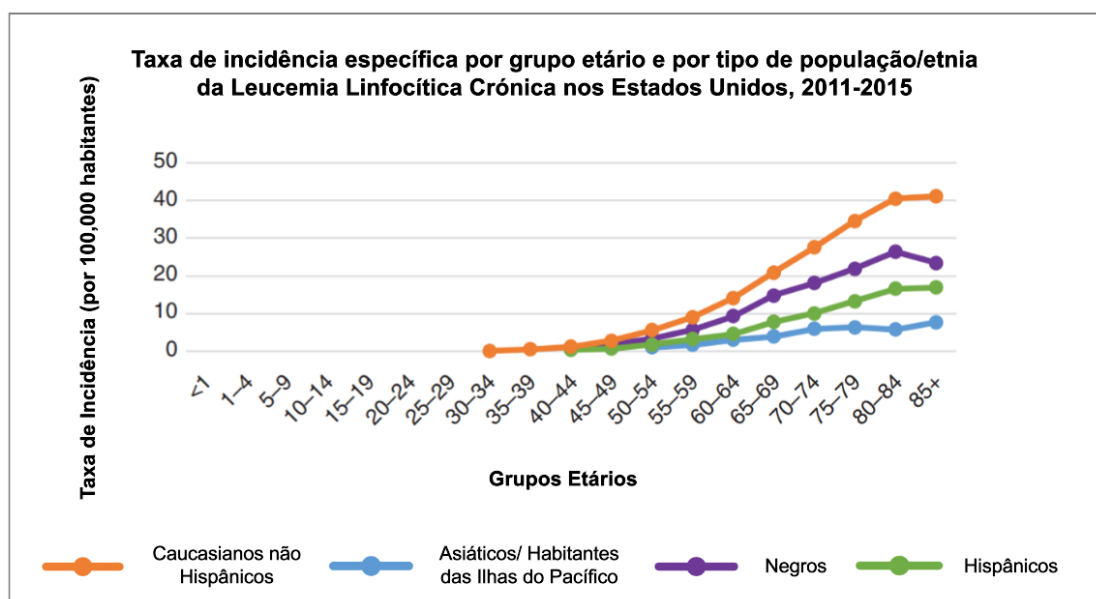
### 4.2 Epidemiologia

A LLC representa a leucemia mais comum no mundo ocidental, com uma taxa de incidência de 4,2 novos casos por 100.000 habitantes por ano (21), sendo responsável por 25-30% de todas as leucemias nos Estados Unidos. Em todo o mundo, surgem aproximadamente 191.000 novos casos e 61.000 mortes por ano atribuídos à LLC (23).

O risco de desenvolver LLC é cerca de duas vezes superior para os homens do que para as mulheres e aumenta com a idade (24). A partir dos 80 anos, a incidência aumenta para mais de 30 novos casos por 100.000 habitantes por ano. A idade média ao diagnóstico é 72 anos e apenas 10% dos doentes têm menos de 55 anos (21).

A LLC apresenta diversidade geográfica e racial. A nível mundial, a incidência é mais alta em países de elevado Índice de Desenvolvimento Humano,

nomeadamente, Canadá e França, sendo mais baixa em países asiáticos (Japão, Malásia e Filipinas). Nos Estados Unidos, a incidência varia amplamente de acordo com o tipo de população. Observam-se taxas de incidência mais elevadas em caucasianos e negros, sendo marcadamente mais baixas entre asiáticos/habitantes das ilhas do Pacífico e nativos norte-americanos/nativos do Alasca (Figura 2), sugerindo que fatores genéticos desempenham um papel nesta disparidade racial (25,26).



**Figura 2 - Taxa de incidência específica por grupo etário e por tipo de população/etnia da LLC nos Estados Unidos, 2011-2015.** Adaptado de (25)

Verificam-se disparidades populacionais e etárias na LLC. A população caucasiana apresenta uma taxa de incidência superior para todos os grupos etários, sendo que a incidência aumenta acentuadamente com a idade (25).

Em Portugal, os dados epidemiológicos da LLC são escassos. No entanto, os resultados preliminares de um estudo clínico-epidemiológico de base populacional, sugerem que a epidemiologia dos doentes com LLC da região sul de Portugal, diagnosticados em 2013/2014, é semelhante à de outros países ocidentais. A idade mediana ao diagnóstico foi de 71 anos, com predominância do sexo masculino (1,4:1). A taxa de incidência bruta foi estimada em 5,1 casos/100.000 habitantes, observando-se uma taxa de incidência de 5,95 (homens) e 4,45 (mulheres) por cada 100.000 habitantes (27,28).

À medida que a esperança média de vida e a utilização de testes sanguíneos aumentam, a prevalência da LLC e a proporção de doentes assintomáticos diagnosticados continuará a aumentar, enquanto que a idade média no momento do diagnóstico diminuirá (26).

### **4.3 Etiologia e Fatores de Risco**

A etiologia exata da LLC permanece desconhecida. Os fatores genéticos, em oposição aos fatores ambientais, são a causa mais provável (6).

#### **4.3.1 Fatores Hereditários**

A história familiar de neoplasias hematológicas é o fator de risco mais forte e consistente para a LLC (25), verificando-se uma suscetibilidade genética, com um risco 6-9 vezes superior para familiares de doentes com LLC (21). A LLC familiar é definida como um caso de LLC com pelo menos um parente consanguíneo com LLC (5), ocorrendo numa idade mais jovem do que a LLC não familiar, sem predominância masculina e com um curso mais indolente (29).

Estudos GWAS (*Genome-Wide Association Studies*) identificaram polimorfismos nucleotídicos simples (SNPs) em loci associados à LLC familiar, o que demonstra que uma variação genética comum contribui para o risco hereditário (24). Foram identificados até 45 loci de suscetibilidade para a LLC, na sua maioria mapeados para regiões não codificantes do genoma, nomeadamente em promotores ativos ou potenciadores, modificando os sítios de ligação para fatores de transcrição: os sítios de ligação para SP1 e NF- $\kappa$ B são perturbados, enquanto que existe uma afinidade aumentada para FOX, NFAT e TCF/LEF. Por sua vez, ocorre a alteração da expressão de genes envolvidos na resposta imunitária, sobrevivência celular ou sinalização Wnt (Figura 3) (3).

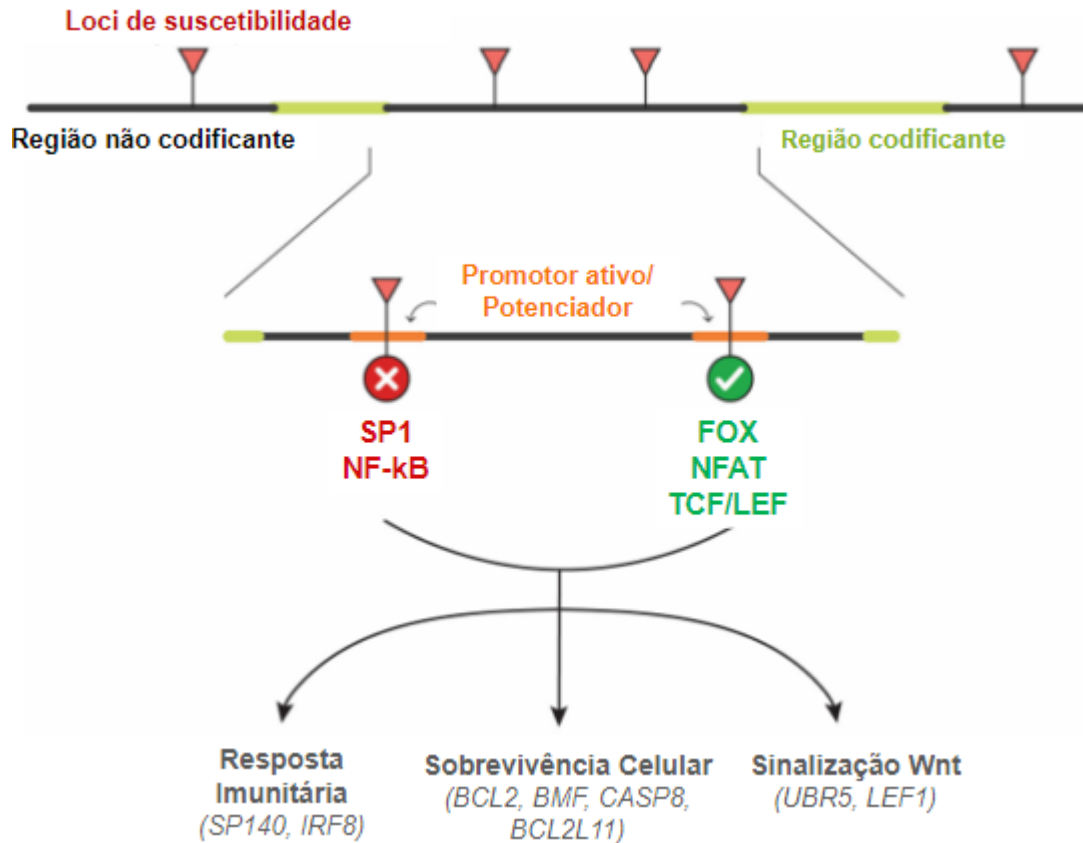


Figura 3 - Mecanismos de Suscetibilidade Genética. Adaptado de (3).

#### 4.3.2 Fatores Ambientais

Atualmente, não existem fatores de risco ambientais claramente discerníveis e que predisponham à LLC (23). O *National Institute of Medicine* concluiu, em 2003, que o “agente laranja”, um herbicida contendo dioxinas utilizado no Vietname, está associado à LLC em militares expostos a este herbicida durante o serviço militar (6,25).

Entre os fatores de risco ocupacional, viver ou trabalhar numa quinta, bem como ser profissional de cabeleireiro, apresentou uma associação significativa ao risco de LLC. A seropositividade para o vírus da hepatite C também foi fortemente associada, embora não seja específica para a LLC, pois está igualmente associada a outras doenças linfoproliferativas (25,30,31).

Ao contrário de outras leucemias, a LLC é considerada não radiogênica. No entanto, observou-se um aumento da incidência de LLC entre mineiros de urânio expostos a radiações ionizantes e não ionizantes (6,25).

## 5 Fisiopatologia

A patogênese da LLC é um processo complexo que leva à replicação de linfócitos B malignos, sendo que muitas etapas permanecem desconhecidas (32). A LLC é precedida pelo seu correspondente pré-maligno: a linfocitose monoclonal de células B (LMB), com menos de  $5 \times 10^9$  linfócitos B monoclonais/L no sangue periférico (15,33,34).

A LMB de baixa contagem ( $<0,5 \times 10^9$  linfócitos B monoclonais/L) pode manter-se estável ao longo do tempo, mas a LMB de alta contagem ( $>0,5 \times 10^9$  linfócitos B monoclonais/L) pode progredir para uma verdadeira LLC a uma taxa de 1-2% por ano. Assim, a patogênese da LLC pode ser entendida como um processo de duas etapas: primeiramente o estabelecimento da LMB, seguindo-se a progressão de LMB para LLC (Figura 4). Ao longo do tempo, e sob a pressão seletiva da terapêutica, a acumulação de anomalias adicionais contribui para a agressividade da doença e resistência ao tratamento (12,32,34).

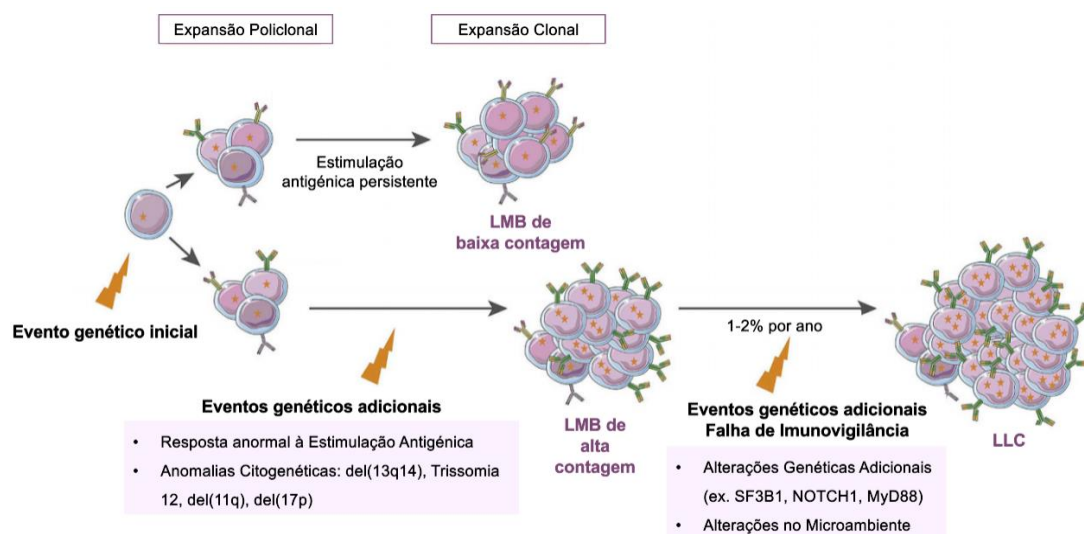


Figura 4 - Patogênese da LLC. Adaptado de (32,34)

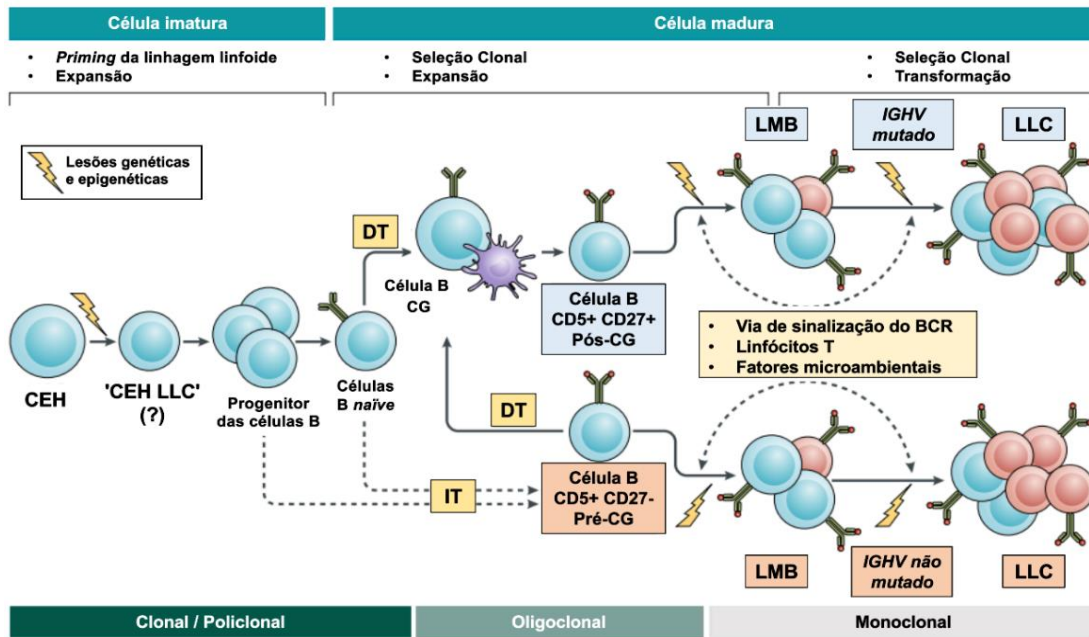
### 5.1 Origem Celular da LLC

A identificação da célula não-maligna a partir da qual se inicia a leucemogênese é um tema de debate contínuo. Os eventos genéticos e epigenéticos iniciais parecem ocorrer em células estaminais hematopoiéticas (CEH) multipotentes e autorrenováveis. As CEH mutantes resultantes originam continuamente

descendência, incluindo células B maduras portadoras de mutações idênticas. No entanto, o tipo de célula B madura que está na origem da expansão clonal da LLC permanece desconhecido (7,26,35).

As células B maduras da LLC expressam à sua superfície o recetor dos linfócitos B (BCR), composto por moléculas de imunoglobulina (Ig) e por subunidades CD79a/b (3), sendo que a maioria expressa IgM e IgD (36). Os linfócitos B sofrem maturação na medula óssea, passando a circular no sangue periférico. Quando reconhecem antígenos nos centros germinativos (CG) dos órgãos linfoides secundários, são submetidos a hipermutação somática, isto é, mutações aleatórias nos genes da região variável da imunoglobulina (13).

Do ponto de vista imunogenético, podem ser distinguidos dois subgrupos de doentes com LLC com base na presença ou ausência de hipermutações somáticas nos genes da região variável da cadeia pesada da imunoglobulina (*IGHV*): os que apresentam os genes *IGHV* mutados e os que os apresentam não mutados (26,35). As células com os genes *IGHV* mutados, têm origem em linfócitos B que passaram pelo CG, sofrendo estimulação antigénica dependente de linfócitos T. Contrariamente, as células com os genes *IGHV* não mutados têm origem em linfócitos B que não passaram pelo CG e parecem sofrer estimulação antigénica independente de linfócitos T. No entanto, a sua origem em células B *naïve* ou numa linhagem distinta de células B precursoras permanece desconhecida (Figura 5) (1).



**Figura 5 - A origem celular da LLC.** Adaptado de (26)

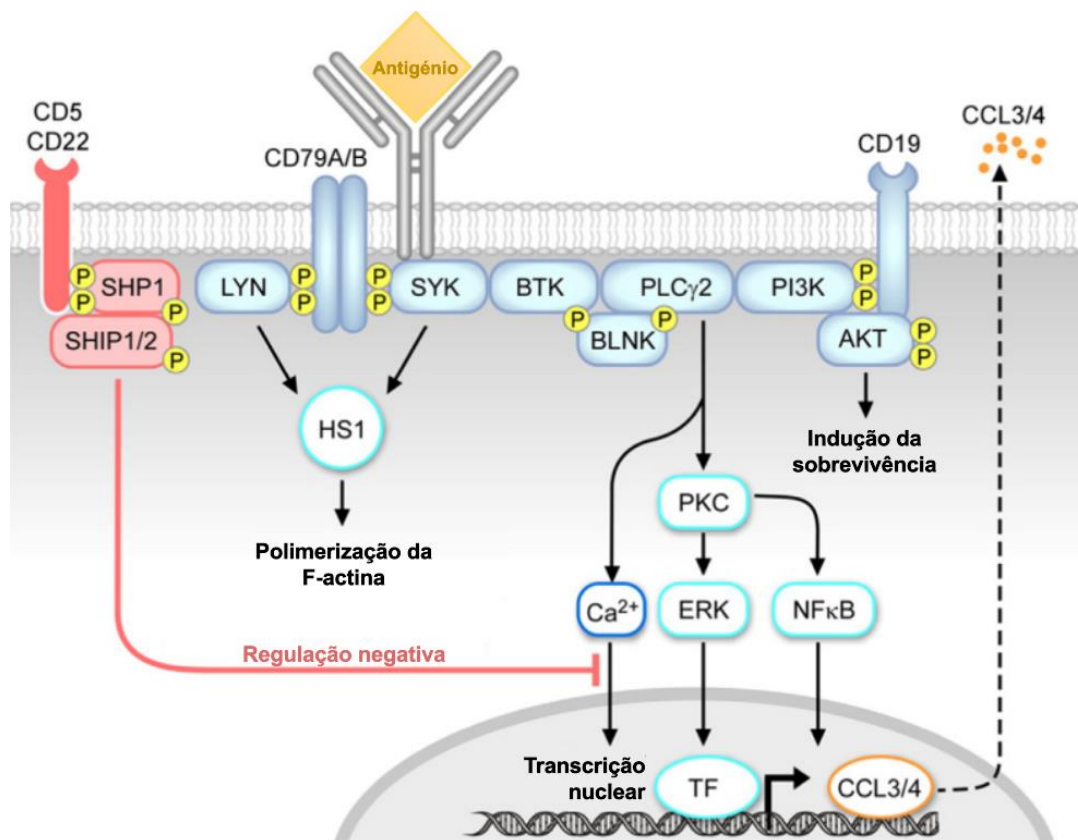
Os eventos genéticos e epigenéticos sobre a CEH resultam numa expansão policlonal dos progenitores de células B e, após estimulação antigénica, numa seleção oligoclonal e expansão de células B maduras. As células com o *IGHV* mutado têm origem em células B CD5+ CD27+ pós-CG, resultantes de células B CD5+ CD27+ que passaram pelo CG. As células com o *IGHV* não mutado têm origem em células B CD5+ CD27- pré-CG, resultantes de células B *naíve* ou de uma linhagem distinta de células B precursoras. Alterações genéticas e epigenéticas adicionais, a estimulação BCR e fatores microambientais contribuem para o surgimento de LMB, e, posteriormente, LLC monoclonal. **DT** - antígeno dependente das células T; **IT** - antígeno independente das células T (26).

## 5.2 Recetor dos Linfócitos B e Via de Sinalização

As células da LLC proliferam nos órgãos linfóides secundários, onde a sinalização do BCR promove a expansão de linfócitos B monoclonais (37). A ativação desta via está envolvida no crescimento, diferenciação, sobrevivência e adesão ou migração celular (32).

Após a ligação de um antígeno ao BCR, ocorre o recrutamento e fosforilação da tirosina cinase do baço (SYK) e da proteína cinase LYN. Consequentemente, ocorre a ativação do citoesqueleto, incluindo a proteína HS1 e a polimerização da F-actina, bem como de outras cinases, nomeadamente a *Bruton's* tirosina cinase (BTK) e a fosfatidilinositol 3-cinase (PI3K). Através do adaptador BLNK, a BTK ativa a fosfolipase Cy2 (PLCy2) e subsequentes vias a jusante, incluindo a via de sinalização

do cálcio e as vias de sinalização do fator nuclear  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ), ocorrendo também a ativação das cinases reguladas por sinais extracelulares (ERK 1/2). O co-recetor positivo CD19 contribui para a ativação da via PI3K-AKT e indução da sobrevivência. No final, a sinalização do BCR promove a ativação da transcrição nuclear, incluindo os genes das quimiocinas CCL3 e CCL4, que são posteriormente secretadas. Esta via de sinalização é regulada negativamente por co-recetores negativos, como o CD22 e CD5, e por fosfatases, incluindo a SHP1 e SHIP1/2 (Figura 6) (9,36).



**Figura 6 - Via de sinalização do BCR.** Adaptado de (36)

As células da LLC expressam BCRs com um repertório altamente restrito de genes das imunoglobulinas. Cerca de 30% dos doentes apresentam sequências quase idênticas ou “estereotipadas”, mais comumente observadas nos que têm os genes *IGHV* não mutados, o que sugere que a pressão antigênica seletiva tem um papel relevante na patogênese da LLC (2,32). Tais antígenos incluem: autoantígenos, antígenos de microrganismos, e, ainda, a ligação entre dois BCRs de células da LLC, resultando numa sinalização autônoma, independente de antígenos (35,37).

Sendo uma doença heterogénea, o efeito da sinalização do BCR na LLC varia desde uma ativação aumentada do linfócito B até à sua anergia, dependendo do estado mutacional dos genes *IGHV* (Figura 7). As células com os genes *IGHV* não mutados estão mais direcionadas para o crescimento e proliferação celular. Contrariamente, a anergia predomina nas células com os genes *IGHV* mutados, permanecendo estáveis ou expandindo-se a um ritmo mais lento. Assim, é menos provável que estas células proliferem, o que explica, em parte, a observação de uma doença mais indolente em doentes com clones mutados. Para além disto, as células anérgicas retêm uma maior suscetibilidade à apoptose, a não ser que proteínas anti-apoptóticas, como a BCL-2, sejam sobreexpressas (3,24).

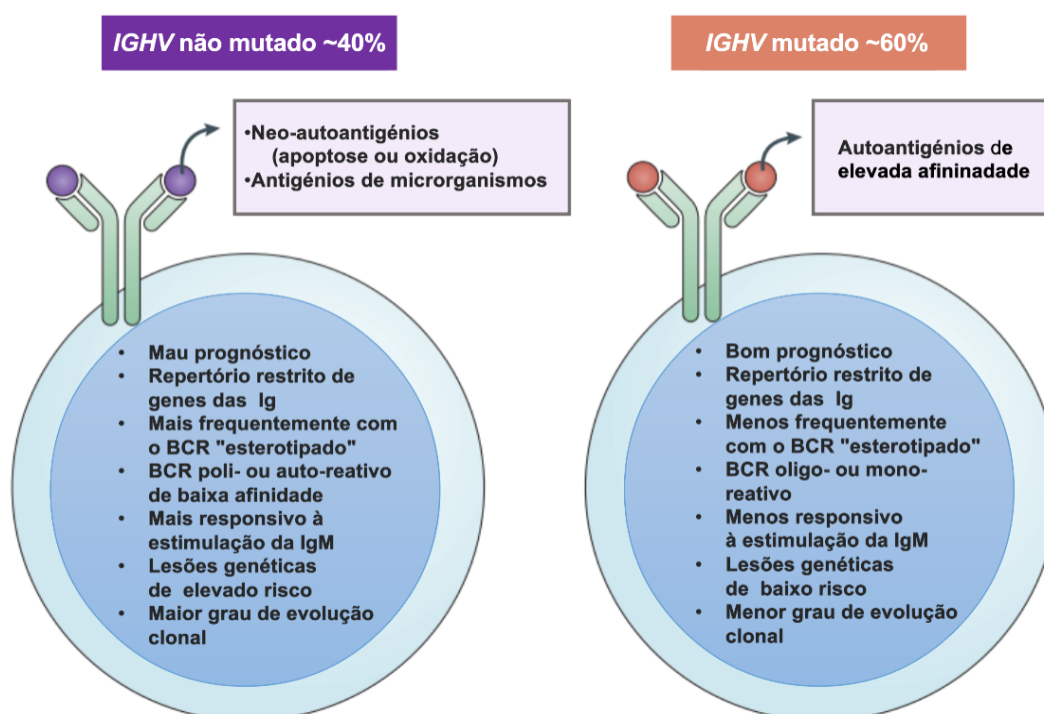


Figura 7 - Célula da LLC com genes *IGHV* não mutados vs Célula da LLC com genes *IGHV* mutados. Adaptado de (2)

### 5.3 Alterações Genéticas

O curso altamente heterogéneo da LLC é, em parte, explicado por diversas alterações genéticas, incluindo: anomalias cromossómicas, mutações genéticas específicas, modificações epigenéticas e alteração da expressão de microRNAs (24,38). Até à data, ainda não foi identificada uma lesão patogénica específica da LLC, sendo que nenhum gene se encontra predominantemente alterado (39).

### 5.3.1 Alterações Citogenéticas

Aproximadamente 80% dos doentes com LLC têm, pelo menos, uma das quatro alterações cromossômicas mais comuns nesta doença (24). Maioritariamente, ocorre perda ou ganho de material genético, enquanto que as translocações são raras (31). Podem também ser observados cariótipos complexos (mais do que três anomalias cromossômicas) (10).

#### 5.3.1.1 Deleção (17p)

A deleção no braço curto do cromossoma 17, del(17p), foi detetada em 7-10% dos doentes com LLC, maioritariamente na doença recidivante/refratária, sendo mais comum em doentes com os genes *IGHV* não mutados (32,35).

Geralmente, a del(17p) envolve a perda do gene supressor de tumor *TP53*, que codifica a proteína p53, responsável pela regulação do ciclo celular e apoptose, bem como pela promoção da reparação do DNA em resposta a sinais de stress celular. Após a danificação do DNA, a proteína p53 desencadeia a apoptose ou a paragem do ciclo celular na fase G1 até à conclusão dos processos de reparação do DNA, impedindo deste modo a replicação de anomalias genéticas potencialmente nocivas (35,38). Assim, doentes com deleção ou mutação do gene *TP53*, possuem um risco elevado de ausência de resposta ao tratamento inicial ou de recidivar rapidamente após a remissão (32).

#### 5.3.1.2 Deleção (11q)

A deleção no braço longo do cromossoma 11, del(11q), foi descrita em 17-20% dos doentes (32) e também está associada ao subgrupo com o *IGHV* mutado. Os doentes com esta deleção apresentam uma doença predominantemente nodal (2), linfadenopatia marcada, progressão rápida, e sobrevivência global reduzida (7). Esta deleção também tem sido associada a ausência de resposta ao tratamento inicial ou recidiva pouco tempo após a remissão (32).

O gene telangiectasia atáxia (*ATM*), um gene supressor de tumor, está localizado nesta região cromossômica, sendo afetado por esta deleção (31). Este gene codifica uma cinase que, em resposta à danificação do DNA, atrasa a progressão do ciclo celular, permitindo a sua reparação (32,35). Em alternativa, induz a apoptose, caso os danos não possam ser reparados (39). Em alguns doentes, a del(11q) não envolve o gene *ATM*, mas o gene *BIRC3*, um regulador negativo da via de sinalização do NF-κB (26).

### 5.3.1.3 Deleção (13q)

As deleções no braço longo do cromossoma 13, especificamente envolvendo a banda 13q14, del(13q14), representam a anomalia citogenética mais frequente na LLC, ocorrendo aproximadamente em 55% dos casos (7). É mais prevalente em doentes com os genes *IGHV* mutados e está associada a um prognóstico favorável, quando isolada (26,31).

A região afetada pela del(13q14) contém dois genes de RNA não codificante (*DLEU2* e *DLEU1*) e genes de dois microRNAs, miR-15-a e miR-16-1 (26). Estes microRNAs podem atuar como reguladores negativos da proteína anti-apoptótica BCL-2, o que é congruente com a elevada expressão de BCL-2 observada na LLC e a consequente resistência à apoptose (2,36). O papel patogénico destes microRNAs também ocorre através da regulação do ciclo celular, pela modulação da expressão de genes envolvidos na transição da fase G0 para G1-S (por exemplo, induzindo a ativação das ciclinas CCND2 e CCND3) (26).

Estas lesões são frequentemente encontradas como a única anormalidade citogenética detetável em alguns doentes, o que sugere o envolvimento destes microRNAs nas fases iniciais da leucemogénese (7,26).

### 5.3.1.4 Trissomia 12

Uma cópia extra do cromossoma 12, encontrada em cerca de 15% dos casos, era considerada uma lesão genética de risco intermédio, independentemente do estado mutacional dos genes *IGHV* (2). Todavia, um estudo recente revelou que a presença de mutações NOTCH1 em doentes com trissomia 12 estava associada a baixas taxas de sobrevivência. Ademais, estes doentes têm um risco superior de progressão para Síndrome de Richter (35), um linfoma agressivo.

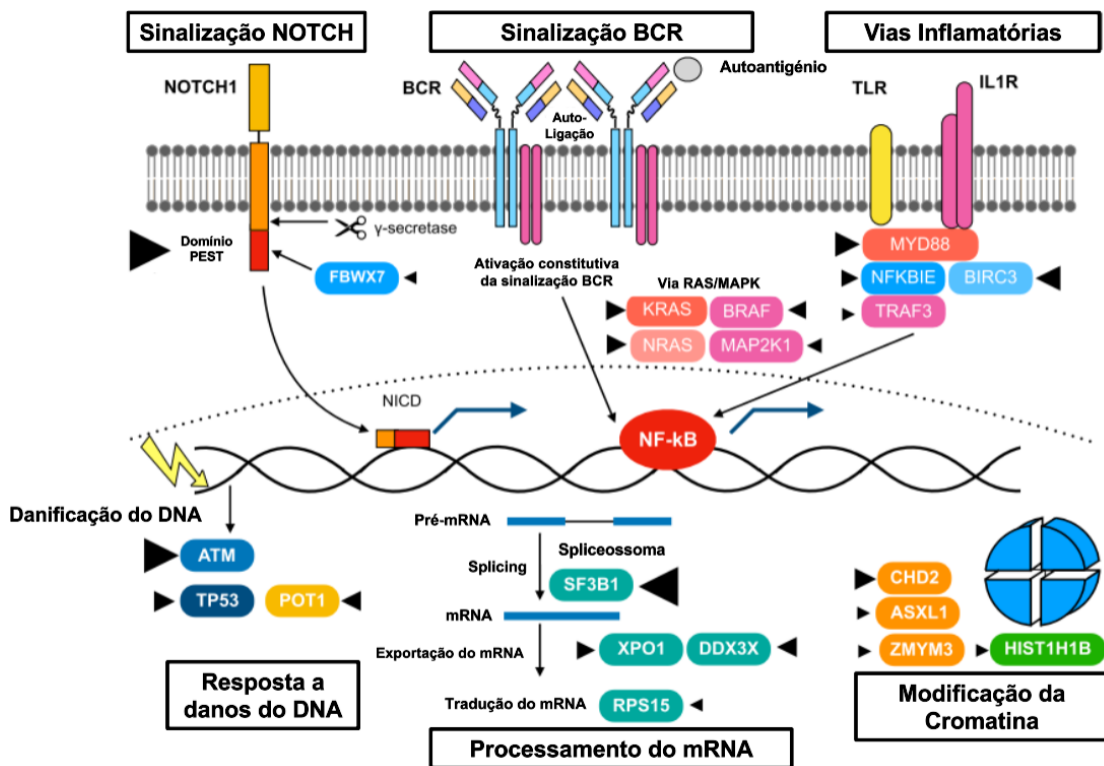
A trissomia 12 tem sido associada a uma morfologia atípica dos linfócitos, e a sua prevalência é bastante elevada no SLL (31).

## 5.3.2 Mutações Somáticas

Para além das anomalias cromossómicas descritas acima, as células da LLC acumulam, em média, cerca de 2.500 mutações somáticas. No momento do diagnóstico, apenas alguns genes se encontram mutados em mais de 5% dos doentes

(*NOTCH1*, *SF3B1*, *TP53*, *ATM*), seguindo-se a acumulação de mutações promotoras da patogénese da LLC em genes menos frequentemente mutados. Assim, o panorama mutacional da doença é notavelmente heterogéneo, sendo parcialmente explicado por três fatores principais: a célula de origem, a idade do doente e a evolução da doença (3).

Verificou-se que as mutações somáticas mais frequentes na LLC estavam envolvidas na desregulação de vias de sinalização celular, contribuindo assim para o processo de leucemogénese: danificação do DNA e controlo do ciclo celular (*TP53*, *ATM*, *BIRC3*, *CCND2*, *CDKN1B*, *CDKN2A*, *POT1*), sinalização NOTCH (*NOTCH1*, *FBWX7*), processamento do mRNA (*SF3B1*, *DDX3X*, *U1*, *XPO1*, *RPS15*), vias inflamatórias (*MYD88*, *DDX3X*, *MAPK1*), sinalização NF-κB (*BIRC3*, *NFKB2*, *NFKBIE*, *TRAF2*, *TRAF3*), sinalização BCR e TLR (*EGR2*, *BCOR*, *MYD88*, *TLR2*, *IKZF3*), via MAPK-ERK (*KRAS*, *NRAS*) e modificação da cromatina (*CHD2*, *SETD2*, *KMT2D*, *ASXL1*) (Figura 8) (3,31,32,35).



**Figura 8 – Genes significativamente mutados e vias de sinalização envolvidas na patogénese da LLC. Adaptado de (35)**

As dimensões dos triângulos a preto indicam a frequência das mutações reportadas na LLC (35).

As mutações no gene **TP53** são geralmente observadas na del(17p), mas 5-15% dos casos ocorrem na sua ausência (10). À semelhança do **TP53**, o gene **ATM** é inativado tanto por deleção ou mutações somáticas em 10-15% dos doentes diagnosticados, resultando em respostas fracas à danificação do DNA (39).

O gene mais frequentemente mutado ao diagnóstico é o **NOTCH1**, com uma frequência de 4-20% (26), maioritariamente nos doentes com o *IGHV* não mutado. Aproximadamente 40% dos portadores desta mutação apresentam também trissomia 12, o que sugere uma sinergia funcional entre estas lesões (2). As proteínas Notch são recetores transmembranares envolvidos na regulação do desenvolvimento de células hematopoiéticas (32). Por sua vez, o gene **NOTCH1** é responsável pelo crescimento, diferenciação e auto-renovação celular, bem como pela regulação da apoptose em vários tecidos durante o desenvolvimento embrionário e pós-natal. Assim, mutações neste gene provocam a desregulação da via de sinalização NOTCH nas células da LLC, uma via importante para a sua sobrevivência e resistência à apoptose (39,40).

Várias lesões genéticas da LLC estão associadas à ativação do complexo transcricional do NF-κB. O gene **BIRC3** está envolvido tanto na inibição da apoptose, como na regulação do NF-κB (31). Mutações neste gene, encontradas em 2,2-4,3% dos doentes diagnosticados, causam a remoção da porção C-terminal do domínio RING-*finger* da proteína BIRC3, levando à ativação constitutiva do NF-κB. Por outro lado, o gene **MYD88** está mutado em cerca de 3% dos casos, exclusivamente nos que apresentam o *IGHV* mutado (26). A proteína MYD88 é uma molécula adaptadora dos recetores TLR (*Toll-like receptors*) e dos recetores da interleucina-1 (40). Quando o gene **MYD88** se encontra mutado, ocorre a formação descontrolada do complexo MYD88/IRAK, que se traduz na elevação da atividade NF-κB a jusante e secreção de citocinas (39).

Várias mutações encontram-se associadas ao processamento do RNA, sendo o gene **SF3B1** o mais frequentemente mutado na LLC (10% dos casos), maioritariamente no subgrupo com o *IGHV* não mutado (26). Este gene está envolvido na criação do spliceossoma, responsável pelo *splicing* do mRNA (32). Assim, mutações que provoquem a sua inativação, conduzem a defeitos a nível do *splicing* de vários mRNAs e, conseqüentemente, na síntese proteica, afetando as múltiplas vias associadas à LLC (35,40). Por outro lado, mutações neste gene também estão associadas a uma resposta defeituosa à danificação do DNA (39).

O gene **POT1** encontra-se mutado em 3-7% dos doentes, mais frequentemente nos que apresentam o *IGHV* não mutado. Este gene é responsável por conferir proteção aos telómeros e, quando mutado, ocorrem aberrações estruturais e instabilidade cromossômica que favorecem a progressão tumoral, sem evidência de iniciação de uma resposta aos danos no DNA (2,26,35).

### 5.3.3 Modificações Epigenéticas

As alterações epigenéticas contribuem para a desregulação da expressão génica no cancro e são de interesse terapêutico, uma vez que podem ser eficazmente moduladas por vários fármacos (2).

O epigenoma da LLC apresenta hipometilação global do DNA, juntamente com hipermetilação local (24). As principais alterações da hipometilação, adquiridas na fase de LMB, ocorrem em locais de ligação de fatores de transcrição (TCF3, PU.1/SPIB, NFAT e EGR) e potenciadores que modulam genes envolvidos na função das células B, sinalização BCR e ativação do NF-κB, entre outros. No entanto, alguns doentes, especialmente aqueles com *IGHV* não mutado, apresentam variabilidade intratumoral em certas regiões, o que pode alterar a expressão de vários genes e facilitar a evolução tumoral (3). Por fim, a metilação, localmente desordenada, pode aumentar a capacidade adaptativa evolutiva das células da LLC ao elevar o "ruído" de fundo do genoma, aumentando as oportunidades para ocorrência de mutações somáticas (24).

## 5.4 Microambiente Tumoral

As células da LLC são altamente dependentes dos sinais provenientes do microambiente para a sua proliferação e sobrevivência. Estas células proliferam principalmente nos gânglios linfáticos, onde formam centros de proliferação característicos denominados "pseudofolículos" e, em menor extensão, na medula óssea, estando em contacto íntimo com a matriz extracelular, linfócitos T, NLC (*nurse-like cells*), células dendríticas foliculares e outras células do estroma (Figura 9) (3,37).

Este microambiente produz várias quimiocinas, citocinas e fatores angiogénicos que interagem com as células leucémicas através de recetores de superfície ou moléculas de adesão (7).

As células tumorais migram para os tecidos devido à sua atração pelas quimiocinas CXCL12, CXCL13 e CCL19/CCL21, que interagem com os receptores CXCR4, CXCR5 e CCR7 das células tumorais, respetivamente. A adesão às células do estroma é mediada pela interação entre moléculas de adesão (integrinas  $\alpha 4\beta 1$  e LFA-1), e os seus ligandos (VCAM1 e ICAM), que facilitam a migração e manutenção das células tumorais (3). Adicionalmente, as NLC promovem a sobrevivência das células tumorais através da ativação das vias de sinalização BCR e NF- $\kappa$ B, bem como pela expressão de fatores de necrose tumoral, BAFF e APRIL (36).

Antígenos ambientais, autoantígenos ou interações homotípicas provocam a ativação da sinalização BCR e TLR, amplificando a resposta das células da LLC a outros sinais do microambiente, aumentando a ativação de vias anti-apoptóticas e de proliferação (3). Uma vez ativadas, as células tumorais secretam quimiocinas (CCL2, CCL3 e CCL4) e fatores angiogénicos que atraem linfócitos T e células do estroma para o microambiente tecidual. Por sua vez, a interação entre o CD40 e o seu ligando (CD40L) em linfócitos T CD4+ ativados favorece a sobrevivência e a proliferação das células tumorais. Os fatores supressores (interleucina-10) e a interação entre PD-L1 e PD-1 favorecem, ainda, a evasão imunitária destas células à citotoxicidade mediada por linfócitos T. Adicionalmente, ocorre uma redução global das atividades efetoras dos linfócitos T CD8+, que entram em exaustão pela exposição constante a antígenos tumorais, bem como das células NK, cuja citotoxicidade está reduzida (3,36).

Verifica-se um aumento da densidade microvascular na medula óssea dos doentes com LLC, sendo que as células tumorais expressam fatores angiogénicos, como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) que, em níveis elevados, permitem a neo-angiogénese e a migração transendotelial das células tumorais (36).

Por último, as mutações genéticas na LLC também podem regular as interações entre as células tumorais e o microambiente. As mutações *NOTCH1* dependem da presença de ligandos do microambiente, ativando a migração celular, invasão e angiogénese. As mutações *MYD88* ativam a via NF- $\kappa$ B em resposta aos ligandos do TLR, aumentando a libertação de citocinas envolvidas no recrutamento de células do estroma e linfócitos T (3).

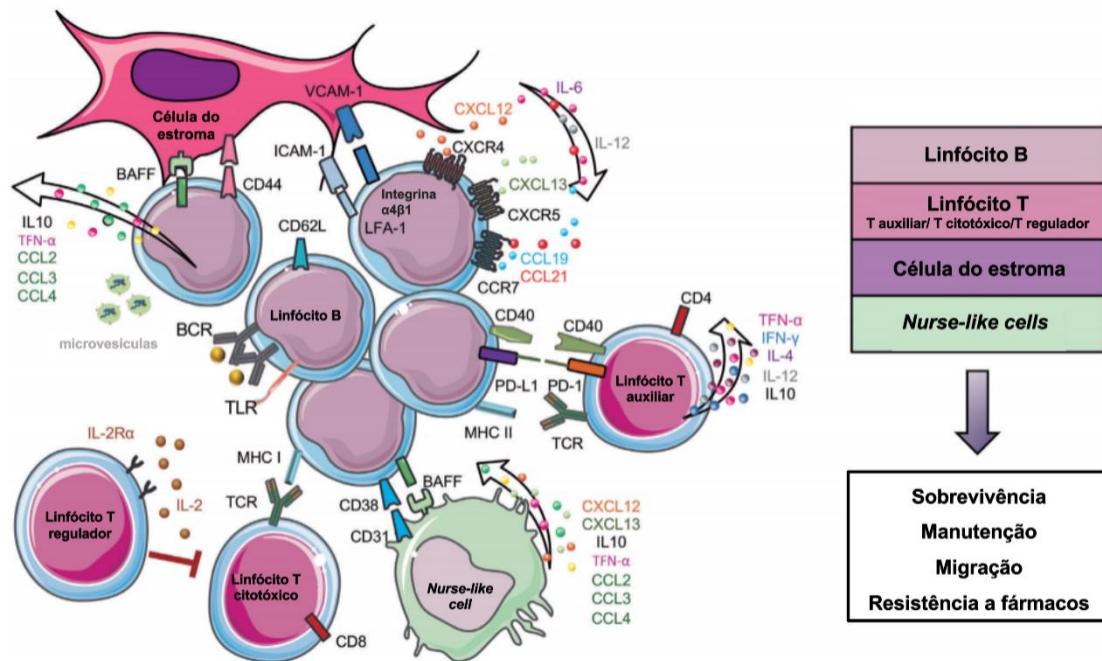


Figura 9 – O microambiente da LLC. Adaptado de (3)

## 5.5 Resistência à apoptose

A acumulação de células malignas na LLC deve-se, em parte, à sua resistência à apoptose. Embora a maioria das células esteja na fase G0/1, existe uma fração de células que se duplicam e renovam rapidamente todos os dias (10).

Como exposto anteriormente, a via intrínseca da apoptose encontra-se desregulada devido a alterações genéticas (*IGHV*, *TP53* e *ATM*), epigenéticas (miRNA e metilação do DNA) e fatores ambientais (41). Mecanismos de resistência à apoptose incluem a sobreexpressão de proteínas anti-apoptóticas, como a BCL-2 e MCL1, e a regulação negativa de proteínas pro-apoptóticas, como a BCLX (10,32).

## 6 Apresentação Clínica

### 6.1 Sintomas

A maioria dos doentes com LLC são assintomáticos no momento do diagnóstico, sendo a doença apenas detetada após o aparecimento de linfocitose num hemograma de rotina (24). Assim, raramente estão presentes os típicos sintomas B: febre superior a 38°C, perda de peso involuntária, suores noturnos, fadiga extrema, saciedade precoce (23,24,31).

### 6.2 Sinais

Os linfócitos B malignos dividem-se, ao longo do tempo, nos gânglios linfáticos. Assim, no exame físico, 50-90% dos doentes apresentam linfadenopatia localizada ou generalizada (Figura 10), mais comumente nos gânglios linfáticos cervicais, supraclaviculares e axilares. Seguidamente, os linfócitos B infiltram-se no baço (25-55% dos casos) e medula óssea, causando esplenomegalia e hiper celularidade da medula óssea. A hepatomegalia é observada em 15-25% dos doentes (6).



**Figura 10 – Linfadenopatia bilateral cervical em doente com LLC.** Adaptado de (13)

Raramente há envolvimento de tecidos extra-hematológicos como a pele, o fígado, o rim ou o sistema nervoso central, sendo que a pele é o mais comumente afetado, observando-se *leukemia cutis* (lesões cutâneas). Esta ocorre principalmente no rosto, manifestando-se como pápulas, máculas, placas, úlceras, bolhas ou

nódulos. Uma característica peculiar em alguns doentes é uma alta sensibilidade a picadas de mosquitos (6,10,23).

As citopenias decorrentes de causas não imunológicas, nomeadamente infiltração da medula óssea, são pouco frequentes e, geralmente, não são graves (12,23). Na fase avançada da doença, pode ocorrer fadiga e intolerância ao exercício físico devido à anemia, enquanto que a presença de manifestações hemorrágicas, devido à trombocitopenia, é muito rara (31). Por outro lado, as citopenias também podem decorrer da esplenomegalia, que induz um aumento da sequestração de hemácias e plaquetas pelo baço (6).

A falta de linfócitos B funcionais diminui a capacidade de produção de anticorpos durante as respostas imunitárias, causando hipogamaglobulinémia, geralmente com redução de IgG, IgA e IgM (6,23). Esta ocorre em 46-64% dos doentes, e tende a agravar-se à medida que a doença avança (42).

Outros achados anormais na LLC progressiva ou avançada são: níveis séricos elevados de lactato desidrogenase sérica (LDH),  $\beta$ 2-microglobulina, ácido úrico, enzimas hepáticas e cálcio (23).

## 6.3 Complicações da LLC

### 6.3.1 Infecções

As infecções são uma das principais fontes de morbidade e mortalidade na LLC, sendo responsáveis por 50-60% das mortes nestes doentes. Doentes com o *IGHV* não mutado parecem ter a primeira infecção mais cedo e uma maior mortalidade. A hipogamaglobulinémia, defeitos nos linfócitos T, células NK, células dendríticas, na ativação do sistema do complemento e capacidade fagocítica, ou mesmo os efeitos imunossupressores da terapêutica, contribuem para o risco de infecção (42,43).

As bactérias encapsuladas (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*) são os agentes patogénicos que predominantemente causam estas infecções. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* também são responsáveis por bacteriemia e septicemia. A pneumonia é a infecção mais grave e frequente, particularmente na doença avançada. Outros locais de infecção frequentes incluem todas as vias respiratórias, o trato urinário, a pele e os tecidos moles. Os vírus mais frequentemente encontrados, particularmente na doença avançada, são o vírus herpes simplex e varicela-zona.

Micoses, em particular a meningite criptocócica, também foram reportadas, bem como infecções por *Candida* e *Aspergillus* (44).

O espectro das infecções na LLC tem sofrido alterações desde a introdução de agentes terapêuticos que desempenham efeitos específicos sobre a função imunitária, particularmente na imunidade mediada por células (43).

### 6.3.2 Citopenias Autoimunes

As citopenias autoimunes secundárias à LLC podem ser assintomáticas ou severas, com necessidade de transfusão sanguínea. Geralmente, são mediadas por autoanticorpos IgG direcionados contra eritrócitos, granulócitos ou plaquetas, promovendo a sua rápida eliminação pelo baço e fígado. Estes autoanticorpos são sintetizados maioritariamente por linfócitos B não malignos, devido à profunda desregulação imunitária da LLC, mas também pelos linfócitos malignos, geralmente IgM. Por outro lado, os autoanticorpos ou as citocinas inflamatórias produzidas por células T auto-reativas também podem comprometer a resposta compensatória da medula óssea ao interferirem com a maturação dos eritroblastos ou dos megacariócitos. Outros mecanismos patogénicos incluem: a apresentação antigénica direta pelas células da LLC, desencadeando a indução de linfócitos T *helper* (TH) auto-reativos e a produção de linfócitos T reguladores (T-regs) não funcionais; um desequilíbrio na relação TH17/T-regs; a lise direta dos eritroblastos pelas células NK; a redução do TLR-4, um agente importante da imunidade inata (31,45,50).

A ocorrência das citopenias autoimunes relaciona-se com uma doença mais agressiva, em doentes com os *IGHV* não mutados e citogenética desfavorável (45). Além disso, tem sido verificada uma associação entre configurações “estereotipadas” específicas do BCR e a ocorrência de citopenias autoimunes, salientando ainda mais o potencial papel da estimulação (auto)antigénica na patogénese da LLC (50).

A terapêutica da LLC, nomeadamente a fludarabina, pode induzir anemia hemolítica, provavelmente secundária a uma alteração na relação TH17/T-regs. No entanto, em combinação com ciclofosfamida e rituximab, parece não causar esse grau de hemólise (46).

Por fim, as citopenias autoimunes não conferem necessariamente um mau prognóstico. De facto, o *outcome* destes doentes é melhor do que o dos que apresentam citopenias devidas a falência da medula óssea (56).

### **6.3.2.1 Anemia Hemolítica Autoimune**

A anemia hemolítica autoimune é a manifestação autoimune mais frequente na LLC (7-10% dos casos), envolvendo a destruição de eritrócitos mediada por anticorpos. A maioria dos doentes apresentam anemia sintomática, acompanhada de níveis séricos de hemoglobina inferiores a 11 g/dL, aumento da produção de eritrócitos, demonstrada pela reticulocitose, e evidência de hemólise extravascular, com níveis elevados de bilirrubina indireta e LDH. Ocorre uma diminuição das haptoglobinas com o aumento da renovação celular dos eritrócitos. O teste da antiglobulina direto (DAT) é, geralmente, positivo. O esfregaço de sangue periférico revela esferócitos e outros eritrócitos anormais (46,50,56).

### **6.3.2.2 Trombocitopenia Imune**

A trombocitopenia imune é o segundo tipo mais comum de citopenias autoimunes (1-5% dos casos) e envolve a destruição de plaquetas mediada por anticorpos. É caracterizada por uma diminuição súbita e profunda das plaquetas (diminuição superior a 50%, com contagem de plaquetas inferior a  $100 \times 10^9/L$ ) na ausência de falência da medula óssea ou hiperesplenismo. O aspirado e biópsia de medula óssea demonstram um número normal ou aumentado de megacariócitos (46,49,50,56).

### **6.3.2.3 Aplasia Pura das Células Vermelhas**

A aplasia pura das células vermelhas é relativamente rara (<1% dos casos) e desenvolve-se devido à destruição dos precursores dos eritrócitos. Manifesta-se tipicamente com uma anemia normocrômica e normocítica isolada e reticulocitopenia absoluta. A medula óssea apresenta defeitos na maturação eritroblástica, com uma redução acentuada do número de precursores eritróides, mas com uma produção relativamente intacta de leucócitos e megacariócitos (46,56).

### **6.3.2.4 Granulocitopenia Autoimune**

A granulocitopenia autoimune é muito rara (0,17% dos casos) e envolve a destruição dos precursores mielóides, devendo suspeitar-se da sua presença em doentes com neutropenia isolada sem outra causa aparente. O seu curso é

normalmente benigno e, em alguns casos, resolve-se espontaneamente sem tratamento, tendo sido apenas relatadas infecções graves pontuais (46,50,56).

### **6.3.3 Neoplasias Secundárias**

Os doentes com LLC têm um risco aumentado de desenvolver uma neoplasia secundária (47). Estudos epidemiológicos revelaram que os câncros da pele, próstata, mama, gastrointestinais, pulmonares, melanoma e linfoma são os mais frequentes, sendo mais comuns em idosos e no sexo masculino. Ademais, parecem conferir um prognóstico desfavorável (31).

O mecanismo patológico poderá ter origem na imunossupressão subjacente à própria doença ou ao tratamento, realçando um possível defeito na imunovigilância (42,47). Tem sido demonstrado um risco superior em doentes tratados com fludarabina, ciclofosfamida e rituximab (31). Por outro lado, estudos subsequentes, sugerem que o risco é semelhante em doentes não tratados (24).

### **6.3.4 Síndrome de Richter**

A síndrome de Richter (SR) ocorre em 2-10% dos doentes com LLC e representa o desenvolvimento de um linfoma agressivo, mais frequentemente um linfoma difuso de grandes células B (LDGCB), mas o linfoma de Hodgkin também pode ocorrer (3,10).

Suspeita-se de desenvolvimento de SR caso ocorra um agravamento ou aparecimento de novos sintomas B, um aumento acentuado dos níveis de LDH, esplenomegalia ou rápido aumento dos gânglios linfáticos ou uma massa linfoide extra-nodal, anemia e trombocitopenia. A SR apresenta uma rápida progressão e o prognóstico é desfavorável, com uma sobrevivência média de 5-8 meses (3,24,48).

A SR é mais frequente em doentes portadores de mutações nos genes *NOTCH1* ou *TP53*, com um cariótipo complexo, trissomia 12 ou que expressem o BCR estereotipado pertencente ao subgrupo 8 (*IGHV4-39*) (3,26). Outros fatores de risco incluem um número elevado de tratamentos anteriores e uma idade mais jovem (48).

A SR apresenta uma evolução linear a partir das células da LLC através da aquisição recorrente de alterações nos genes *CDKN2A/B* e *MYC*, o que indica que o mecanismo desta transformação envolve reguladores da supressão tumoral,

proliferação e controlo do ciclo celular (2,3). Cerca de 5-10% dos doentes tratados com ibrutinib e alguns doentes tratados com venetoclax desenvolvem SR (26).

#### **6.4 Regressão Espontânea**

A regressão espontânea da doença observa-se em 1-2% dos doentes por ano (10), os quais apresentam os genes *IGHV* mutados, ausência de estereótipos, baixa atividade proliferativa e fraca migração celular para os centros de proliferação. Curiosamente, estes doentes mostram uma redução da exaustão dos linfócitos T e um aumento da proliferação dos mesmos. Além disso, mutações promotoras da patogénese da doença também estão presentes, mas permanecem estáveis, sem evolução subclonal (3).

## 7 Diagnóstico

A avaliação laboratorial da LLC inclui: uma contagem de células sanguíneas completa (com contagem diferencial de leucócitos), citometria de fluxo do sangue periférico e observação do esfregaço de sangue periférico. Normalmente, a avaliação da medula óssea não é necessária (23).

### 7.1 Critérios de Diagnóstico

De acordo com o *International Workshop on CLL (IWCLL)*, o diagnóstico da LLC requer os seguintes parâmetros (10,51):

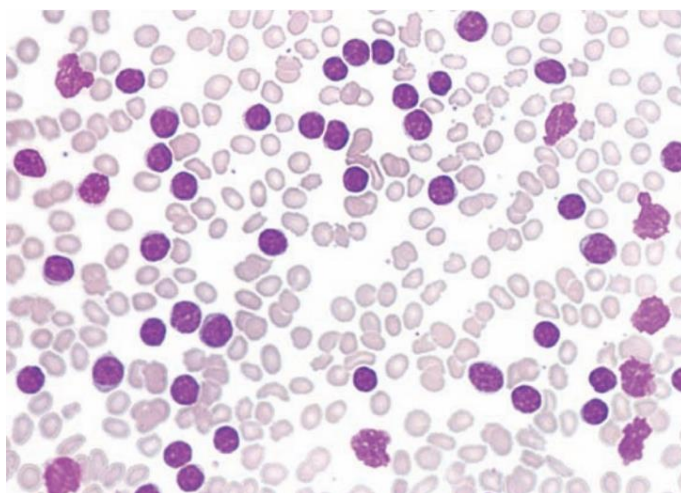
- Presença de  $5 \times 10^9/L$  ou mais linfócitos B monoclonais no sangue periférico, persistentes durante pelo menos 3 meses, predominantemente pequenos e maduros.
- Demonstração da clonalidade da população de linfócitos, confirmada pela restrição da expressão das cadeias leves das imunoglobulinas, utilizando a citometria de fluxo.
- Imunofenótipo característico: CD5+, CD19+, CD23+ e baixa expressão de CD20 e imunoglobulinas de superfície.

### 7.2 Hemograma e Contagem Diferencial de Leucócitos

A alteração laboratorial mais consistentemente observada é um aumento do número absoluto de linfócitos acima do limite superior normal para adultos (cerca de  $3,5 \times 10^9/L$  linfócitos), detetado no hemograma (Figura 11). Por sua vez, o diagnóstico inicial da LLC requer a detecção de  $5 \times 10^9/L$  ou mais linfócitos B monoclonais (24).

Caso a contagem de linfócitos B no sangue periférico seja inferior a  $5 \times 10^9/L$ , na presença de linfadenopatia e/ou esplenomegalia, mas ausência de citopenias causadas por infiltração da medula óssea, é diagnosticado o SLL em vez de LLC. As células do SLL apresentam o mesmo imunofenótipo que as da LLC e o seu diagnóstico deve ser confirmado através de uma biópsia de um gânglio linfático (7,21).

Na ausência de linfadenopatia, organomegalia, citopenias e sintomas, a presença de menos de  $5 \times 10^9/L$  linfócitos B monoclonais define uma LMB (21). Ademais, a presença de citopenias causadas por infiltração da medula óssea estabelece o diagnóstico de LLC, independentemente do número de linfócitos B no sangue periférico ou do envolvimento dos gânglios linfáticos (51).



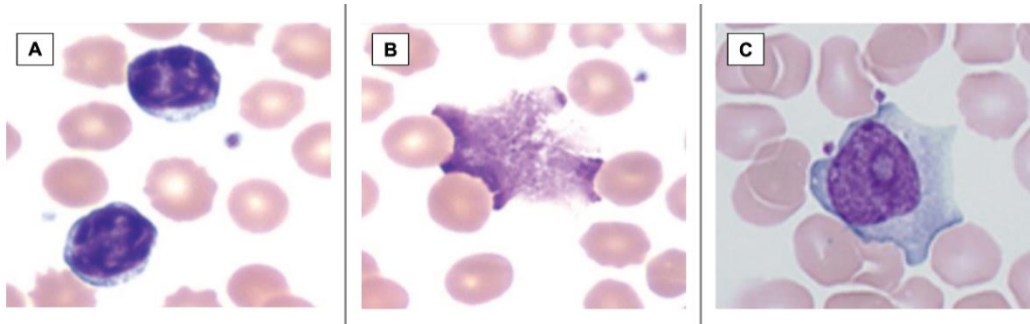
**Figura 11 – Esfregaço de sangue de doente com LLC.** Adaptado de (13)

O esfregaço de sangue periférico demonstra linfocitose, com predominância de pequenos linfócitos típicos da LLC. Também estão presentes *smudge cells* (13).

### 7.3 Exame Morfológico

As células leucémicas encontradas no esfregaço de sangue periférico são linfócitos caracteristicamente pequenos e maduros, com citoplasma basófilo e escasso, um núcleo escuro e denso, sem nucléolos distinguíveis e cromatina parcialmente agregada (Figura 12a). As sombras de Gumprecht ou *smudge cells*, encontradas como restos celulares, são características da LLC. Os linfócitos malignos são mais frágeis do que os linfócitos normais, ocorrendo assim a sua rutura durante a preparação do esfregaço de sangue na lâmina de vidro (Figura 12b) (23,51).

Uma pequena percentagem de células de maiores dimensões, atípicas, com um núcleo menos condensado e um único nucléolo proeminente, designadas de prolinfócitos, podem ser encontradas (Figura 12c) (24,51). Uma quantidade significativa de prolinfócitos circulantes ( $\geq 10\%$ ) parece indicar uma forma mais agressiva de LLC, com alterações nos genes *NOTCH1* ou *TP53*. No entanto, se os prolinfócitos estiverem presentes numa frequência igual ou superior a 55%, tal favorece o diagnóstico de leucemia prolinfocítica (51).



**Figura 12 – Morfologia do sangue periférico de doentes com LLC.** Adaptado de (23)

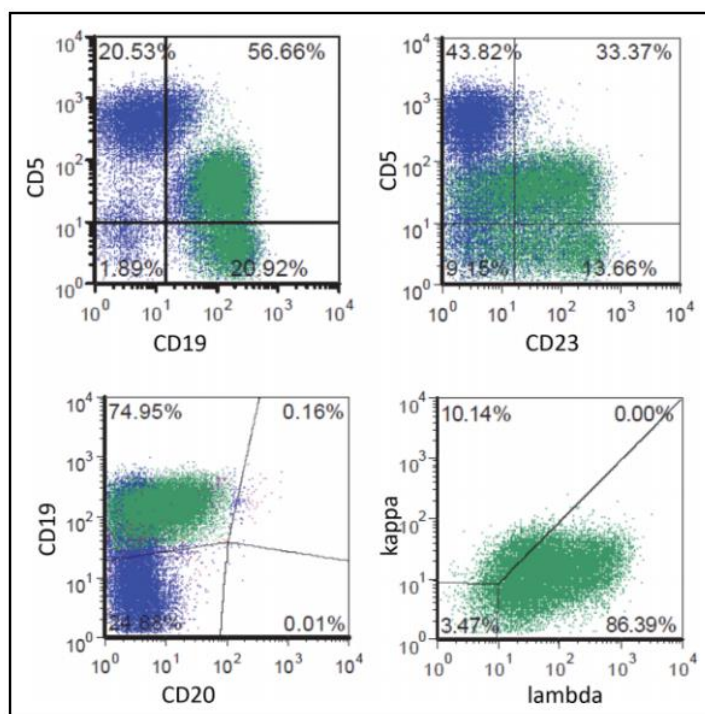
Estão representadas na figura as células típicas da LLC (a) as *smudge cells* (b) e um prolinfócito (c) (23)

## 7.4 Imunofenotipagem do Sangue Periférico

A análise imunofenotípica dos linfócitos circulantes é habitualmente realizada por citometria de fluxo (6). Nesta técnica, as células são incubadas com anticorpos marcados com sondas fluorescentes, específicos para certos marcadores hematolinfóides. Se o marcador estiver presente, o sinal fluorescente é detetado, permitindo a rápida caracterização do perfil antigénico das células (52).

As células típicas da LLC co-expressam o antígeno de superfície CD5 juntamente com os antígenos das células B: CD19, CD20 e CD23. Os níveis de imunoglobulinas de superfície, CD20 e CD79b são caracteristicamente baixos em comparação com os encontrados em células B normais (23,51). Maioritariamente, estas células expressam IgM e, por vezes, IgM e IgD, sendo que cada clone de células leucémicas apresenta apenas uma das cadeias leves, *kappa* ou *lambda*, ou nenhuma das duas, o que confirma a sua monoclonalidade (Figura 13) (6,21).

Recentemente, confirmou-se que a expressão de CD19, CD5, CD20, CD23, *kappa* e *lambda* é, normalmente, suficiente para estabelecer o diagnóstico de LLC. Em casos inconclusivos, marcadores adicionais como o CD43, CD79b, CD81, CD200, CD10 ou ROR1 podem auxiliar o diagnóstico (51).



**Figura 13 – Análise imunofenotípica da LLC por citometria de fluxo.** Adaptado de (52)

Neste caso particular, as células B neoplásicas (verde) são positivas para o CD19, CD5, CD23, CD20 (baixa expressão), e apenas expressam a cadeia leve *lambda* da imunoglobulina (52).

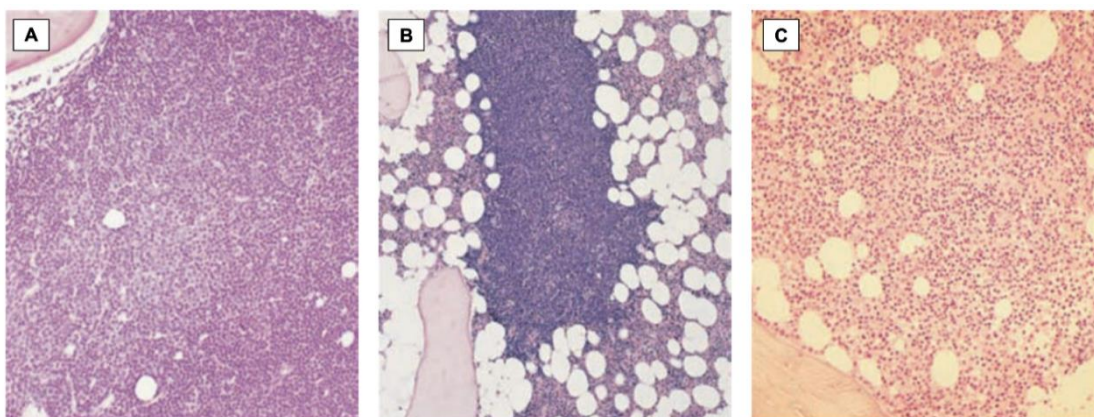
## 7.5 Avaliação Complementar

Geralmente, o diagnóstico da LLC é possível apenas com a imunofenotipagem do sangue periférico. A biópsia de nódulos linfáticos e/ou da medula óssea não são necessárias para o diagnóstico, mas podem ser úteis na presença de um fenótipo não conclusivo (21).

### 7.5.1 Aspiração e Biópsia da Medula Óssea

Na LLC, mais do que 30% das células nucleadas no aspirado da medula óssea são células linfóides maduras, o que demonstra hiperplasia. Foram descritos quatro padrões de infiltração linfocítica, que refletem a carga tumoral: nodular, intersticial, misto (nodular e intersticial) ou difuso, (Figura 14) (31,51). Destes, o padrão difuso está associado a doença avançada com mau prognóstico, enquanto que os padrões nodular e intersticial apresentam um melhor prognóstico e ocorrem predominantemente na fase clínica inicial (6,10). Adicionalmente, a medula exibe números reduzidos de células da linhagem mieloide e eritróide (31).

A aspiração e biópsia da medula podem clarificar a origem das citopenias dos doentes com LLC, isto é, se estão ou não relacionadas com infiltração leucémica da medula (51). Na ausência de citopenias, a avaliação da medula óssea já não é necessária para o diagnóstico (31).

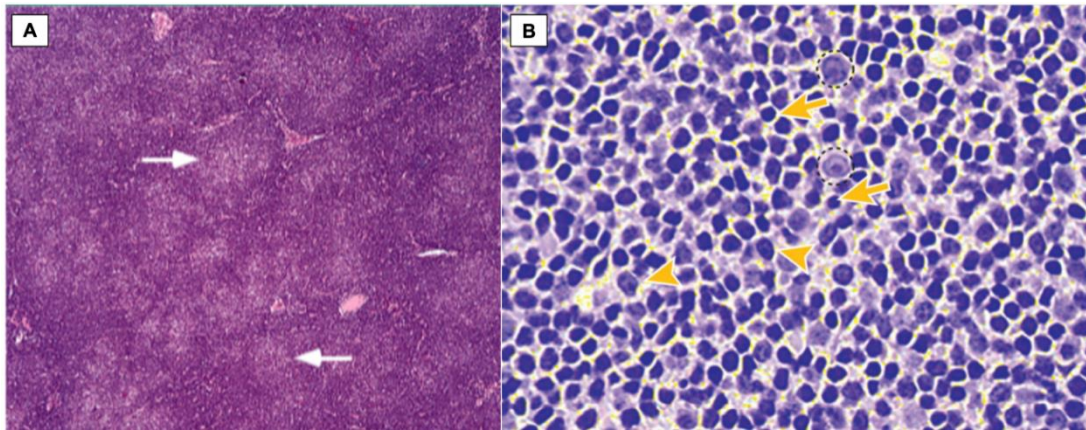


**Figura 14 – Biópsias de medula óssea de doentes com LLC.** Adaptado de (13)

Estão representados na figura três padrões de infiltração linfocítica na medula óssea: um aumento difuso de linfócitos com pequenos núcleos densos (a), um padrão nodular (b) e infiltração intersticial (c) (13).

## 7.5.2 Biópsia de Gânglios Linfáticos

A histologia dos gânglios linfáticos demonstra infiltração difusa de pequenos linfócitos, bem diferenciados, com desaparecimento da arquitetura nodal normal dos gânglios, juntamente com alguns centros germinativos residuais dispersos. Grandes células linfoides, tais como prolinfócitos e paraimunoblastos, presentes em *clusters*, encontram-se em pseudofolículos (centros de proliferação), que são estruturas características da LLC e SLL, não observadas noutros tipos de linfomas (Figura 15) (6,31).

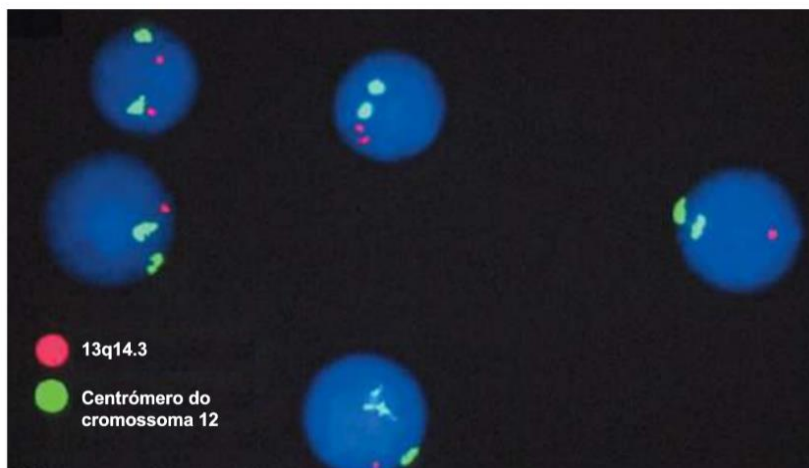


**Figura 15 – Biópsias de gânglios linfáticos de doentes com LLC.** Adaptado de (23, 24)

Esta figura demonstra um padrão de infiltração difuso no gânglio linfático, onde se observam zonas circulares mais claras (setas) nas quais proliferam os linfócitos típicos da LLC (denominadas de pseudofolículos), rodeadas por linfócitos mais escuros, em repouso (a) (8,23). Os pseudofolículos são ricos em linfócitos (setas), prolinfócitos (pontas de seta) e paraimunoblastos (círculos) (b) (24).

### 7.5.3 Outros Testes

Existem outros testes que não são necessários para o diagnóstico da LLC, mas sim para o estabelecimento de um perfil de prognóstico e estadiamento clínico (Tabela 1) (51), bem como para a escolha da terapêutica a instituir (57). A análise FISH (*interphase fluorescence in situ hybridization*) utiliza sondas específicas para detetar as lesões citogenéticas mais comuns nos linfócitos do sangue periférico (Figura 16).



**Figura 16 – Análise FISH.** Adaptado de (10)

Está representada uma análise FISH com uma sonda 13q14, observando-se a ausência de pontos vermelhos em várias células, o que indica del(13q14). Todas as células apresentam duas cópias do cromossoma 12 (padrão normal) (10).

Os **exames de imagem** não são, geralmente, recomendados em doentes assintomáticos. Deste modo, a tomografia computadorizada (TC) é recomendada em doentes sintomáticos, por exemplo com sintomas pulmonares, a fim de excluir a infiltração pulmonar ou derrame pleural por LLC. Além disso, a TC pode ser útil para monitorizar a progressão da doença. A ressonância magnética, a radiografia de tórax ou o ultrassom abdominal são consideradas alternativas à TC, especialmente no doente idoso. A Tomografia por Emissão de Positrões pode orientar para a realização de uma biópsia aos gânglios linfáticos, em caso de suspeita de SR (21,57).

**Tabela 1 - Avaliação inicial de doentes com LLC.** Adaptada de (51)

<b>Testes para estabelecer o diagnóstico</b>
Hemograma e contagem diferencial de leucócitos
Imunofenotipagem dos linfócitos do sangue periférico
<b>Avaliação antes do tratamento</b>
História clínica e exame físico; <i>performance status</i>
Hemograma e contagem diferencial
Aspiração e biópsia da medula óssea *
Doseamento sérico de parâmetros bioquímicos e imunoglobulinas; DAT
Radiografia de tórax
Estado infeccioso
<b>Testes adicionais antes do tratamento</b>
Citogenética molecular (FISH) para a detecção de del(13q), del(11q), del(17p) e trissomia 12, em linfócitos do sangue periférico
Análise convencional do cariótipo em linfócitos do sangue periférico (com estimulação específica) †
Mutação <i>TP53</i>
Estado mutacional dos genes <i>IGHV</i>
$\beta$ 2-microglobulina sérica
TC ao tórax, abdómen e pélvis †
RM; PET †
Ultrassom abdominal ‡

**DAT:** teste da antiglobulina direto; **TC:** tomografia computadorizada; **RM:** ressonância magnética; **PET:** tomografia por emissão de positrões.

\*Quando clinicamente indicado (citopenia de origem pouco esclarecida).

†Geralmente não indicados.

‡Utilizado em alguns países para monitorização da linfadenopatia e organomegalia.

## 7.6 Diagnóstico Diferencial

Geralmente, o diagnóstico da LLC é simples e não apresenta dificuldades, no entanto, a presença de linfocitose leva a dois diagnósticos diferenciais principais (10,31):

- **Condições reativas:** infecções, em que a linfocitose é transitória, não clonal, não apresenta o imunofenótipo característico e não provoca infiltração na medula óssea, excluindo assim a LLC (23,31).
- **Outras doenças linfoproliferativas:** linfomas em fase leucêmica e outras leucemias podem assemelhar-se à LLC. A distinção é baseada em várias avaliações laboratoriais, incluindo a morfologia, a imunofenotipagem, a análise FISH e a biópsia dos gânglios linfáticos envolvidos e da medula óssea (Tabela 2) (10,31).

**Tabela 2 - Diagnóstico diferencial da LLC.** Adaptada de (10, 23)

	Morfologia	Imunofenótipo							Citogenética
		CD5	CD20	CD23	CD10	CD103	SIg	CicD1	
<b>LLC</b>	Pequenos linfócitos circulantes maduros com um núcleo denso (cromatina parcialmente agregada e sem nucléolo proeminente) e citoplasma escasso. Presença de <i>smudge cells</i> . Menos do que 55% das células podem corresponder a prolinfócitos.	+	-/+	+	-	-	-/+	-	del(13q) del(11q) del(17p) Trissomia 12
<b>LCM</b>	Pode ocorrer uma fase leucêmica com pequenos linfócitos circulantes de núcleo irregular.	+	+	-	-	-	+	+	t(11;14)

	Morfologia	Imunofenótipo							Citogenética
		CD5	CD20	CD23	CD10	CD103	Slg	CicD1	
<b>LLP</b>	Linfócitos circulantes com uma aparência plasmocitóide. O envolvimento do sangue periférico é menor do que na LLC.	-	+	-	-	-	+	-	Trissomia 4
<b>LEZM</b>	Os linfócitos circulantes podem assemelhar-se aos da LLC.	-/+	+	-/+	-	-	+	-	del(7q32)
<b>LF</b>	Linfócitos tumorais pequenos, com um padrão de crescimento nodular nos gânglios linfáticos (centrócitos e centroblastos).	-	+	-/+	+/-	-	+	-	t(14; 18)
<b>LPL-B</b>	Mais do que 55% das células circulantes são prolinfócitos.	-/+	+	-/+	-/+	-	+	-	t(11;14) deve ser excluída
<b>HCL</b>	Linfócitos circulantes com um núcleo excêntrico (sem nucléolo proeminente e cromatina reticular) e projeções citoplasmáticas ( <i>hairy cells</i> )	-	+	-	-	+	+	+	t(11;14) ausente

**LLC:** leucemia linfocítica crónica; **LCM:** linfoma das células do manto; **LLP:** linfoma linfoplasmocítico; **LEZM:** linfoma esplénico da zona marginal; **LF:** linfoma folicular; **LPL-B:** leucemia prolinfocítica das células B; **HCL:** tricoleucemia (*hairy cell leukemia*); **Slg:** imunoglobulina de superfície; **Cic D1:** ciclina D1; **del:** deleção; **t:** translocação; **(-/+)** expresso em menos de 50% dos doentes; **(+/-)** expresso na maioria dos doentes.

## 8 Estadiamento Clínico

Existem dois sistemas de estadiamento amplamente aceites, Rai e Binet, sendo úteis para conhecer o prognóstico e decidir sobre a terapêutica a instituir (7,13). Estes sistemas determinam a extensão da doença, baseando-se no conceito de que as células da LLC se acumulam primeiramente no sangue e medula óssea, posteriormente nos gânglios linfáticos e baço, e eventualmente na medula óssea, levando a falência medular (10). Deste modo, são sistemas simples, baratos e que dependem unicamente de um exame físico (envolvimento dos nódulos linfáticos, baço ou fígado) e laboratorial (anemia ou trombocitopenia), sem necessidade de exames de imagem. Ambos descrevem três subgrupos de doentes com diferente prognóstico (7,57).

### 8.1 Sistema de Rai

A classificação de Rai modificada estratifica os doentes em três grupos de risco: doença de baixo risco (estadio 0), risco intermédio (estadio I-II) elevado (estadio III-IV), com um tempo médio de sobrevivência de 150 meses, 71-101 meses e 19 meses, respetivamente (Tabela 3) (57). A classificação de Rai original apresentava cinco grupos de risco, tendo sido posteriormente reduzidos para três (7).

**Tabela 3 – Sistema de classificação de Rai modificada.** Adaptada de (21,51,57)

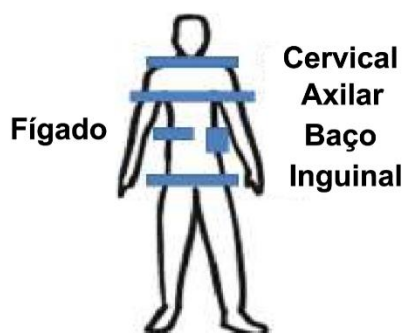
Estadio	Descrição	Grupo de Risco
0	Linfocitose Linfócitos B clonais $>5 \times 10^9/L$ no sangue periférico e/ou $>40\%$ na medula óssea	Baixo
I	Linfocitose + Linfadenopatias	Intermédio
II	Linfocitose + Esplenomegalia e/ou Hepatomegalia, com ou sem Linfadenopatias	
III	Linfocitose + Hemoglobina $<11$ g/dL, com ou sem Linfadenopatias/ Organomegalia	Elevado
IV	Linfocitose + Plaquetas $<100 \times 10^9/L$ , com ou sem Linfadenopatias/ Organomegalia/ Anemia	

## 8.2 Sistema de Binet

O sistema de Binet estratifica os doentes em 3 grupos de diferente prognóstico (A, B e C) de acordo com o número de áreas linfoides envolvidas (linfadenopatia cervical, axilar e inguinal, esplenomegalia, hepatomegalia) (Figura 17) e os níveis séricos de hemoglobina e plaquetas (Tabela 4) (31,57).

**Tabela 4 – Sistema de classificação de Binet.** Adaptada de (31,57)

Estadio	Descrição
A	Ausência de anemia (hemoglobina $\geq 10$ g/dL) Ausência de trombocitopenia (plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$ ) Menos do que 3 áreas linfoides envolvidas
B	Ausência de anemia (hemoglobina $\geq 10$ g/dL) Ausência de trombocitopenia (plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$ ) 3 ou mais áreas linfoides envolvidas
C	Anemia (hemoglobina $< 10$ g/dL) e/ou Trombocitopenia (plaquetas $< 100 \times 10^9/L$ ), independente do número de áreas linfoides envolvidas



**Figura 17 – Áreas linfoides do sistema de Binet.** Adaptado de (10)

## 9 Prognóstico

A sobrevivência média dos doentes com LLC aumentou nos últimos anos, sendo atualmente cerca de 10 anos. O prognóstico individual, contudo, é heterogêneo, variando de alguns meses a uma longevidade normal (10).

Os **sistemas de estadiamento clínico** utilizados na LLC estratificam os doentes de acordo com o risco da doença (51). No entanto, estão disponíveis marcadores adicionais que fornecem informação prognóstica independentemente do estadiamento clínico, sendo úteis para estimar o risco individual da progressão da doença e, conseqüentemente, para a determinação das opções terapêuticas adequadas (7,8).

Parâmetros comumente associados a um pior prognóstico são: **sexo** masculino; **idade** igual ou superior a 65 anos; mau **performance status**, devido a comorbidades; presença de linfadenopatias em múltiplos locais, hepatoesplenomegalia, anemia e trombocitopenia (6,24).

Vários estudos constataram que marcadores serológicos como os níveis de CD23 solúvel, timidina cinase e  $\beta$ 2-microglobulina apresentam uma associação com a sobrevivência global (SG) ou a sobrevivência livre de progressão (SLP) (51). Destes, a  **$\beta$ 2-microglobulina** apresenta um valor prognóstico independente, sendo que níveis elevados deste marcador predizem uma resposta reduzida à terapêutica e uma SG curta. No entanto, os seus níveis também podem estar aumentados devido a função renal alterada (10).

A expressão de marcadores como o **CD38** (proteína de superfície celular envolvida na interação com o microambiente) e o **ZAP-70** (cinase intracelular), pelas células leucémicas, correlaciona-se com a expressão de genes *IGHV* não mutados, podendo estar associada a um mau prognóstico. O **CD49d**, a subunidade alfa da integrina do recetor VLA-4, é o preditor imunofenotípico mais forte da SG e da sobrevivência sem tratamento, tendo sido associado a um prognóstico desfavorável (31,51).

O **tempo de duplicação linfocitária** (TDL) é definido como o número de meses necessários para a duplicação da contagem absoluta de linfócitos (6). Um TDL inferior a 12 meses está associado à progressão da doença e, quanto mais curto for, pior o prognóstico (10,31).

O **estado mutacional dos genes *IGHV*** possui um importante valor prognóstico por si, independentemente de outros parâmetros. Enquanto que os doentes com os genes mutados apresentam uma doença indolente, sem necessidade

de tratamento e bom prognóstico, os que possuem os genes não mutados encontram-se em maior risco de apresentarem mutações genéticas desfavoráveis, pelo que tendem a desenvolver uma doença mais agressiva, com respostas inadequadas à terapêutica e uma sobrevivência curta (10,21). Além disso, a presença de genes *IGHV* mutados, na ausência de alterações nos genes *TP53* e *ATM*, caracteriza um subgrupo de doentes com excelente *outcome* e uma remissão duradoura com fludarabina, ciclofosfamida e rituximab (FCR) (3,51).

Relativamente a alterações citogenéticas, a **del(13q)**, quando isolada, está associada a um prognóstico favorável e à sobrevivência média mais longa (133 meses). A **del (11q)** está associada a linfadenopatia extensa, progressão da doença e a uma sobrevivência média mais curta (79 meses). A **del(17p)**, está associada a uma redução do tempo até ao primeiro tratamento e a uma sobrevivência média curta (32 meses) (57). A **del(17p)/mutação TP53** é o único marcador utilizado para a seleção entre quimioimunoterapia ou terapêutica dirigida, sendo o preditor mais forte de LLC refratária à quimioterapia (53). O prognóstico destes doentes melhorou significativamente com a introdução dos inibidores das cinases e do venetoclax (21,57). A **trissomia 12** está associada a uma evolução clínica menos favorável e a uma sobrevivência curta (31). A presença de um **cariótipo complexo** está fortemente associada a alterações no gene *TP53*, mas demonstrou ser um fator de prognóstico independente para uma SG mais baixa (38).

Mutações nos genes *NOTCH1*, *SF3B1*, *BIRC3* e *RPS15* estão associadas a um prognóstico desfavorável, na ausência de eliminação/mutação do gene *TP53* (21). No entanto, o seu estudo em ensaios clínicos adicionais é necessário para a validação do seu valor prognóstico e preditivo (51). Mutações no gene **NOTCH1** identificam um grupo de doentes com uma SG desfavorável e maior probabilidade de desenvolvimento de SR. Estes doentes parecem não beneficiar da adição de um anticorpo monoclonal anti-CD20 à quimioterapia, o que pode ser explicado pela redução da expressão superficial de CD20 pelas células leucémicas portadoras desta mutação (26,39). Por outro lado, a presença de mutações no gene **SF3B1** correlaciona-se com uma redução do tempo até ao primeiro tratamento e SG desfavorável. Por último, mutações no gene **BIRC3** parecem estar associadas a uma SG mais curta, estadios clínicos avançados e doença quimio refratária (26).

O *score* prognóstico mais relevante, atualmente, é o **Índice Prognóstico Internacional da LLC** (CLL-IPI). O CLL-IPI foi amplamente validado e visa reduzir a vasta informação prognóstica disponível em alguns parâmetros clinicamente relevantes e essenciais (7,21). Este índice utiliza cinco fatores de prognóstico

independentes - a eliminação e/ou mutação do gene *TP53*, o estado mutacional dos genes *IGHV*, a  $\beta$ 2-microglobulina sérica, o estadió clínico e a idade - estratificando os doentes em quatro grupos distintos com diferente SG: baixo risco, risco intermédio, risco elevado, e risco muito elevado (Tabela 5). Adicionalmente, prevê o tempo até ao primeiro tratamento em doentes recentemente diagnosticados, mas também identifica, com mais precisão do que o estadiamento clínico, os doentes sem necessidade de tratamento (7,54,55). No entanto, com a crescente utilização de terapêutica dirigida como tratamento de primeira linha, independentemente do perfil de risco do doente, o valor prognóstico do CLL-IPI terá de ser revisto (7,21).

**Tabela 5 – Os 4 subgrupos do CLL-IPI.** Adaptada de (7)

<b>Subgrupo</b>	<b>Sobrevivência global</b>	<b>Consequência clínica potencial</b>
Baixo risco	93,2%	Não requer tratamento
Risco intermédio	79,3%	Não requer tratamento, exceto se doença sintomática
Risco elevado	63,3%	Tratamento indicado, exceto se doença assintomática
Risco muito elevado	23,3%	Tratamento preferencial com terapêutica dirigida em vez de quimioterapia

# 10 Terapêutica

## 10.1 Controlo da Doença Assintomática

O diagnóstico da LLC não implica necessariamente o início de terapêutica (10). Doentes assintomáticos que apresentem a doença num estadio inicial (Rai 0 ou Binet A), devem ser monitorizados sem necessidade de tratamento. Até à data, estudos relativos à fase inicial da LLC não demonstraram benefício na intervenção terapêutica precoce (7,51).

Deste modo, a abordagem *standard* nestes doentes incide na sua vigilância até evidência de progressão da doença ou aparecimento de sintomas que justifiquem o início de terapêutica, conhecida por estratégia *watch-and-wait*. Deve ser realizada uma contagem de células sanguíneas completa e um exame físico para deteção de linfadenopatia e esplenomegalia, a cada 3-12 meses (21,24,51). Os doentes devem ainda ser advertidos para a identificação de sinais e sintomas de infeção, bem como para o rastreio de neoplasias não hematológicas (33).

## 10.2 Critérios para Iniciar a Terapêutica

Doentes com doença de risco intermédio (estadio I-II de Rai) e de alto risco (estadio III-IV de Rai) ou estadio B-C de Binet, beneficiam geralmente de início de tratamento. Contudo, alguns doentes com doença de risco intermédio ou estadio B de Binet e ausência de doença ativa, podem ser monitorizados sem iniciar terapêutica (21,51).

De acordo com as *guidelines* do IWCLL, quando a doença progride ou os doentes apresentam doença sintomática/ativa, o tratamento deve ser iniciado, independentemente do grupo de risco atribuído pelo CLL-IPI. A doença ativa é definida como (pelo menos um dos seguintes critérios deve ser cumprido) (7,33,51):

- Falência progressiva da medula óssea: aparecimento ou agravamento de **anemia** (hemoglobina <10 g/dL) e/ou **trombocitopenia** (contagem de plaquetas <100.000/ $\mu$ L);
- **Doença volumosa**: esplenomegalia significativa ( $\geq 6$  cm abaixo da margem costal esquerda) progressiva ou sintomática, ou linfadenopatia significativa (diâmetro  $\geq 10$  cm) progressiva ou sintomática;

- **Tempo de duplicação linfocitária** inferior a 6 meses ou linfocitose progressiva com um aumento  $\geq 50\%$  em 2 meses (só se a contagem de linfócitos inicial for  $> 30.000/\mu\text{L}$ );
- **Complicações autoimunes**, incluindo anemia ou trombocitopenia, que não respondem a corticosteroides;
- **Envolvimento extra-nodal** sintomático ou funcional (pele, rim, pulmão, coluna vertebral);
- Sintomas relacionados com a doença: **perda de peso** involuntária ( $> 10\%$  em 6 meses), **fadiga significativa** (*performance status*  $\geq 2$ ), **febre** ( $\geq 38,0^\circ\text{C}$  durante  $\geq 2$  semanas, sem indícios de infeção), **suores noturnos** (durante  $\geq 1$  mês, sem evidência de infeção).

### 10.3 Critérios de Resposta à Terapêutica

As *guidelines* do IWCLL definem critérios para a avaliação da resposta clínica ao tratamento e propõem cinco categorias de resposta: remissão completa (RC), remissão parcial (RP), doença estável (DE), progressão da doença (PD) e doença refratária (DR) (12). Para a avaliação da resposta é necessário um exame físico e um exame ao sangue e medula óssea (51).

A **RC** requer o desaparecimento completo da doença a nível clínico, isto é, a normalização da contagem de células sanguíneas, resolução da linfadenopatia e esplenomegalia, e uma função medular normal. Numa **RP** ocorre apenas uma redução de 50% da carga tumoral (organomegalias) e da contagem de células sanguíneas anormal. Por outro lado, a **PD** diz respeito à progressão dos sinais e sintomas, com um aumento de 50% da carga da doença. Quando não ocorrem alterações no estado clínico, em que não é alcançada uma RP, nem ocorre PD, diz-se que o doente apresenta **DE** (Tabela 6) (10,24,31). Por fim, a **DR** é definida pela falha do tratamento ou progressão da doença nos 6 meses seguintes ao último dia de tratamento (51). Assim, respostas clinicamente benéficas incluem a RC e RP, enquanto que a DE e PD são consideradas como falha do tratamento (31).

**Tabela 6 – Critérios de resposta após o tratamento de doentes com LLC.** Adaptada de (51,57)

Parâmetro	RC	RP	PD	DE
<b>Grupo A</b>				
Nódulos Linfáticos	Nenhum $\geq 1.5$ cm	Redução $\geq 50\%$	Aumento $\geq 50\%$	Alteração de -49% para +49%
Tamanho do fígado e/ou baço	Baço $< 13$ cm; Fígado normal	Redução $\geq 50\%$	Aumento $\geq 50\%$	Alteração de -49% para +49%
Sintomas constitucionais	Nenhum	Qualquer um	Qualquer um	Qualquer um
Contagem de linfócitos	Normal	Redução $\geq 50\%$	Aumento $\geq 50\%$	Alteração de -49% para +49%
<b>Grupo B</b>				
Contagem de plaquetas	$\geq 100,000/\mu\text{L}$	$\geq 100,000/\mu\text{L}$ ou aumento $\geq 50\%$	Redução $\geq 50\%$	Alteração de -49% para +49%
Hemoglobina	$\geq 11\text{g/dL}$	$\geq 11\text{ g/dL}$ ou aumento $\geq 50\%$	Redução $\geq 2\text{g/dL}$	Aumento $< 11\text{ g/dL}$ , ou $< 50\%$ , ou redução $< 2\text{g/dL}$
Medula Óssea	Normocelular; Linfócitos típicos da LLC e nódulos linfóides ausentes	Linfócitos típicos da LLC ou nódulos linfóides presentes	Aumento dos linfócitos típicos da LLC $\geq 50\%$ em biópsias sucessivas	Ausência de alterações na infiltração da medula óssea
Neutrófilos	$\geq 1500/\mu\text{L}$	$\geq 1500/\mu\text{L}$ ou aumento $\geq 50\%$	-	-

**Grupo A:** parâmetros que avaliam a carga tumoral linfóide e os sintomas constitucionais; **Grupo B:** parâmetros que avaliam o funcionamento do sistema hematopoiético; **RC:** todos os critérios têm de ser cumpridos; **PD:** pelo menos 1 critério do grupo A ou B tem de ser cumprido; **RP:** pelo menos 2 parâmetros do grupo A e 1 parâmetro do grupo B têm de apresentar melhorias, se anteriormente anormais; se apenas 1 parâmetro de ambos os grupos se encontra anormal, apenas é necessária a melhoria de 1 destes; **DE:** todos os critérios têm de ser cumpridos.

A erradicação completa da leucemia é um final desejado. Em ensaios clínicos, recomenda-se a medição da **doença residual mínima (DRM)**, definida como menos do que 1 célula da LLC por 10.000 células no sangue ou medula, em doentes que alcançaram a RC. Assim, existem dois tipos de RC: DRM- e DRM+ (10,37,51).

Ensaio clínicos recentes demonstraram que a obtenção de uma DRM indetetável no sangue periférico após o final do tratamento é preditiva de uma sobrevivência livre de progressão e uma sobrevivência global mais longas, constituindo, assim, um importante preditor da eficácia do tratamento (31,57). No entanto, a avaliação da DRM ainda não é recomendada como prática de rotina na avaliação da resposta clínica, para além dos ensaios clínicos (21).

## 10.4 Opções Terapêuticas Atuais

A LLC continua a ser maioritariamente uma doença incurável, pelo que o objetivo terapêutico consiste em melhorar a qualidade de vida e prolongar a sobrevivência (21). Na última década, observou-se uma grande evolução no tratamento da LLC. Este inclui a quimioterapia convencional, a combinação de quimioterapia e imunoterapia, ou fármacos com ação dirigida (Figura 18) (24).

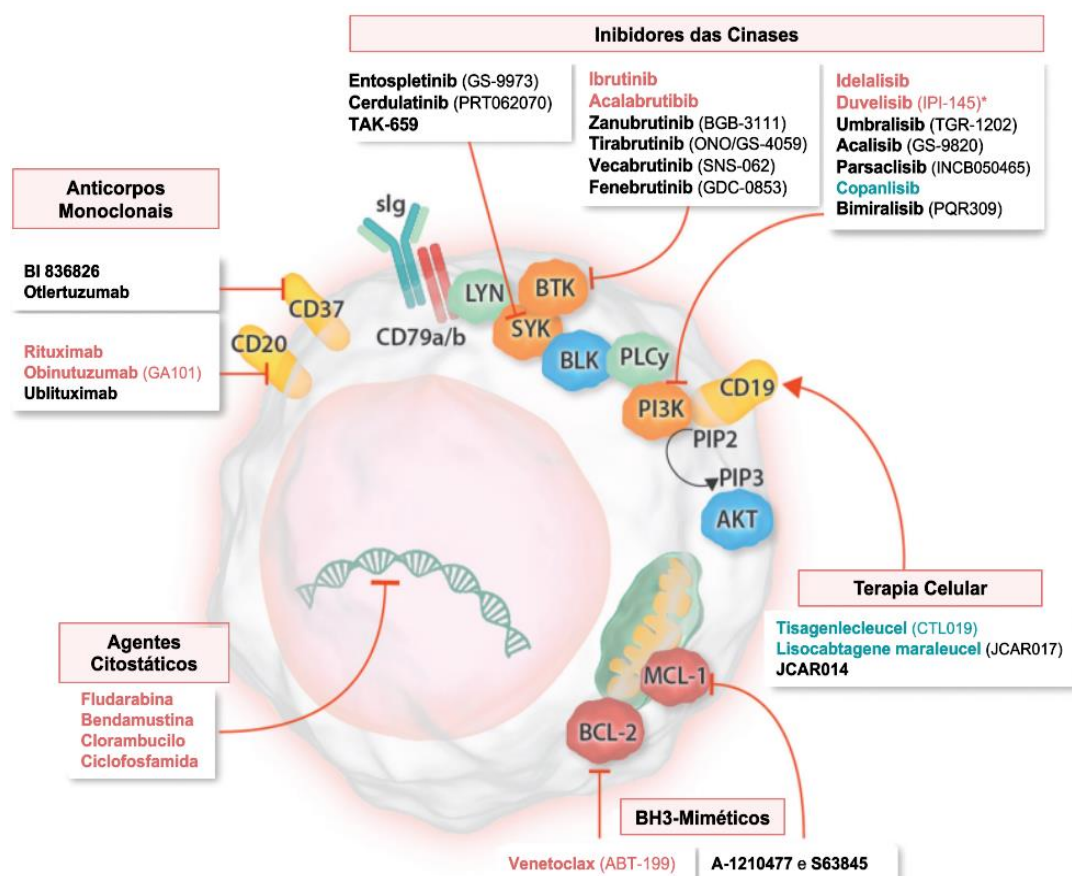


Figura 18 – Representação esquemática de uma célula da LLC com classificação dos fármacos (aprovados e experimentais) e respetivos alvos terapêuticos. Adaptado de (9)

Os nomes dos fármacos com aprovação para o tratamento da LLC encontram-se a vermelho, os aprovados para outras indicações encontram-se a azul e os que se encontram em desenvolvimento clínico encontram-se a preto; \* o duvelisib foi aprovado para o tratamento da LLC pela FDA (*Food and Drug Administration*) mas não pela EMA (Agência Europeia do Medicamento); **AKT**: proteína cinase B; **BCL-XL**: *B-cell lymphoma-extra large*; **BLK**: cinase de linfócitos B; **LYN**: *novel tyrosine kinase*; **MCL-1**: *induced myeloid leukemia cell differentiation protein Mcl-1*; **PD-1**: proteína da morte celular programada 1; **PIP2**= fosfatidilinositol (4,5)-bifosfato; **PIP3**: fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato; **PLC**: fosfolipase C; **slg**: imunoglobulina de superfície (9).

## 10.4.1 Quimioterapia Convencional

### 10.4.1.1 Agentes Alquilantes

Os **agentes alquilantes** (clorambucilo, bendamustina e ciclofosfamida) provocam a danificação do DNA, através da ligação de um grupo alquilo às bases de guanina do DNA. O **clorambucilo** foi considerado, durante décadas, o fármaco “*gold standard*”, particularmente em doentes incapazes de suportar tratamentos mais agressivos (7,8,10). Apresenta como vantagens a sua baixa toxicidade, baixo custo e a conveniência da administração oral; as desvantagens incluem as reduzidas taxas de RC e efeitos secundários decorrentes do seu uso prolongado (citopenias, mielodisplasia e leucemia aguda secundária). Atualmente, o clorambucilo pode ser uma opção útil em doentes idosos ou incapacitados. Quando comparada com o clorambucilo, a **bendamustina** demonstrou taxas de resposta mais elevadas e uma sobrevivência livre de progressão (SLP) mais longa, mas maior toxicidade e nenhum benefício na sobrevivência global (SG), sendo raramente usada em monoterapia atualmente. Os agentes alquilantes continuam a ser úteis em certos doentes, particularmente em combinação com anticorpos anti-CD20 (7,8).

### 10.4.1.2 Análogos das Purinas

Os **análogos das purinas** (fludarabina, pentostatina e cladribina) interferem com a síntese e reparação do DNA, mas também na expressão génica, ao serem incorporados no DNA e RNA de células que se encontram, ou não, em divisão (8,24). Destes, a **fludarabina** é o mais utilizado, produzindo, em monoterapia, taxas de resposta superiores a outros tratamentos contendo agentes alquilantes ou corticosteroides, e mais RCs que outras quimioterapias convencionais. No entanto, não melhora a SG isoladamente. Similarmente, a monoterapia com **cladribina** produz

taxas de RC mais elevadas que a conjugação clorambucilo-prednisolona, mas não demonstra uma sobrevivência mais longa (7,8). A desvantagem da terapêutica com os análogos das purinas é a sua mielotoxicidade e efeitos imunossupressores, sendo comum o aparecimento de febre e infecções bacterianas, por herpesvírus e oportunistas (10,42,43,44).

## 10.4.2 Imunoterapia

### 10.4.2.1 Anticorpos Monoclonais Anti-CD20

Os anticorpos monoclonais anti-CD20 ligam-se a regiões específicas do antígeno CD20, expresso na superfície dos linfócitos B maduros malignos, levando à ativação da citotoxicidade dependente do complemento (CDC) e da citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC), orientadas contra as células que expressam o CD20 (Figura 19) (7,59).

Os anticorpos monoclonais de primeira geração, rituximab e ofatumumab, promovem eficazmente a citotoxicidade mas são menos eficazes na indução da apoptose, enquanto que se verifica o oposto com o anticorpo de segunda geração, obinutuzumab (60). Atualmente, estes agentes são utilizados quer em combinação com quimioterapia, quer com fármacos de ação dirigida (59).

O **rituximab** apresenta menor atividade em monoterapia, a menos que seja utilizado em doses muito elevadas. Em contraste, a sua combinação com quimioterapia demonstrou elevada eficácia (7).

O **ofatumumab** é um anticorpo humanizado que se liga a um epítopo distinto do reconhecido pelo rituximab, o que resulta num aumento da afinidade de ligação ao CD20 e numa CDC mais forte, mas uma ADCC semelhante, especialmente em células que expressam baixos níveis de CD20. Este anticorpo parece apresentar um maior benefício quando utilizado na fase inicial da doença e o seu perfil de toxicidade é semelhante ao do rituximab. Em 2019, foi retirada a autorização de comercialização do ofatumumab na União Europeia por razões comerciais, sendo que, atualmente, já não apresenta indicação para a LLC (7,8,9,61).

Comparativamente ao rituximab, o **obinutuzumab** induz uma morte celular direta de células B e uma ADCC mais fortes, em virtude da sua maior afinidade de ligação ao CD20. Atualmente, o obinutuzumab é o anticorpo anti-CD20 mais eficaz em doentes anteriormente não tratados, contudo, está associado a uma maior taxa de

efeitos adversos, pelo que pode ser preferível o uso de anticorpos de primeira geração em doentes mais frágeis (9).

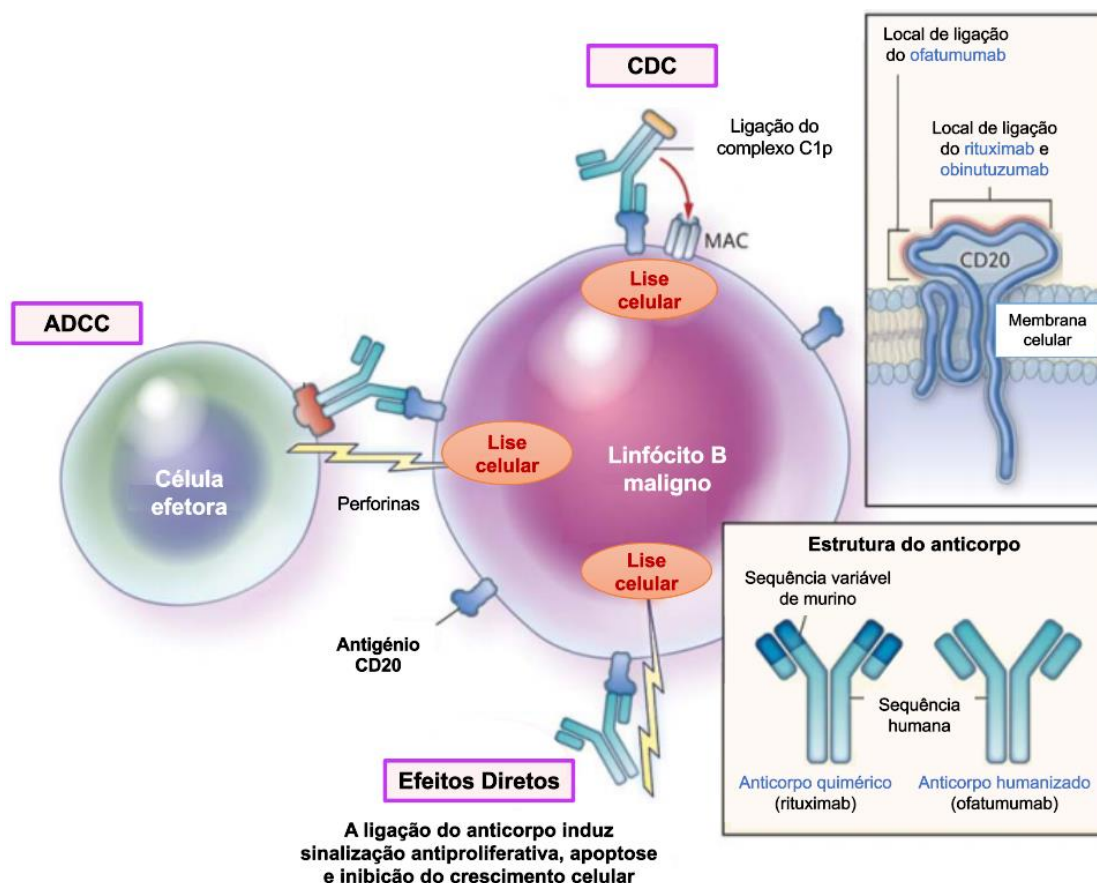


Figura 19 – Mecanismo de ação dos anticorpos anti-CD20. Adaptado de (62)

**C1p**: primeiro componente do complemento; **MAC**: complexo de ataque à membrana; **Célula efetora**: célula NK ou macrófago (62).

#### 10.4.2.2 Outros Anticorpos Monoclonais

O **alemtuzumab** é um anticorpo recombinante, totalmente humanizado, anti-CD52, uma proteína altamente expressa à superfície dos linfócitos B e T, normais e malignos. O alemtuzumab demonstrou induzir respostas em doentes com LLC avançada em recaída após fludarabina, sendo estas respostas superiores no sangue periférico e medula óssea comparativamente ao baço ou gânglios linfáticos. Além disso, o alemtuzumab é eficaz em doentes que apresentem fatores de mau prognóstico (del(11q), del(17p)) e mutações TP53). Relativamente à sua toxicidade, destaca-se a ocorrência de infeção. Atualmente, o acesso a este fármaco só é

possível através de um programa internacional de uso compassivo. Assim, o seu papel na LLC está a diminuir devido à disponibilidade de novos agentes mais eficazes (7,10,63).

### 10.4.3 Quimioimunoterapia

A adição de anticorpos anti-CD20 à quimioterapia demonstrou prolongar a sobrevivência. Assim, a quimioimunoterapia tornou-se a terapêutica padrão da LLC antes da introdução dos novos agentes com ação dirigida (37). A conveniência desta associação deve-se à escassa sobreposição de toxicidades e à indução da morte celular por diferentes mecanismos, parecendo existir sinergismo. Assim, células malignas que sejam resistentes a um mecanismo podem ser suscetíveis a outro (63).

#### 10.4.3.1 Quimioimunoterapia usando Rituximab

Na LLC, verificou-se sinergismo entre a **fludarabina** e a **ciclofosfamida**, mas a adição de **rituximab (FCR)** originou um regime terapêutico ainda mais eficaz. Assim, FCR foi o primeiro regime a induzir RCs numa grande proporção de doentes, proporcionando uma melhoria significativa na SLP e, pela primeira vez na terapêutica da LLC, um benefício na SG (8,37,60).

Presentemente, o tratamento com FCR é considerado o *gold standard* para doentes com uma boa condição física e sem alteração da função renal, sendo que os que apresentam os genes *IGHV* mutados beneficiam mais desta terapêutica (4,9,60). Contrariamente, este regime não melhorou a sobrevivência na doença de alto risco (del(17), del(11q), *IGHV* não mutado), originando remissões mais curtas (7,37).

A obtenção de uma DRM indetetável após o tratamento com FCR é, também, um forte preditor de remissões duradouras, o que pode conduzir à interrupção precoce do tratamento, com o objetivo de reduzir a exposição à quimioterapia e, consequentemente, reduzir o risco de neoplasias secundárias, leucemia mieloide aguda secundária ou síndrome mielodisplásica (8). Por outro lado, também foi criado um regime FCR com doses reduzidas de fludarabina e ciclofosfamida, mas com um aumento da dose de rituximab, de modo a diminuir a toxicidade, mas mantendo elevadas taxas de resposta global e de RC (7).

O tratamento com FCR não é bem tolerado por doentes com idade superior a 65 anos ou com comorbilidades, pela sua toxicidade (59). Existe um regime

alternativo, composto por **bendamustina** e **rituximab (BR)**, com uma SG semelhante, mas com uma SLP mais curta e menor eficácia em doentes jovens. Contrariamente, BR não demonstrou ser inferior no grupo etário acima dos 65 anos, no qual é considerado o regime preferencial pela menor ocorrência de neutropenia e infeção (8,9)

#### 10.4.3.2 Quimioimunoterapia usando Obinutuzumab

Os regimes FCR e BR não são indicados em doentes mais frágeis, com várias comorbilidades, devido à sua toxicidade (59). A associação de **obinutuzumab** com **clorambucilo (CLBO)**, demonstrou eficácia superior à combinação rituximab-clorambucilo neste tipo de doentes. Apesar das reações adversas relacionadas com a infusão e da neutropenia serem mais comuns com o obinutuzumab comparativamente a rituximab, o risco de infeção não foi superior (8,60). Deste modo, a EMA aprovou o CLBO como tratamento de primeira linha em doentes com comorbilidades que não tolerem terapêuticas baseadas em fludarabina (9,64).

#### 10.4.3.3 Quimioimunoterapia usando Ofatumumab

Um ensaio randomizado revelou o benefício da associação **ofatumumab-clorambucilo** na terapêutica de primeira linha em doentes não elegíveis para terapêutica baseada em fludarabina, revelando uma boa tolerabilidade e uma extensão relevante da SLP, em comparação com o clorambucilo (7,8,9).

#### 10.4.3.4 Quimioimunoterapia usando Alemtuzumab

A combinação **fludarabina-alemtuzumab (FA)** demonstrou uma melhoria significativa da SLP, da taxa de RC, e da SG em doentes com LLC em recaída/refratária, comparativamente à fludarabina. No entanto, o uso deste regime na LLC em recaída foi substituído pelos novos inibidores das cinases (7,65).

A combinação de **fludarabina-ciclofosfamida** com **alemtuzumab** revelou taxas de infeção e de mortalidade inaceitavelmente elevadas, não devendo ser utilizada fora de ensaios clínicos. A adição de **alemtuzumab** ao regime **FCR** não melhorou significativamente as taxas de resposta global, enquanto que aumentou a toxicidade medular e complicações infecciosas (7,31).

A combinação **alemtuzumab-rituximab** também tem sido avaliada em doentes com LLC em recaída/refratária, tendo produzido uma taxa de resposta global superior face ao alemtuzumab (7).

#### **10.4.4 Terapêutica Dirigida a Alvos Moleculares**

Os conhecimentos da biologia da LLC têm vindo a ser aprofundados e revelaram a importância da sinalização do BCR e da regulação positiva de proteínas anti-apoptóticas para a sobrevivência e expansão das células B malignas, bem como a dependência dos gânglios linfáticos e do microambiente medular para sobreviverem. Assim, foram desenvolvidos novos agentes dirigidos a alvos moleculares envolvidos nestas vias, que revolucionaram o tratamento da LLC (9,14,66).

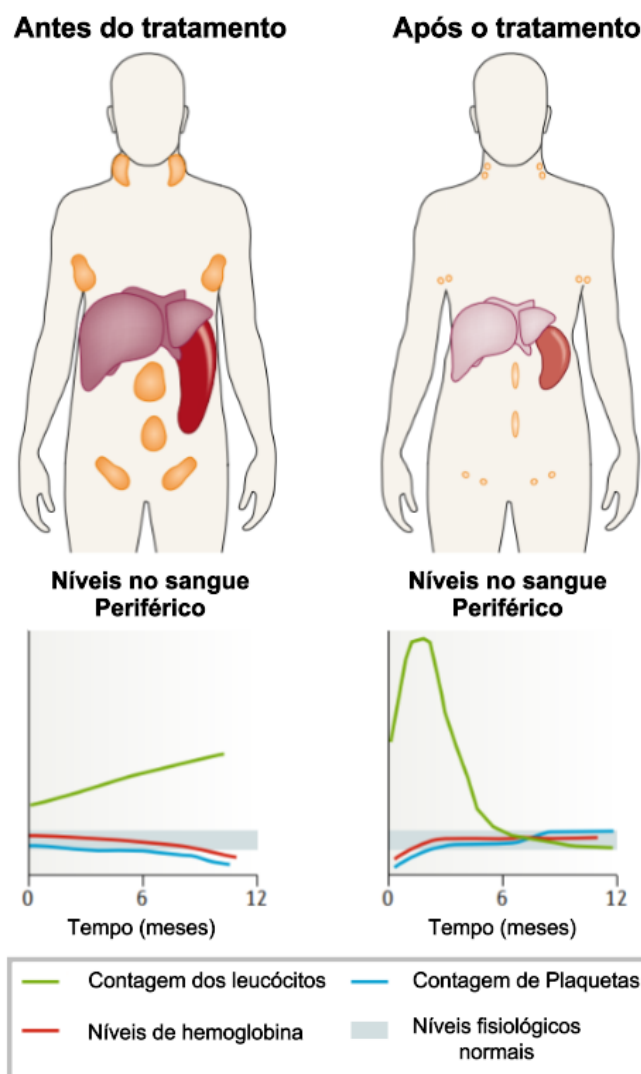
A maior sobrevivência demonstrada com os novos agentes levou ao declínio do uso da quimioimunoterapia, sendo amplamente administrados na LLC refratária/recidivante, levando a respostas sustentadas, mesmo em doentes com mutações *TP53* ou *del(17p)*, os quais apresentam uma resposta pouco satisfatória à quimioimunoterapia (9,37,67).

##### **10.4.4.1 Inibidores das Cinases**

A ativação contínua ou repetitiva da via de sinalização do BCR é suportada por diferentes cinases, contribuindo para a sobrevivência das células da LLC. Assim, a inibição desta via, tendo como alvo terapêutico estas cinases, permite a apoptose, inibição da proliferação e alteração do tráfego destas células (7,32).

As cinases BTK, PI3K e SYK, para além de participarem na sinalização BCR, também transmitem sinais a partir de recetores das quimiocinas (CXCR4 e CXCR5) e integrinas, que regulam a migração e retenção das células leucémicas nos órgãos linfoides secundários. Assim, a inibição destas cinases causa a mobilização das células leucémicas dos órgãos linfoides secundários para o sangue periférico, ocorrendo uma rápida resolução da linfadenopatia e da esplenomegalia. Consequentemente, ocorre um aumento transitório da contagem de células leucémicas no sangue periférico ("linfocitose de redistribuição"), normalmente assintomática, com resolução durante os primeiros 8 meses de terapêutica (Figura 20) (8,9,37).

Os inibidores das cinases são normalmente administrados diariamente, por via oral. A monoterapia com estes agentes induz maioritariamente remissões parciais, mantidas com a continuação da terapêutica até ocorrência de toxicidade, progressão da doença ou aparecimento de resistências. Em contraste com a quimioimunoterapia, estes agentes não são mielossupressores e produzem respostas satisfatórias em doentes de alto risco e refratários à quimioterapia (3,8,9,37).



**Figura 20 – Resposta característica dos doentes com LLC ao tratamento com os inibidores das cinases.** Adaptado de (8)

Após o início do tratamento, ocorre uma linfocitose de redistribuição. Posteriormente, a contagem absoluta de linfócitos e plaquetas e os níveis de hemoglobina normalizam à medida que os doentes atingem a remissão. Nas primeiras semanas de tratamento, o volume dos órgãos envolvidos (fígado, gânglios linfáticos e baço) diminui, retornando às suas dimensões fisiologicamente normais (8).

#### 10.4.4.1.1 Ibrutinib

O ibrutinib é um inibidor da BTK de primeira geração que, ao inibir irreversivelmente a BTK, promove a diminuição da sobrevivência e proliferação das células malignas, e bloqueia a secreção de quimiocinas pelas mesmas (9,37,59). A maioria dos doentes com LLC (>85%) responde ao ibrutinib, independentemente dos fatores de risco clínicos e genéticos ou da linha terapêutica (8).

O ensaio **RESONATE** (fase 3) esteve na origem da aprovação do ibrutinib em monoterapia para o tratamento de doentes com LLC refratária/recidivante, pela melhoria significativa das taxas de resposta, da SLP e da SG em comparação com ofatumumab, sendo que o risco de morte foi reduzido em 64% (37,68). O ensaio **HELIOS** (fase 3) suportou o uso de ibrutinib em combinação com BR na LLC previamente tratada (4,9).

A utilização de ibrutinib como terapêutica de primeira linha é suportada pelo ensaio **RESONATE-2** (fase 3), que demonstrou superioridade terapêutica do ibrutinib face ao clorambucilo, em doentes com 65 anos ou mais. Foram alcançadas taxas de resposta e uma SLP superiores, bem como uma melhoria significativa da SG, independentemente do estado mutacional dos genes *IGHV*. Adicionalmente, outros estudos (**ECOGACRIN**, **ALLIANCE** e **iLLUMINATE**) demonstraram a superioridade de combinações de ibrutinib com anticorpos anti-CD20, como terapêutica de primeira linha, face à quimioimunoterapia (9,37,67).

São diversas as situações associadas à interrupção da terapêutica com este fármaco. Primeiramente, os efeitos secundários não hematológicos, resultantes de efeitos *off-target*: diarreia, mialgias, artralgias e contusões. Adicionalmente, está também associado a: infeções, incluindo infeções fúngicas invasivas (*Pneumocystis jiroveci*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*) e reativação do vírus da hepatite B, acontecimentos hemorrágicos major, toxicidade cardíaca, particularmente hipertensão arterial e fibrilhação auricular (4,37,42,43,44,66,69). Em segundo lugar, o aparecimento de resistências, maioritariamente devido à aquisição de mutações no gene *BTK*, que impedem a ligação covalente do ibrutinib à BTK, ou no gene *PLCG2*, que permitem a ativação autónoma do BCR. Infelizmente, outros inibidores da BTK são inativos contra estas mutações e estas não são detetadas antes do início da terapêutica. Assim, a introdução destes agentes na terapêutica da LLC está a mudar a genética da doença (7,9,39,66).

#### 10.4.4.1.2 Idelalisib

O idelalisib é um inibidor reversível e seletivo da PI3K, altamente expressa nas células B malignas (7,8,59). Esta inibição resulta na apoptose das células tumorais malignas, enquanto que as células T e NK não são afetadas. Além disso, inibe a quimiotaxia das células tumorais, mediada pelas quimiocinas CXCL12 e CXCL13. (4,59).

O idelalisib encontra-se aprovado, em combinação com rituximab, para o tratamento de doentes com recidiva ou como tratamento de primeira linha na presença de del(17p) ou mutação *TP53*. Num primeiro ensaio, em doentes com recidiva não elegíveis para agentes citotóxicos, a combinação idelalisib-rituximab demonstrou uma taxa de resposta, SLP e SG significativamente superiores a rituximab. Num segundo estudo, com doentes não tratados previamente, 97% responderam à combinação idelalisib-rituximab, sendo que nos que apresentavam del(17p) ou mutação *TP53*, a taxa de resposta foi de 100%. As taxas de SLP e SG aos 36 meses foram de 83% e 90%, respetivamente (9,70).

Foram descritos efeitos secundários autoimunes (hepatite, colite e pneumonia) e infeções bacterianas, fúngicas (pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*; *Aspergillus*) e virais (reativação do citomegalovírus; vírus herpes simplex) (37,42,43,44,68). Note-se que estes eventos ocorrem mais frequentemente em doentes não tratados e, por esta razão, este fármaco deve ser evitado no tratamento de primeira linha, sendo reservado para doentes com contra-indicações ou intolerantes ao ibrutinib, ou cuja doença progrediu durante o tratamento com um inibidor da BTK (8,9,68).

#### 10.4.4.1.3 Acalabrutinib

O Acalabrutinib é um inibidor irreversível da BTK de segunda geração, mais seletivo que o ibrutinib, não inibindo, por exemplo, o EGFR (recetor do fator de crescimento epitelial) nem as cinases ITK ou TEC, podendo causar menos efeitos adversos *off-target* (9,37).

O estudo **ELEVATE-TN** (fase 3), esteve na base da aprovação do acalabrutinib como tratamento de primeira linha, em alternativa ao ibrutinib. O acalabrutinib foi avaliado, com ou sem obinutuzumab, em comparação com CLBO, tendo mostrado uma SLP significativamente mais longa em idosos com comorbilidades. Ambos os grupos com acalabrutinib demonstraram ser semelhantes ao que era expectável com ibrutinib (8,11).

O estudo **ASCEND** (fase 3), que comparou acalabrutinib vs. idelalisib-rituximab vs. BR em doentes em recaída/refratários, também demonstrou uma SLP superior com acalabrutinib. Deste modo, este fármaco também se encontra indicado em monoterapia para doentes já tratados anteriormente (8,71).

Os efeitos secundários do acalabrutinib são semelhantes aos do ibrutinib (37). Contudo, existem dados que suportam a existência de um risco mais baixo de eventos cardiovasculares *major* com acalabrutinib, possivelmente devido à sua maior seletividade associada a menos efeitos *off-target*, como fibrilhação auricular e arritmias ventriculares (74).

#### **10.4.4.2 Inibidor da Proteína Anti-Apoptótica BCL-2**

O proto-oncogene *BCL2* encontra-se sobreexpresso em cerca de 95% dos doentes com LLC, resultando na expressão constitutiva de níveis elevados da proteína BCL-2, localizada na membrana externa mitocondrial, onde inibe as proteínas pro-apoptóticas, promovendo a sobrevivência celular (32,37). O venetoclax é um composto BH3-mimético que se liga às proteínas BCL-2, impedindo a sua interação com BH3. Desta forma, ao antagonizar seletivamente a BCL-2, permite a ativação das proteínas pro-apoptóticas, restaurando o processo apoptótico (4,8,9,10,11,32,59).

A sua eficácia e segurança em monoterapia já foi comprovada em vários ensaios de fase I-II, em doentes em recaída/refratários, de todos os grupos prognósticos, incluindo aqueles com del(17p) ou mutação *TP53* (4,11). Em oposição aos inibidores das cinases, o venetoclax induziu remissões profundas com uma elevada taxa de DRM indetetável no sangue, sendo uma boa alternativa para doentes que receberam anteriormente inibidores das cinases ou quimioimunoterapia, ou que desenvolveram resistência ou intolerância aos inibidores das cinases (3,9,37).

No ensaio **MURANO**, a combinação de duração fixa venetoclax-rituximab, revelou-se superior a BR nas taxas de resposta, SLP e SG, tendo alcançado uma DRM indetetável numa proporção significativa de doentes, o que levou à sua aprovação na LLC em recaída/refratária (3,67).

Os doentes idosos ou mais frágeis também têm como alternativa de primeira linha a combinação de duração fixa venetoclax-obinutuzumab. O estudo **CLL14** mostrou a superioridade desta conjugação em termos de taxa de resposta e SLP face a CLBO, com um perfil de segurança equiparável, ocorrência de remissões profundas e uma taxa elevada de DRM indetetável (3,37,68).

Os efeitos adversos mais comuns incluíram neutropenia, infecções bacterianas e virais (enterovírus), anemia e trombocitopenia, contudo, como o venetoclax possui atividade citotóxica direta, ocorreram casos de síndrome de lise tumoral (SLT) grave. Por conseguinte, os doentes iniciam a terapêutica com doses muito baixas de fármaco, sendo aumentada gradualmente a dose, para que a redução da carga tumoral seja gradual e o risco de SLT menor (8,37,42,43,44,60,72). Por fim, já foi observada a aquisição de resistências ao venetoclax, associadas à aquisição de uma mutação no gene *BCL2*, que reduz a sua afinidade de ligação do venetoclax (9).

## 10.5 Fatores que Condicionam a Seleção da Terapêutica

A implementação de uma abordagem terapêutica individualizada na LLC é possível e requer a avaliação de diferentes fatores (8,21) relacionados com o doente, a doença e os tratamentos disponíveis (Tabela 7).

**Tabela 7 – Fatores de condicionam a seleção da terapêutica da LLC.** Baseada em (7,21,31,58)

Fatores relacionados com o doente (7,21,58)	Fatores relacionados com a doença (7,31)	Fatores relacionados com a terapêutica (21,58)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Idade, <i>fitness</i></li> <li>• Comorbilidades preexistentes (cardiomiopatias, arritmias, insuficiência renal)</li> <li>• Comedicação (inibidores do citocromo P450, anticoagulantes)</li> <li>• Preferência individual (tratamento limitado no tempo vs. contínuo)</li> <li>• Potencial adesão à terapêutica</li> <li>• Constrangimentos económicos sobre o Sistema de Saúde</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estadio clínico</li> <li>• Sintomas</li> <li>• Perfil genético: mutações <i>TP53/del(17p)</i></li> <li>• Número de linhas de tratamento prévias e duração da resposta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eficácia, toxicidade e farmacocinética (absorção, metabolismo, excreção)</li> <li>• Fármacos disponíveis</li> </ul>

A idade cronológica não reflete de modo fiável a idade fisiológica ou o *fitness*/aptidão física dos doentes. Embora ainda não esteja definido, o método de avaliação do *fitness* dos doentes com LLC envolve o uso de: ECOG *performance status*; escala de CIRS (*Cumulative Illness Rating Scale*) para a avaliação das comorbilidades; avaliação da função orgânica, particularmente da função renal. A classificação do *fitness* é importante para categorizar com precisão a expectativa de vida não relacionada com a LLC, mas também para determinar a capacidade de tolerância de terapêuticas mais agressivas. Assim, as características do doente determinam os objetivos do tratamento, sendo este o primeiro passo para a seleção da terapêutica (21,58) (Figura 21).

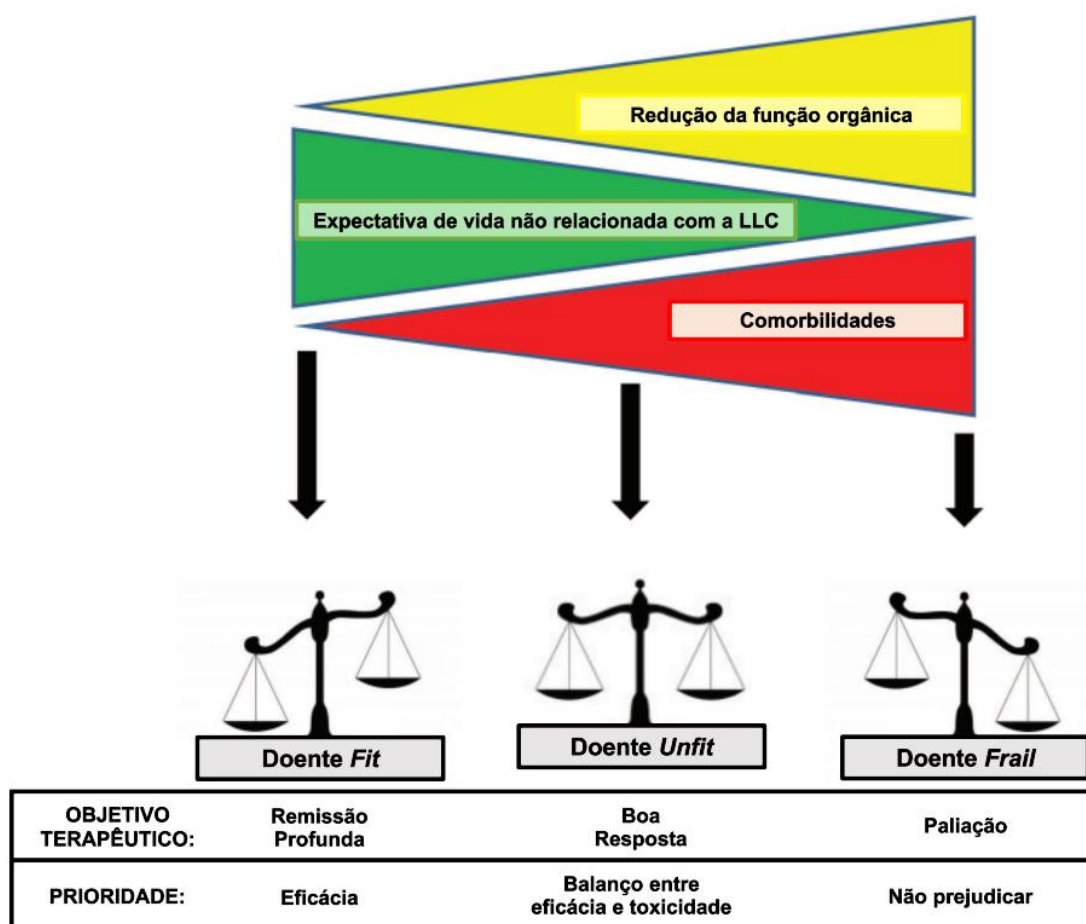


Figura 21 – Determinação dos objetivos do tratamento da LLC. Adaptado de (58)

A *International Society of Geriatric Oncology* (SIOG) apresentou recomendações para a identificação de doentes não candidatos a regimes de quimioimunoterapia muito agressivos, como o FCR, nomeadamente aqueles com

várias comorbilidades (*score* CIRS > 6) ou com função renal alterada (CICr < 70 mL/min). A maioria dos doentes com idade superior a 65-70 anos não tolera o regime FCR, mas caso apresentem uma boa condição física e poucas comorbilidades podem receber com segurança esta terapêutica, (58,73).

## 10.6 Terapêutica de Primeira Linha

O estadió clínico, o *fitness*, o estado mutacional dos genes IGHV e a mutação TP53 ou del(17p) são os fatores críticos determinantes da escolha do tratamento (11). Na figura 22 está representado um fluxograma para a seleção da terapêutica de primeira linha da LLC.

### 10.6.1 Doentes *Fit*

Doentes *fit*, com uma boa condição física, possuem uma função renal normal (CICr > 70 mL/min) e poucas ou nenhuma comorbilidades (*score* CIRS ≤ 6) (31). O regime **FCR** é a opção terapêutica preferencial nestes doentes, particularmente nos que têm menos de 65 anos e apresentam os genes *IGVH* mutados (57). Em alternativa, o regime **BR** deve ser considerado nos doentes com idade superior a 65 anos, devido às elevadas taxas de infeção e neoplasias mieloides secundárias com FCR. O **ibrutinib** é o fármaco preferencial para doentes com ausência de mutações *IGHV*, devendo ser evitada a quimioimunoterapia por desvantagens a nível da sobrevivência (21).

### 10.6.2 Doentes *Unfit*

Os doentes *unfit* têm uma condição física comprometida, sendo caracterizados por comorbilidades significativas (*score* CIRS > 6) ou função renal alterada (CICr < 70 mL/min), representando a maioria dos doentes com LLC (31). A combinação de duração fixa **venetoclax-obinutuzumab**, seria a escolha preferencial nestes doentes, em comparação com quimioimunoterapia. Outras alternativas incluem os **inibidores das cinases** ou, caso a terapêutica dirigida não seja uma opção, quimioimunoterapia com **clorambucilo-obinutuzumab**. Atualmente, não há uma evidência clara que favoreça uma destas três opções, uma vez que não foi documentado qualquer benefício de sobrevivência para nenhuma (7,21).

Vários aspetos devem ser discutidos para a escolha entre o tratamento com venetoclax-obinutuzumab ou inibidores das cinases (21,33):

- Modo de administração e adesão à terapêutica - intravenoso vs. oral;
- Perfil de toxicidade - doentes com elevada carga tumoral, neutropenia ou função renal alterada têm risco significativo de desenvolver SLT com venetoclax, enquanto que doentes com doença cardiovascular significativa ou com elevado risco de hemorragia podem não beneficiar de ibrutinib;
- Medicação concomitante - antiagregantes plaquetários, anticoagulantes ou inibidores fortes do CYP3A4 não devem ser coadministrados com ibrutinib;
- Número e complexidade dos controlos clínicos - titulação da dose durante 5 semanas com venetoclax vs. acompanhamento mais curto com ibrutinib.

Por fim, o diferente perfil de toxicidade cardíaca do ibrutinib e acalabrutinib, pode auxiliar na escolha de um destes agentes (11,21,33).

### 10.6.3 Doença de Alto Risco

Esta categoria é representada, principalmente, por doentes com mutação *TP53* e/ou *del(17p)*, nos quais a quimioimunoterapia não é eficaz e, portanto, não recomendada. Outras opções oferecem geralmente um bom controlo da doença, embora não definitivo (31,68).

Os **inibidores das cinases**, são a escolha de eleição para estes doentes. Alternativamente, o venetoclax em monoterapia contínua ou terapia limitada no tempo com venetoclax-obinutuzumab seria a opção preferencial. Por fim, a combinação idelalisib-rituximab pode ser utilizada em doentes que não são elegíveis para nenhuma das terapêuticas anteriores (21).



**Figura 22 – Terapêutica de primeira linha da LLC.** Adaptada de (21)

A ordem pela qual os tratamentos se encontram dispostos baseia-se na opinião de que a terapêutica de duração fixa é considerada preferencial entre duas opções terapêuticas diferentes com igual evidência; \*a quimioimunoterapia é considerada um tratamento alternativo, caso o doente não possa realizar tratamento com agentes de ação dirigida.

## 10.7 Terapêutica de Segunda Linha

A recidiva é definida como evidência de progressão da doença num doente que tenha atingido anteriormente a RC ou RP durante 6 meses ou mais (51). Praticamente todos os doentes irão recair num determinado momento, mas apenas os sintomáticos ou com doença ativa necessitarão de tratamento, tal como recomendado pelo IWCLL. A duração da resposta e a tolerabilidade aos tratamentos anteriores são cruciais para a seleção da terapêutica de segunda linha. As alterações genéticas, como a aquisição de mutação *TP53*, também devem ser reavaliadas para identificação da evolução genética (12,59).

Regra geral, a terapêutica de primeira linha pode ser repetida, caso a duração da primeira remissão exceda 3 anos, após tratamento com terapêutica de duração fixa. Assim, tal não é uma opção caso a progressão tenha ocorrido com terapêutica contínua. Contrariamente, na LLC refratária ao tratamento (definida como falha da terapêutica ou progressão nos primeiros 6 meses após o último tratamento) ou na recaída nos 3 anos seguintes ao tratamento, o regime terapêutico deve ser alterado

para **venetoclax-rituximab** ou **ibrutinib** ou **acalabrutinib** (Figura 23). Em caso de progressão com um inibidor das cinases após quimioimunoterapia prévia, a utilização de venetoclax é preferencial, enquanto que os doentes refratários ao venetoclax demonstraram melhores resultados quando tratados subsequentemente com ibrutinib. Em caso de intolerância ao ibrutinib, o acalabrutinib é considerado uma alternativa (7,11,21,51,57,75).

Opções terapêuticas alternativas incluem: **idelalisib-rituximab** ou **quimioimunoterapia** (Figura 23). No entanto, certos doentes devem ser tratados com um regime que não inclua quimioterapia ou incluídos num ensaio clínico, nomeadamente os que apresentam: resistência à quimio(imuno)terapia de primeira linha; remissão curta (<3 anos); mutação *TP53/del(17p)*. Em casos específicos, deve ser considerado o transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas (TCEH alogénico) (3,21,51).



**Figura 23 – Terapêutica de segunda linha da LLC.** Adaptada de (21)

\*Terapêutica preferencial após tratamento prévio com ibrutinib.

† Após tratamento prévio com quimioimunoterapia e inibidor das cinases.

‡ Não é recomendada a repetição de FCR pelo aumento das taxas de toxicidade e risco de neoplasia mieloide secundária

## 10.8 Transplante de Células Estaminais Hematopoiéticas

O TCEH alogénico é a única opção terapêutica potencialmente curativa da LLC, sendo recomendado para doentes jovens/*fit* em recaída/refratários

(especialmente após quimioimunoterapia), em particular os que apresentam mutações *TP53/del(17p)*, ou em caso de SR (3,68,75).

De acordo com recomendações de um grupo de consenso europeu, todos os doentes com doença de alto risco devem ser inicialmente tratados com um dos novos agentes. Se não for obtida resposta, o TCEH alogénico deve ser considerado. Caso seja obtida uma resposta, existem 2 opções: realizar um transplante ou continuar com o fármaco até progressão, adiando assim o transplante para a próxima linha de tratamento (Figura 24) (10,76). Cada decisão deve ser individualizada, após discussão do risco de morbilidade do transplante e do seu *outcome* (76,77).

É importante referir que a transplantação não deve ser considerada como um tratamento de último recurso, oferecido quando todas as outras opções foram esgotadas. Por fim, a terapêutica de células T com recetores de antígenos quiméricos ou anticorpos BiTE (*bispecific T- cell engagers*), em ensaios clínicos, são alternativas ao TCEH alogénico (21,76).



**Figura 24 – Algoritmo de decisão para a LLC de elevado risco. Adaptada de (76, 77)**

## 10.9 Tratamento das Complicações

As citopenias autoimunes devem ser tratadas com corticosteroides. Doentes que não respondam aos corticosteroides, têm indicação para iniciar tratamento para a LLC baseado em anticorpos anti-CD20 (rituximab) ou inibidores das cinases (21). Em alternativa à ausência de resposta a estas abordagens, consideram-se imunossuppressores (ciclosporina, micofenolato ou azatioprina) ou esplenectomia (10).

A administração intravenosa de imunoglobulinas só é recomendada em doentes com hipogamaglobulinémia grave e infeções frequentes ou graves. A profilaxia antibiótica e antiviral deve ser utilizada em doentes com infeções recorrentes ou durante o tratamento com quimioimunoterapia baseada em análogos das purinas ou com idelalisib. A vacinação contra influenza e anti-pneumocócica é recomendada na fase inicial da doença, sendo que todas as vacinas vivas devem ser evitadas (21,57).

## 10.10 Terapêuticas Emergentes

### 10.10.1 Inibidores das Cinases de Nova Geração

O **tirabrutinib** e **zanubrutinib** são inibidores da BTK mais seletivos que o ibrutinib e, provavelmente, melhor tolerados. O zanubrutinib também provocou uma reversão da exaustão dos linfócitos T. Inibidores da BTK de terceira geração, não-covalentes, como o **vecabrutinib**, são uma potencial opção para doentes com resistência aos inibidores convencionais (covalentes) (8,68).

O **umbralisib** é um inibidor da PI3K mais seletivo, melhor tolerado e com menor toxicidade autoimune, como a colite (68). O **duvelisib** é um inibidor da PI3K dirigido a ambas as isoformas da PI3K, encontrando-se aprovado pela FDA para a LLC recidivante/refratária (37), mas não pela EMA.

O **entospletinib** é um inibidor seletivo da SYK que induziu respostas em doentes com LLC recidivante/refratária. Recentemente, iniciou-se um ensaio com entospletinib-obinutuzumab na LLC refratária/recidivante. O **cerdulatinibe** inibe tanto a SYK como a JAK1/3, demonstrando inibir a sinalização induzida pelo BCR e pela interleucina-4, bem como sinergismo com o venetoclax. A sua eficácia e tolerabilidade estão a ser estudadas na doença recidivante/refratária (9).

### 10.10.2 Novos Anticorpos

O **ublituximab** é um anticorpo monoclonal anti-CD20 tipo I com maior atividade ADCC do que o rituximab. A monoterapia com ublituximab induziu respostas em 50% dos doentes com LLC recidivante/refratária após tratamento com rituximab. A combinação ublituximab-ibrutinib demonstrou taxas de resposta notáveis neste tipo de doentes, tendo a maioria doença de alto risco (8,9).

O **otlertuzumab** é uma proteína terapêutica humanizada anti-CD37 que induz a ADCC e a apoptose, mas não ativa a CDC. A adição de otlertuzumab à bendamustina aumentou significativamente a taxa de resposta e SLP mediana na LLC recidivante/refratária. A eficácia e segurança de outras combinações com este agente estão a ser estudadas (8,9).

### 10.10.3 Imunoterapia Celular

As células T CAR são células T autólogas geneticamente modificadas para expressarem um recetor antigénico quimérico (CAR) à sua superfície, direcionado contra antígenos tumorais, como o CD19. O progresso clínico desta terapia desacelerou devido às baixas taxas de resposta e às remissões curtas, no entanto, um ensaio recente com células T CAR juntamente com ibrutinib, demonstrou resultados promissores e um melhor perfil de segurança em doentes refratários ao ibrutinib.

Considerando a sua toxicidade (síndrome de libertação de citocinas e aplasia das células B com conseqüente hipogamaglobulinémia), morbidade e mortalidade, esta terapêutica é recomendada exclusivamente a doentes jovens, com doença de alto risco e que tenham recaído durante terapêutica dirigida. Atualmente, estão a ser desenvolvidos CARs dirigidos contra outras proteínas expressas pelas células leucémicas (8,9,37,68,78).

### 10.10.4 Agentes Imunomoduladores

As células leucémicas induzem imunossupressão como uma estratégia para escapar ao controlo imunitário. Existem fármacos, que estão a ser estudados na LLC, capazes de potenciar a resposta imunitária contra as células tumorais (9).

A **lenalidomida** é um análogo da talidomida que repara a função anti-tumoral das células T, eleva os níveis das imunoglobulinas e atua sobre a neo-angiogénese (9,36,79). A lenalidomida possui um perfil benefício/risco inferior aos novos agentes.

Assim, a sua potencial utilização está restringida ao tratamento de manutenção após quimioterapia em doentes de alto risco em que ocorreu falha do tratamento com os novos agentes ou que não são elegíveis para os mesmos (9).

As células T dos doentes com LLC apresentam elevada expressão do recetor do checkpoint imunitário PD-1. As células tumorais também podem expressar PD-1 ou os respetivos ligandos PD-L1/2. Dois anticorpos monoclonais anti-PD-1 estão a ser estudados: o **pembrolizumab**, que parece beneficiar os doentes com SR, e o **nivolumab**, que está a ser investigado em combinação com ibrutinib (7,9).

# 11 Conclusões

Nas últimas décadas, o aumento dos conhecimentos sobre a biologia da LLC proporcionou novas perspectivas que estão a ser exploradas terapêuticamente. No entanto, esta neoplasia hematológica permanece incurável, sendo o TCEH alogênico a única estratégia potencialmente curativa.

Apesar do maior entendimento da patogênese da LLC, a sua etiologia exata permanece desconhecida. As células da LLC resistem à apoptose e continuam a dividir-se ao longo do tempo nos gânglios linfáticos, em parte devido a alterações genéticas, epigenéticas e à existência de um microambiente favorável. Adicionalmente, a compreensão da importância da sinalização BCR e das proteínas anti-apoptóticas na sobrevivência e proliferação destas células, levou ao desenvolvimento de novos agentes dirigidos a estas vias fisiopatológicas.

A heterogeneidade biológica da doença determina a sua manifestação clínica variável, indo de um curso indolente até uma doença agressiva, que progride rapidamente, estando associada ao desenvolvimento de infeções sérias, neoplasias secundárias ou citopenias autoimunes. A maioria dos doentes diagnosticados com LLC têm doença precoce assintomática, sendo vigiados ativamente, pois só aqueles com doença ativa são tratados.

O estadiamento da doença pode ser obtido através do sistema de Rai ou Binet, úteis pelo seu valor prognóstico e para a decisão de início de terapêutica. Cada doente apresenta um perfil genético tumoral único e esta heterogeneidade levou ao desenvolvimento de novos biomarcadores prognósticos e preditivos, permitindo uma melhor estratificação do risco dos doentes e a escolha da terapêutica mais adequada. Assim, inúmeras alterações genéticas da LLC estão associadas a um pior prognóstico - del (17p), del (11q), mutação *TP53*, cariótipo complexo, mutações *NOTCH1*, *SF3B1* e *BIRC3* - ou à resistência à quimioterapia - mutação *TP53/del(17p)*. A validação e inclusão de novos biomarcadores na prática clínica permitirá a adoção de estratégias terapêuticas ainda mais personalizadas no futuro. Constituem exemplos as mutações *NOTCH1* (preditivas da resistência a anticorpos anti-CD20), as mutações *BTK* e *PLCG2* (preditivas da resistência ao ibrutinib) e a DRM indetetável (determinante da duração ótima do tratamento).

Resumidamente, as opções terapêuticas da LLC dividem-se entre tratamento continuado (inibidores das cinases; venetoclax) ou de tempo limitado (quimioimunoterapia; combinações entre anticorpos anti-CD20 e os agentes

dirigidos). A escolha irá depender do perfil genético da doença (mutações *IGHV* e *TP53*) e o *fitness* do doente. Com a crescente disponibilidade de novas opções terapêuticas, é agora possível definir abordagens terapêuticas individualizadas, baseadas em fatores de risco individuais, que considerem um equilíbrio entre a eficácia e a toxicidade. Tal torna-se especialmente relevante pois a LLC é prevalente no idoso, um grupo populacional que apresenta frequentemente outras comorbidades e comedicação.

A introdução dos novos agentes com ação dirigida, disponíveis em formulações de administração oral, no tratamento da LLC, traduziu-se num aumento da sobrevivência, qualidade de vida e prognóstico mais favorável, especialmente nos doentes com LLC de alto risco. Assim, as terapêuticas dirigidas representam uma mudança do paradigma no tratamento da LLC, tornando-se, cada vez mais, opções preferenciais face à quimioimunoterapia, pela sua eficácia, longa duração da remissão e perfil de segurança favorável. Uma exceção é a pequena fração de doentes jovens, com LLC de baixo risco (*IGHV* mutado), que atingem longas remissões com o regime FCR. Em paralelo, o desenvolvimento de novos e melhorados anticorpos anti-CD20 aumentou a eficácia dos regimes de quimioimunoterapia, mas os novos anticorpos também demonstraram ser uma adição promissora aos agentes dirigidos.

Todavia, as novas abordagens de tratamento também apresentam desafios, nomeadamente, o aparecimento de resistências, toxicidade e os custos elevados associados ao tratamento continuado com os novos agentes. O desenvolvimento de novos inibidores de segunda e terceira geração, com um perfil de segurança mais favorável e eficácia igual/superior, ou de novas combinações de tempo limitado, que atinjam remissões mais profundas, irá otimizar o uso dos agentes dirigidos.

Atualmente, existem poucos dados relativos à sequência terapêutica ideal para cada doente na LLC em recaída/refratária. Parece existir maior evidência no uso de ibrutinib em primeira linha, seguido de venetoclax em segunda linha do que a sequência inversa, mas são necessários mais estudos.

Permanecem, assim, alguns desafios na terapêutica da LLC, incluindo o momento apropriado para iniciar o tratamento, a correta sequência terapêutica para cada doente, a estratégia mais adequada nos doentes de alto risco e a redução do tempo de exposição aos novos agentes, reduzindo a toxicidade e aparecimento de resistências. Assim, os progressos observados atualmente permitem perspetivar e aproximar cada vez mais da realidade o desenvolvimento de uma terapêutica curativa para a LLC.

## Referências Bibliográficas

1. Crassini K, Stevenson WS, Mulligan SP, Best OG. Molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2019;186(5):668–684.
2. Fabbri G, Dalla-Favera R. The molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(3):145–62.
3. Delgado J, Nadeu F, Colomer D, Campo E. Chronic lymphocytic leukemia : from molecular pathogenesis to novel therapeutic strategies. *Haematologica*. 2020;105(9):2205–17.
4. Milne K, Sturrock B, Chevassut T. Chronic Lymphocytic Leukaemia in 2020: the Future Has Arrived. *Curr Oncol Rep*. 2020;22(36):1–9.
5. Slager SL, Kay NE. Familial CLL: What Does It Mean to Me? 2009;9(3):194–7.
6. Mukkamalla SKR, Taneja A, Malipeddi D, et al. Chronic Lymphocytic Leukemia [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. 1–36 p. [cited 2021 Jan 29]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470433/#\\_NBK470433\\_pubdet\\_](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470433/#_NBK470433_pubdet_)
7. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol*. 2020;94(11):1266–87.
8. Burger JA, O'Brien S. Evolution of CLL treatment — from chemoimmunotherapy to targeted and individualized therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15:510–27.
9. Yosifov DY, Wolf C, Stilgenbauer S, Mertens D, Mertens CD, Stilgenbauer S. From Biology to Therapy: The CLL Success Story. *HemaSphere*. 2019;3(2):1–18.
10. Montserrat E, Hillmen P. Chronic lymphocytic leukemia and other chronic B-cell disorders. In: Hoffbrand AV, Higgs DR, Keeling DM, Mehta AB, editors. *Postgraduate Haematology*. 7<sup>a</sup> ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd; 2016. p. 500–523.
11. Awan FT, Al-sawaf O, Fischer K, Woyach JA. Current Perspectives on Therapy for Chronic Lymphocytic Leukemia. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2020;40:1–10.
12. Hallek M, Shanafelt TD, Eichhorst B. Chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet*. 2018;391(10129):1524–37.
13. Montserrat E, Hillmen P. Chronic lymphocytic leukemia and other chronic B-cell disorders. In: Hoffbrand AV, Higgs DR, Keeling DM, Mehta AB, editors. *Postgraduate Haematology*. 7<sup>a</sup> ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd; 2016. p. 500–523.
14. Freedman AS, Friedberg JW, Aster JC. Classification of the hematopoietic neoplasms [Internet]. Up to Date. 2020 [cited 2021 Jan 17]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/classification-of-the-hematopoietic-neoplasms>
15. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375–90.
16. Vardiman JW. The World Health Organization (WHO) classification of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues : An overview with emphasis on the myeloid neoplasms. *Chem Biol Interact*. 2010;184(1–2):16–20.

17. Mahalingaiah PK, Palenski T, Van Vleet TR. An In Vitro Model of Hematotoxicity: Differentiation of Bone Marrow–Derived Stem/Progenitor Cells into Hematopoietic Lineages and Evaluation of Lineage-Specific Hematotoxicity. *Curr Protoc Toxicol.* 2018;76(1):1–18.
18. Lyenga V, Shimanovsky A. Leukemia. [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. 1–14 p. [cited 2021 Jan 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560490/>
19. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127(20):2391–405.
20. Rai KR, Stilgenbauer S. Overview of the treatment of chronic lymphocytic leukemia [Internet]. Up to Date. 2020 [cited 2021 Jan 15]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-treatment-of-chronic-lymphocytic-leukemia>
21. Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, Ghia P, Niemann CU, Kater AP, et al. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2020;32(1):23–33.
22. Rai KR, Stilgenbauer S. Staging and prognosis of chronic lymphocytic leukemia [Internet]. Up to Date. 2020 [cited 2021 Jan 15]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/staging-and-prognosis-of-chronic-lymphocytic-leukemia>
23. Rai KR, Stilgenbauer S, Aster JC. Clinical features and diagnosis of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma [Internet]. Up To Date. 2020 [cited 2021 Jan 15]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-features-and-diagnosis-of-chronic-lymphocytic-leukemia-small-lymphocytic-lymphoma>
24. Kipps TJ, Stevenson FK, Wu CJ, Croce CM, Packham G, Wierda WG, et al. Chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Dis Prim.* 2017;3(16096):1–21
25. Bispo JAB, Pinheiro PS, Kobetz EK. Epidemiology and Etiology of Leukemia and Lymphoma. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020 Jun;10(6):1–22.
26. Bosch F, Dalla-Favera R. Chronic lymphocytic leukaemia: from genetics to treatment. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019;16(11):684–701.
27. Borges FC, Ramos C, Murteira R, Silva MG da, Miranda A. Leucemia Linfocítica Crónica, um estudo clínico-epidemiológico de base populacional: resultados preliminares. In: Reunião Anual Sociedade Portuguesa de Hematologia: Livro de Resumos [Internet]. 2018. p. 61–2. [cited 2021 Jan 15]. Available from: [https://sph.org.pt/wp-content/uploads/2018/03/livro\\_resumos\\_SPH2018\\_2.pdf](https://sph.org.pt/wp-content/uploads/2018/03/livro_resumos_SPH2018_2.pdf)
28. Silva MG. Estudo Rede ROR-Sul: Leucemia Linfocítica Crónica: um estudo clínico-epidemiológico de mundo real [PowerPoint slides]. Paper presented at: XXV Jornadas ROR-Sul; 2018 fev. Date of Publication [cited 2021 Jan 15]. Available from: [https://ron.min-saude.pt/media/1659/15\\_estudos-colaborativos-ror-sul\\_llc\\_maria-gomes-da-silva.pdf](https://ron.min-saude.pt/media/1659/15_estudos-colaborativos-ror-sul_llc_maria-gomes-da-silva.pdf)
29. Yang S, Varghese AM, Sood N, Chiattono C, Akinola NO, Huang X, et al. Ethnic and geographic diversity of chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia.* 2020
30. Slager SL, Benavente Y, Blair A, Vermeulen R, Cerhan JR, Costantini AS, et al. Medical History, Lifestyle, Family History, and Occupational Risk Factors for

Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma: The InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2014;2014(48):41–51.

31. Scarfò L, Ferreri AJM, Ghia P. Chronic lymphocytic leukaemia. *Crit Rev Oncol/Hematol.* 2016;104:169–82.
32. Rai KR, Stilgenbauer S. Pathophysiology and genetic features of chronic lymphocytic leukemia [Internet]. Up to Date. 2019 [cited 2021 Jan 15]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/pathophysiology-and-genetic-features-of-chronic-lymphocytic-leukemia>
33. Parikh SA. Chronic lymphocytic leukemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer J.* 2018;8(10):1–10.
34. Maitre E, Troussard X. Monoclonal B-cell lymphocytosis. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2019;32(3):229–38.
35. Kikushige Y. Pathophysiology of chronic lymphocytic leukemia and human B1 cell development. *Int J Hematol.* 2020;111(5):634–41.
36. ten Hacken E, Burger JA. Microenvironment interactions and B-cell receptor signaling in Chronic Lymphocytic Leukemia: Implications for disease pathogenesis and treatment. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res.* 2016;1863(3):401–13.
37. Faderl SJ, Keating MJ. Treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Curr Hematol Rep.* 2005;4(1):31–8.
38. Campo E, Cymbalista F, Ghia P, Jäger U, Pospisilova S, Rosenquist R, et al. TP53 aberrations in chronic lymphocytic leukemia: An overview of the clinical implications of improved diagnostics. *Haematologica.* 2018;103(12):1956–68.
39. Rossi D, Gaidano G. The clinical implications of gene mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Cancer.* 2016;114(8):849–54.
40. Maleki Y, Alahbakhshi Z, Heidari Z, Moradi MT, Rahimi Z, Yari K, et al. NOTCH1, SF3B1, MDM2 and MYD88 mutations in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Oncol Lett.* 2019;17(4):4016–23.
41. Bagacean C, Tomuleasa C, Tempescul A, Grewal R, Brooks WH, Berthou C, et al. Apoptotic resistance in chronic lymphocytic leukemia and therapeutic perspectives. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2019;56(5):321–32.
42. Hilal T, Gea JC, Leis JF. Chronic lymphocytic leukemia and infection risk in the era of targeted therapies : Linking mechanisms with infections. *Blood Rev.* 2018;32(5):387–99.
43. Morrison VA. Risk of infections in patients with chronic lymphocytic leukemia [Internet]. Up to Date. 2020 [cited 2021 Feb 1]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/risk-of-infections-in-patients-with-chronic-lymphocytic-leukemia>
44. Nosari A. Infectious Complications in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2012; 4(1): e2012070.
45. Fattizzo B, Barcellini W. Autoimmune Cytopenias in Chronic Lymphocytic Leukemia : Focus on Molecular Aspects. *Front Oncol.* 2020; 9:1435.
46. Tsang M, Parikh SA. A Concise Review of Autoimmune Cytopenias in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Curr Hematol Malig Rep.* 2017;12(1):29–38.

47. Royle JA, Baade PD, Joske D, Girschik J, Fritschi L. Second cancer incidence and cancer mortality among chronic lymphocytic leukaemia patients : a population-based study. *Br J Cancer*. 2011;105(7):1076–81.
48. Brown JR. Richter transformation in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma [Internet]. Up to Date. 2020 [cited 2021 Feb 1]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/richter-transformation-in-chronic-lymphocytic-leukemia-small-lymphocytic-lymphoma>
49. Rai KR, Stilgenbauer S. Overview of the complications of chronic lymphocytic leukemia [Internet]. Up to Date. 2019. [cited 2021 Jan 15]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-complications-of-chronic-lymphocytic-leukemia>
50. Hodgson K, Ferrer G, Pereira A, Moreno C, Montserrat E. Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia: Diagnosis and treatment. *Br J Haematol*. 2011;154(1):14–22.
51. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-cappio F, Dighiero G, Hartmut D, et al. iwCLL guidelines for diagnosis , indications for treatment , response assessment , and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745–60.
52. Roth CG. Educational Case: Chronic Lymphocytic Leukemia. *Acad Pathol*. 2018; 5:1–4.
53. Jondreville L, Krzisch D, Nguyen-khac F, Chapiro E. The complex karyotype and chronic lymphocytic leukemia : prognostic value and diagnostic recommendations. *Am J Hematol*. 2020;95(11):1361–7.
54. Stefano Molica, Shanafelt TD, Giannarelli D, Gentile M, Mirabelli R, Cutrona G, et al. The chronic lymphocytic leukemia international prognostic index (CLL-IPI) predicts time to first treatment in early CLL: Independent Validation in a Prospective Cohort of Early Stage Patients. *Am J Hematol*. 2016;91(11):1090–5.
55. International T. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2016;17(6):779–90.
56. Hodgson K, Ferrer G, Pereira A, Moreno C, Montserrat E. Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia: Diagnosis and treatment. *Br J Haematol*. 2011;154(1):14–22.
57. Wierda WG, Byrd JC, Abramson JS, Awan F, Bilgrami SF, Bociek G, et al. Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021
58. Shanafelt T. Treatment of older patients with chronic lymphocytic leukemia: key questions and current answers. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr*. 2013; 2013:158–67.
59. Sharma S, Rai KR. Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Treatment : So Many Choices, Such Great Options. *Cancer*. 2019;125(9):1432–40.
60. Chiorazzi N, Chen S, Rai KR. Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2021;11: a035220.
61. Resumo das Características do Medicamento - Kesimpta 20 mg solução injetável em seringa pré-cheia [Internet]. Infomed. 2021 [cited 2021 May 14]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kesimpta-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kesimpta-epar-product-information_pt.pdf)

62. Maloney DG. Anti-CD20 Antibody Therapy for B-Cell Lymphomas. *N Engl J Med.* 2012; 366: 2008–16.
63. Tam CS, Keating MJ. Chemoimmunotherapy of chronic lymphocytic leukemia. *2007;20(3):479–98.*
64. Resumo das Características do Medicamento - Gazyvaro 1000 mg concentrado para solução para perfusão [Internet]. Infomed. 2019 [cited 2021 May 14]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gazyvaro-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gazyvaro-epar-product-information_pt.pdf)
65. Elter T, Gercheva-kyuchukova L, Pylylpenko H, Robak T, Jaksic B, Rekhman G, et al. Fludarabine plus alemtuzumab versus fludarabine alone in patients with previously treated chronic lymphocytic leukaemia : a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2011;12(13):1204–13.
66. Parikh SA, Gale RP, Kay NE. Chronic lymphocytic leukemia in 2020: a surfeit of riches? *Leukemia.* 2020;34(8):1979–83.
67. Schiattone L, Ghia P, Scarfo L. The evolving treatment landscape of chronic lymphocytic leukemia. *Curr Opin Oncol.* 2019;31(6):568–73.
68. Iovino L, Shadman M. Novel Therapies in Chronic Lymphocytic Leukemia : A Rapidly Changing Landscape. *Curr Treat Options Onco.* 2020;21(24):1–16.
69. Resumo das Características do Medicamento - Imbruvica 140 mg cápsulas [Internet]. Infomed. 2019 [cited 2021 May 14]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imbruvica-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imbruvica-epar-product-information_pt.pdf)
70. Resumo das Características do Medicamento - Zydelig 100 mg comprimidos revestidos por película [Internet]. Infomed. 2019 [cited 2021 May 14]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zydelig-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zydelig-epar-product-information_pt.pdf)
71. Resumo das Características do Medicamento - Venclyxto 10 mg comprimidos revestidos por película [Internet]. Infomed. 2020 [cited 2021 May 14]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/calquence-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/calquence-epar-product-information_pt.pdf)
72. Resumo das Características do Medicamento - Calquence 100 mg cápsulas [Internet]. Infomed. 2018 [cited 2021 May 14]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/venclyxto-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/venclyxto-epar-product-information_pt.pdf)
73. Stauder R, Eichhorst B, Hamaker ME, Kaplanov K, Morrison VA, Osterborg A, et al. Management of chronic lymphocytic leukemia (CLL) in the elderly : a position paper from an international Society of Geriatric Oncology (SIOG) Task Force. *Ann of Oncology* 28. 2017;28(2):218–27.
74. Azali L, Hazelden L, Wiczer T, Palettas M, Thomas R, AOssey C, et al. Evaluation of the Incidence and Risk Factors Associated with Major Cardiovascular Events in Patients Receiving Acalabrutinib Therapy. *Blood.* 2020;136(1):29–30.
75. Rai KR, Stilgenbauer S. Treatment of relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia [Internet]. Up to Date. 2021 [cited 2021 Feb 1]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/treatment-of-relapsed-or-refractory-chronic-lymphocytic-leukemia>

76. Dreger P, Schetelig J, Andersen N, Corradini P, Van Gelder M, Gribben J, et al. Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: Stem cell transplantation or novel agents? *Blood*. 2014;124(26):3841–9.
77. Gribben JG. How and when I do allogeneic transplant in CLL. *Blood*. 2018;132(1):31–9.
78. Resumo das Características do Medicamento - Kymriah 1,2 x 10<sup>6</sup> – 6 x 10<sup>8</sup> células dispersão para perfusão [Internet]. Infomed. 2018 [cited 2021 June 13]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kymriah-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kymriah-epar-product-information_pt.pdf)
79. Kater AP, Tonino SH, Egle A, Ramsay AG. How does lenalidomide target the chronic lymphocytic leukemia microenvironment? *Blood*. 2014;124(14):2184–9.
80. Adams L. Chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3(16099).