



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

LIDIANE PALOMA SANTOS

**ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE INDUZIDA PELO USO DA
FLUDARABINA EM PACIENTES COM LEUCEMIA
LINFOCÍTICA CRÔNICA ATIVA**

Recife
2022

LIDIANE PALOMA SANTOS

**ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE INDUZIDA PELO USO DA
FLUDARABINA EM PACIENTES COM LEUCEMIA
LINFOCÍTICA CRÔNICA ATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Marcos André Cavalcanti
Bezerra

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Santos, Lidianne Paloma.

Anemia hemolítica autoimune induzida pelo uso da fludarabina em pacientes com leucemia linfocítica crônica ativa / Lidianne Paloma Santos. - Recife, 2022.
32 : il.

Orientador(a): Marcos André Cavalcanti Bezerra

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2022.

1. leucemia linfocítica crônica. 2. anemia hemolítica autoimune. 3. fludarabina. I. Bezerra, Marcos André Cavalcanti. (Orientação). II. Título.

610 CDD (22.ed.)

LIDIANE PALOMA SANTOS

**ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE INDUZIDA PELO USO DA
FLUDARABINA EM PACIENTES COM LEUCEMIA
LINFOCÍTICA CRÔNICA ATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal
de Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr.
Instituição/ Departamento

Prof. Dr.
Instituição/ Departamento

Prof. Dr.
Instituição/ Departamento

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família que foram meu alicerce nesses anos, aos meus amigos que sempre me ajudaram durante a jornada acadêmica e a todos pacientes oncológicos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me dado forças para continuar e me permitir viver para realizar este sonho .

Ao meu orientador, Dr Marcos André, que além de me orientar foi uma pessoa essencial na minha jornada acadêmica e vida pessoal, ao departamento de Biofísica o qual ele faz parte e a todos meus colegas vinculados ao Laboratório Central.

À minha família (Voinha, Mainha, Painho e Lívia) por sempre me mostrar o quanto valioso é a educação e quem sem ela nada somos.

Ao meu parceiro de vida, João Pedro, que nunca soltou minha mão e que esteve comigo em todos os momentos.

Aos irmãos de alma que a graduação me concedeu (Helbert, Emmanuel e Suellen), com vocês minha vida é mais feliz.

As minhas amigas do ensino fundamental (Denise, Íris e Lowhane) que sempre acreditaram em mim e me deram forças para continuar.

Ao pessoal que trabalhou comigo na Contax, principalmente Rebeca, Flávia e Sandra, que foram essenciais nesse período para mim.

A todos meus colegas de curso, sobretudo a Lílian que esteve comigo no momento mais difícil que vivi até agora, cada um de vocês tem um valor significativo para mim.

Aos meus amigos de estágio, principalmente a Geliane, nosso encontro nessa vida já era predestinado.

A todos os preceptores do Hospital das Clínicas de Pernambuco, em especial a Ana Aparecida, Mônica Lima e Carlos Alberto, entrei como estudante de biomedicina saio Biomédica e vocês tiveram grande participação nisso.

Aos meus professores da graduação por todo conhecimento e respeito compartilhado.

A Universidade Federal de Pernambuco, por me proporcionar viver experiências acadêmicas que contribuíram para meu desenvolvimento profissional.

Agradeço a todos que de forma direta ou indireta me ajudaram a desenvolver esse presente trabalho.

Gratidão!

EPÍGRAFE

“Diagnóstico não é destino e
câncer não é sentença de morte”
Lidiane Paloma

SANTOS, Lidiane Paloma. **Anemia hemolítica autoimune induzida pelo uso da fludarabina em pacientes com Leucemia Linfocítica Crônica ativa.** 2022. 31. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

RESUMO

A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma neoplasia linfoproliferativa, com maior frequência no Ocidente, sendo considerada rara em países orientais. Acomete mais homens do que mulheres, e se torna mais presente com avanço da idade. A LLC é caracterizada pelo acúmulo de linfócitos B maduros no sangue periférico, medula óssea, linfonodos e baço. É comum ocorrer fenômenos de autoimunidade em pacientes com LLC sintomática ou doença ativa, sendo a alteração mais prevalente a anemia hemolítica autoimune (AHAI). No entanto, a Fludarabina, fármaco utilizado para tratar pacientes com LLC, também pode causar ou exacerbar fenômeno de autoimunidade nesses indivíduos, sendo a AHAi o mais frequente. O presente estudo tem como principal foco abordar anemia hemolítica autoimune induzida pelo uso da fludarabina em pacientes com LLC ativa. O trabalho consiste em uma revisão de literatura, com resultados tratados de maneira qualitativa, a partir da coleta de dados de fontes secundárias como *PUBMED* e *SCIELO*, com recorte temporal entre os anos de 1993 até 2022. Com o levantamento de informações ao longo da pesquisa e da análise das informações, foi possível concluir que a AHAi induzida pelo uso da fludarabina é responsável pela instauração e exacerbação do processo hemolítico, podendo levar esse tipo de paciente ao óbito rapidamente. Sendo assim, é possível concluir que essa medida terapêutica pode impactar diretamente o prognóstico e a qualidade de vida desses doentes. Entretanto, o uso de terapias em combinação com anticorpo monoclonal, como Rituximabe, se mostram efetivas tanto para controle da LLC como da AHAi.

Palavras-chave: LLC de células B. Anemia hemolítica autoimune. Fludarabina. Tratamento. Hemólise.

SANTOS, Lidianne Paloma. **Autoimmune hemolytic induced by the use of fludarabine in patients with active chronic lymphocytic leukemia**. 2022. 31. Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

ABSTRACT

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a lymphoproliferative neoplasm, more frequently in the West, being considered rare in Eastern countries. It affects more men than women, and becomes more common with advancing age. CLL is characterized by the accumulation of mature B lymphocytes in peripheral blood, bone marrow, lymph nodes and spleen. Autoimmune phenomena commonly occur in patients with symptomatic CLL or active disease, the most prevalent alteration being autoimmune hemolytic anemia (AIHA). However, Fludarabine, a drug used to treat patients with CLL, can also cause or exacerbate the autoimmunity phenomenon in these individuals, AIHA being the most frequent. The main focus of the present study is to address autoimmune hemolytic anemia induced by the use of fludarabine in patients with active CLL. The work consists of a literature review, with results treated in a qualitative way, from the collection of data from secondary sources such as PUBMED and SCIELO, with a time frame between the years 1993 to 2022. With the collection of information throughout the research and from the analysis of the information, it was possible to conclude that the AIHA induced by the use of fludarabine is responsible for the initiation and exacerbation of the hemolytic process, which can lead this type of patient to death quickly. Therefore, it is possible to conclude that this therapeutic measure can directly impact the prognosis and quality of life of these patients. However, the use of therapies in combination with monoclonal antibodies, such as Rituximab, are effective for both CLL and AIHA control.

Key words: CLL B-cell. Autoimmune hemolytic anemia. Fludarabine. Treatment. Hemolysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - esfregaço de SP paciente com LLC 14

Figura 2 - esfregaço de SP paciente com AHAI frio 18

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Sistema Rai modificado	15
Quadro 2 - Sistema Binet	15
Quadro 3 - categoria de risco de acordo com <i>CLL-IPi</i>	16
Quadro 4 - Resultados	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AHAI	Anemia hemolítica autoimune
CTH	Célula tronco hematopoiética
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FDA	Food and Drug Administration
HB	Hemoglobina
IgD	Imunoglobulina D
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-10	Interleucina 10
IwCLL	International Workshop on CLL
LLC	Leucemia linfocítica crônica
MO	Medula Óssea
RNA	Ácido ribonucleico
SP	Sangue periférico
TAD	Teste antiglobulina direta
SC	Sistema complemento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA	13
2.1.1 LLC ASSOCIADA À ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE	17
2.1.1.1 AHAI INDUZIDA PELO USO DA FLUDARABINA	19
2.1.1.1.1 TRATAMENTO PARA AHAI INDUZIDA PELO USO DA FLUDARABINA	20
3 OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4 METODOLOGIA	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

A leucemia linfocítica crônica (LLC) é a neoplasia hematológica mais comum no Ocidente, responsável por cerca de 20% dos casos de leucemias em adultos (VITALE et al., 2020). Seu curso clínico é feito pelo estadiamento de Rai e Binet, que serve para estratificar os pacientes, definindo seu risco e prognóstico. Pacientes que são assintomáticos não precisam de tratamento inicial, só de acompanhamento, já pacientes que são sintomáticos, com doença avançada ou ativa precisam de intervenção farmacológica (AUTORE et al., 2021).

Estudos científicos desde a década de 1950 relatam como os componentes sanguíneos são alvos da autoimunidade na LLC, sendo a anemia hemolítica autoimune (AHAI) a mais frequente. A autoimunidade presente na LLC também pode ser ocasionada no decorrer do tratamento, como por exemplo com o uso de fármacos análogos das purinas, especialmente a Fludarabina (BORDIN, 2005).

Já é bem elucidado a relação desse fármaco com o desenvolvimento ou exacerbação da anemia hemolítica autoimune (AHAI), de acordo com trabalhos realizados desde de 1993 foi relatado um aumento na incidência de processos hemolíticos graves, em alguns casos fatais, que ocorrem após o uso da Fludarabina como terapia de escolha para tratar pacientes com LLC (MYINT et al., 1995; RAMONDO et al., 1993; TERTIAN et al., 1996). Além da AHAi o monofosfato de Fludarabina também pode ocasionar uma mielosupressão, aumentando assim o risco de infecções, neurotoxicidade, toxicidade pulmonar e outras alterações metabólicas (VILLAS, 1997).

Portanto, discutir sobre o uso da Fludarabina em pacientes com LLC ativa, justifica-se pelo fato de que é possível notar que essa medida terapêutica pode impactar diretamente no prognóstico e qualidade de vida desses doentes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

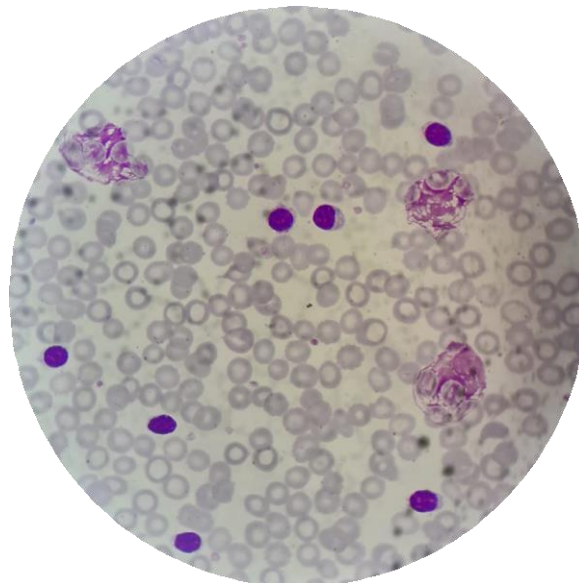
A LLC, leucemia linfocítica crônica, é uma doença linfoproliferativa de células B, caracterizada pelo acúmulo de pequenos linfócitos maduros no sangue periférico, baço, linfonodos e medula óssea, tipicamente CD5 positivo (HALLEK; AL-SAWAF, 2021). É a leucemia mais comum em adultos de países ocidentais, sendo considerada rara países orientais. Afeta principalmente idosos, com média de 70 anos, mais frequente em homens do que em mulheres, sua incidência aumenta com o avanço da idade e fatores genéticos hereditários também estão envolvidos no desenvolvimento da doença, pois um afetado na família aumenta o risco de recorrência (PFISTER, 2020).

Ainda não é bem elucidado o processo de instauração da LLC, mas estudos destacam que a patogênese é causada por mutações genéticas que envolvem células tronco hematopoiéticas (CTH) multipotentes e auto renovadoras (KIKUSHIGE et al., 2011). Já é sabido que o microambiente tem um papel fundamental na sobrevivência dos clones de linfócitos B na LLC, pois esse microambiente produz várias moléculas (citocinas, quimiocinas e fatores angiogênicos) que viabilizam a sobrevivência dessas células (BURGER et al., 2009). O processo leucêmico da LLC pode ser iniciado pela adição ou perda de grandes quantidades de material cromossômico (como por exemplo, deleção 13q, deleção 11q, trissomia 12), seguida de mutações adicionais que podem deixar a neoplasia mais agressiva (HALLEK, 2019).

A LLC apresenta uma clínica bastante heterogênea, com casos que variam desde anos com a doença indolente até sua rápida progressão (AUTORE et al., 2021). De acordo com a iwCLL (*International Workshop on CLL*), diagnóstico é constituído a partir da contagem global e diferencial das células sanguíneas e a imunofenotipagem. No sangue periférico a contagem de linfócitos precisa ser igual ou superior a 5.000 linfócitos/ μ L, com persistência de 3 meses ou mais; presença de pequenos linfócitos com características maduras (cromatina nuclear condensada, ausência de nucléolo e citoplasma escasso) com sua clonalidade confirmada por citometria de fluxo; presença de sombras de Gumprecht ou células estouradas são características morfológicas frequentemente relacionadas à LLC (HALLEK et al., 2018).

Na imunofenotipagem os linfócitos co-expressam antígenos de superfície CD5 positivo e antígenos de células B CD19, CD20, CD23 e uma imunoglobulina de cadeia Kappa ou Lambda são suficientes para estabelecer o diagnóstico da LLC (MOREAU et al., 1997). Na incerteza de algum caso, marcadores como CD43, CD79b, CD81, CD200, CD10 ou ROR1 podem ajudar a aprimorar o diagnóstico (HALLEK; AL-SAWAF, 2021b). A Figura 1 apresenta uma variedade de pequenos linfócitos B, assim como as sombras de Gumprecht ou *smudge cells*, que são linfócitos malignos que sofreram ruptura durante a preparação do esfregaço de sanguíneo.

Figura 1 - esfregaço de sangue periférico paciente com LLC



Fonte: Imagem concedida pela Hematologia do laboratório central da UFPE

Historicamente os pacientes diagnosticados com LLC são classificados de acordo com dois sistemas de estadiamento, de Rai, sistema europeu, e Binet, sistema americano. Os sistemas são simples e baratos, utilizando um exame físico e teste laboratoriais padrão, sem necessidade de usar ultrassom, tomografia ou ressonância magnética (HALLEK; AL-SAWAF, 2021b).

O sistema de classificação Rai modificado, consiste em classificar os doentes em 3 grupos de risco: baixo risco (estadiamento 0), risco intermediário (estadiamento I-II) e risco elevado (estadiamento III-IV) (OLIVEIRA, 2021).

Quadro 1 - Sistema Rai modificado

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	

FONTE: retirado de Oliveira (2021)

O sistema de classificação Binet, leva em consideração o número 3 de áreas linfonodais (cervical, axilar e inguinal uni ou bilateral) envolvidas, níveis séricos de hemoglobina e de plaquetas (OLIVEIRA, 2021).

Quadro 2 - Sistema Binet

Estadio	Descrição
A	Ausência de anemia (hemoglobina ≥ 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 ≥ 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

FONTE: retirado de Oliveira (2021)

Com o progresso na terapia da LLC o estadiamento Rai e Binet, sozinhos, se tornaram insuficientes para definir o prognóstico desses pacientes, pois além deles existem marcadores específicos, como por exemplo algumas alterações genéticas e mutações cromossômicas, que fornecem prognóstico independente de estágio clínico. Com isso, foi produzido escores prognósticos abrangentes e pertinentes que levam em consideração informações clínicas, biológicas e genéticas.

2

O escore de prognóstico mais relevante no momento é o “*CLL International Prognostic Index*” (CLL-IPI), pois ele consegue classificar cinco fatores prognósticos independentes, que são: exclusão e/ou mutação do tp53, imunoglobulina de cadeia pesada (*IGHV*) com mutação, β 2-microglobulina, estágio clínico e idade (HALLEK; AL-SAWAF, 2021b).

Quadro 3 - categoria de risco de acordo com CLL-IPI

Categoria CLL-IPI	OS aos 5 anos	Potencial consequência clínica
Baixo risco	93.2%	Não trate
Risco intermediário	79.3%	Não trate, exceto se a doença for realmente sintomática
Alto risco	63.3%	Tratamento indicado, exceto se a doença for assintomática
Muito alto risco	23.3%	Se você precisar tratar, não use quimioterapia, mas sim agentes direcionados ou tratamento em ensaios clínicos

FONTE: retirado de Hallek et.al (2021)

Em torno de 25 a 50% dos pacientes com LLC são assintomáticos, assim seu diagnóstico, na maioria dos casos, é dado através de exames de rotina (HALLEK et al., 2018). Indivíduos assintomáticos não precisam de intervenção farmacológica, só de acompanhamento. Já em casos de doença progressiva ou ativa é necessário tratamento (AUTORE et al., 2021).

Para ser considerado doença ativa existem alguns critérios, que são: insuficiência progressiva da MO caracterizada pelo aparecimento de anemia e plaquetopenia; linfadenopatias e/ou hepatoesplenomegalia; febre (38°C) sem infecção aparente; linfocitose progressiva e sustentada aumentando mais de 50%; acometimento extranodal sintomático (rim, coluna, pulmão e pele); fadiga excessiva; perda de peso sem causa aparente; sudorese noturna persistente; complicações autoimunes não controladas com esteroides (AUTORE et al., 2021).

Cerca de 4 a 10% dos pacientes com LLC desenvolvem algum tipo de citopenia autoimune, sendo a anemia hemolítica autoimune (AHAI) a mais comum, seguida pela púrpura trombocitopênica imune (PTI) (ALVES, 2017). Essas citopenias podem ser assintomáticas ou graves, podendo necessitar de transfusão sanguínea (OLIVEIRA, 2021).

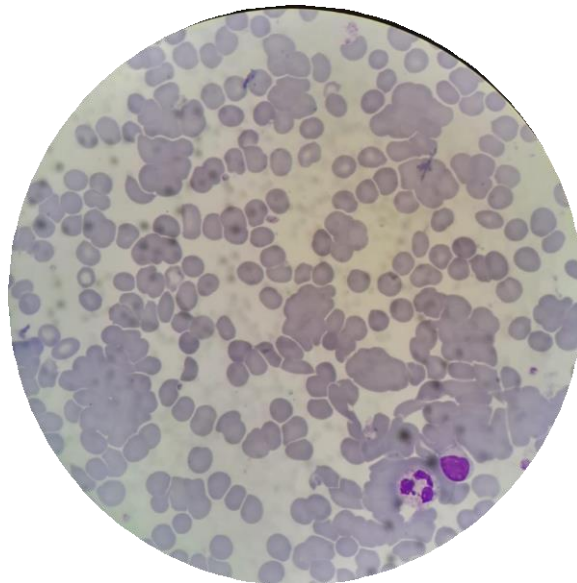
A nível fisiológico essas citopenias são mediadas por vários mecanismos, como por exemplo: produção de autoanticorpos policlonal pelas células B não malignas que tem uma alta afinidade para IgG e que são direcionados para antígenos de membrana presentes nos eritrócitos e plaquetas; as células malignas produzem autoanticorpos do tipo IgM que causam hemólise intravascular e também na LLC as células T reguladoras (T-regs) estão aumentadas, produzindo citocinas imunossupressoras, como a TGF-beta e a IL10, que levam ao desenvolvimento de citopenias autoimunes, sendo a anemia hemolítica autoimune a mais frequente (ALVES, 2017).

2.1.1 LLC ASSOCIADA À ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE

Durante o curso da LLC até um terço dos pacientes podem apresentar anemia hemolítica autoimune (AHAI), enquanto que de 10 a 15% dos casos são identificados no diagnóstico (AUTORE et al., 2021). A AHAÍ é caracterizada por uma desregulação do sistema imune que induz a produção de autoanticorpos que são dirigidos aos eritrócitos causando sua destruição, essa interação pode ou não ter a participação do sistema complemento. A AHAÍ pode ocorrer em qualquer idade, sendo mais frequente com o avanço da idade e ela é classificada de acordo com as características térmicas do autoanticorpo presente, que pode ser do tipo quente ou frio/crioaglutininas (HILL et al., 2017).

A anemia hemolítica autoimune induzida por anticorpos quentes, é assim chamada, pois os autoanticorpos presentes são do tipo IgG que reagem em temperaturas em torno de 37° C e o seu diagnóstico é feito através do teste da antiglobulina direta (TAD). O processo hemolítico ocorre de forma extravascular, pois as hemácias são opsonizadas pelo autoanticorpo, e acabam sendo removidas, principalmente para o baço, pela ação do sistema reticuloendotelial. É uma doença com curso clínico bem variável, pois a resposta da medula óssea para tentar compensar o processo hemolítico é um fator importante para a determinação do quadro clínico do paciente (BARCELLINI; FATTIZZO, 2021) Já os autoanticorpos frios ou crioaglutininas agem melhor em baixas temperaturas, em torno 3-4°C. O autoanticorpo presente é do tipo IgM, que é capaz de causar uma aglutinação dos eritrócitos que serão destruídos ainda no leito vascular pela ação do sistema complemento (SC), geralmente o teste TAD só é positivo para molécula de C3 do SC (BERENTSEN, 2018). Na Figura 2 é possível observar a aglutinação eritrocitária causada pela presença das crioaglutininas em baixas temperaturas.

Figura 2 - esfregaço de SP paciente com AHAI frio



Fonte: Imagem concedida pela Hematologia
do laboratório central da UFPE

Os sintomas mais frequentes da AHAI são:

- Diminuição dos níveis de hemoglobina (igual ou inferior a 11g/dl);
- Presença de marcadores de hemólise (aumento de reticulócitos, baixos níveis de haptoglobina sérica, aumento nos níveis de bilirrubina e lactato desidrogenase);
- Evidência de um mecanismo autoimune subjacente, como TAD positivo para IgG e/ou C3 ou presença de crioaglutininas (VITALE et al., 2020).

O teste da antiglobulina direta (TAD) ou teste de Coombs direto, pode ser positivo em até 35% dos casos durante o curso da LLC, um TAD positivo não significa que o indivíduo tem AHAI. O aparecimento da AHAI é mais comum em pacientes com doença ativa, embora também pode se desenvolver em indivíduos assintomáticos (DEARDEN et al., 2008). A anemia hemolítica autoimune por anticorpos quentes é mais comum em pacientes com LLC associada a AHAI do que as crioaglutininas. O teste TAD ajuda a diferenciar entre elas, embora, na minoria dos casos, possam ocorrer de forma mista (HILL et al., 2017).

Além do processo de desregulação autoimune na LLC associada a AHAI que pode ocorrer de forma idiopática, alguns fármacos, como os análogos de purinas, que são utilizados para o tratamento dessa leucemia, também podem desencadear processo hemolítico autoimune (BORDIN, 2005). A droga mais comumente associada a hemólise

dos eritrócitos pela formação de autoanticorpos é a Fludarabina (GARRATTY, 2010).

2.1.1.1 AHAI INDUZIDA PELO USO DA FLUDARABINA

O monofosfato de Fludarabina é um análogo de purina, produzido em 1969 por Montgomery e Hewson e foi aprovado pelo FDA em 1991 para tratar pacientes com LLC ativa ou refratária a terapias anteriores. A Fludarabina é uma pró-droga que sofre processo de desfosforilação e através do transporte de nucleosídeos ela consegue entrar na célula onde passa por processos de refosforilação e se transforma trifosfatoativo, F-ara-ATP. O F-ara-ATP atua como substrato inibidor para as enzimas ribonucleotídeo redutase, as DNA polimerases, DNA ligase I e DNA primase. Secundariamente, impede a incorporação do RNA mensageiro o que induz a ativação do processo apoptótico, através da quebra da fita de DNA (ELTER; HALLEK; ENGERT, 2006).

A Fludarabina é usada tanto como tratamento de primeira linha como de segunda para tratar pacientes com LLC. Ela demonstra uma alta eficácia para pacientes classificados pelo Rai estágio intermediário e avançado. Além disso, ela também se mostrou eficaz para tratar tanto pacientes mais jovens (< ou = 65 anos) quanto os mais velhos (> 65 anos) (LEPORRIER, 2004).

Estudos desde a década de 1980, mostram como a introdução da Fludarabina foi essencial para o tratamento de pessoas com LLC, pois os análogos de purinas são os medicamentos citotóxicos muito efetivos no combate da doença (EICHHORST, 2005). O tratamento começou como uma monoterapia, que ao decorrer dos anos expandiu-se para um regime de combinação com ciclofosfamida e evoluiu ainda mais com a incorporação de anticorpos monoclonais (ELTER; HALLEK; ENGERT, 2006a).

Contudo, foi observado um aumento na incidência de casos de AHAI em pacientes que eram tratados com a Fludarabina. Esse fármaco tem poder desencadear ou até exacerbar qualquer anemia hemolítica presente no indivíduo, causando uma hemólise grave e em alguns casos até fatal (GARRATTY, 2010). Além da desregulação autoimune causada pelo monofosfato de fludarabina, outras complicações também estão associadas, como por exemplo: depressão da medula óssea, que causa as citopenias e a imunossupressão, deixando o paciente mais susceptível a infecções oportunistas. Para evitar esse tipo de alteração é indispensável uma boa estratégia terapêutica, para assim obter-se os benefícios trazidos por essa terapia (JULIUSSEN, 1997).

2.1.1.1.1 TRATAMENTO PARA AHAI INDUZIDA PELO USO DA FLUDARABINA

O tratamento precisa ser individualizado, pois é necessário levar em consideração os sinais e sintomas, gravidade e estado da doença e comorbidades pré-existentes (AUTORE et al., 2021). Quando o tratamento é direcionado para resolução da AHAI, a terapia específica para LLC deve ser suspensa e fica reservada para pacientes com doença ativa ou refratária (VITALE et al., 2020). Dependendo da intensidade da hemólise a corticoterapia tem um papel positivo no controle da AHAI, sendo necessário também reposição de ácido fólico e a transfusão de concentrado de hemácias que são medidas imprescindíveis para melhora e aumento dos níveis de Hb (BORDIN, 2005).

O uso de terapias à base de anticorpos monoclonais, como Rituximabe, tem se mostrado eficaz na resposta contra AHAI induzida pelo uso da fludarabina. Já é sabido que uma combinação de rituximabe, ciclofosfamida e fludarabina (FCR) pode ser utilizada para tratar LLC com a finalidade de diminuir eventos hemolíticos causados pela droga (BORTHAKUR et al., 2007). Outra combinação eficaz é o uso do rituximabe, ciclofosfamida e dexametasona (RCD), essa união foi bem tolerada pelos pacientes e mostrou uma alta taxa de resposta global (VITALE et al., 2020).

Entretanto, com os avanços e descobertas dos marcadores alvo específico, vem sendo estudadas novas medidas terapêuticas para melhoria no tratamento da LLC, visando uma boa resposta e menos efeitos colaterais. Entre elas temos: inibidor BCL-2, inibidor do fosfoinositol-3-quinase (PI3K) e o inibidor da tirosina quinase (BTK). Alguns deles são capazes de impedir a formação de autoanticorpos e ainda podem atuar na regulação da homeostase das células T, reduzindo assim o fenômeno de desregulação autoimune, mas tem alto custo (AUTORE et al., 2021; HALLEK; AL-SAWAF, 2021b).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do trabalho é analisar as consequências da AHAI induzida pelo uso da Fludarabina em pacientes com LLC ativa.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Dentre os objetivos específicos tem-se:

- Discutir a correlação entre LLC e AHAI;
- Avaliar qual(is) a(s) melhor(es) medida(s) terapêutica(s) para esse tipo de paciente;
- Analisar as consequências da AHAI induzida pelo uso da Fludarabina em indivíduos com LLC.

4 METODOLOGIA

O presente estudo consiste em revisão de literatura integrativa, que visa analisar as principais consequências da AHAÍ induzida pelo uso da Fludarabina em pacientes com LLC ativa.

Nesse sentido, os resultados foram apresentados de forma qualitativa, a partir da coleta de informações de fontes secundárias, incluindo plataformas de pesquisa, como *National Library of Medicine* (PubMed) e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO). A consulta foi realizada usando os Descritores de Saúde (DeCs), com as palavras-chaves: LLC de células B, anemia hemolítica autoimune, Fludarabina, tratamento e hemólise em português e seus respectivos correspondentes em inglês.

A seleção de artigos para inclusão foi baseada de acordo com sua relevância para o tema, periódicos disponibilizados gratuitamente e completos, com recorte temporal entre os anos de 1993 até agosto de 2022, nos idiomas português, inglês e espanhol. Foram excluídos artigos duplicados nas bases de pesquisas e aqueles que não possuíam significância para o tema do projeto.

Foram selecionados 5 artigos alocados em ordem cronológica de publicação, entre eles estudos retrospectivos e relatos de caso, que estejam de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Os artigos selecionados foram analisados integralmente e organizados em forma de quadro para que os dados obtidos estabelecessem uma relação com os objetivos propostos deste presente trabalho.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sumário dos artigos analisados foram abordados no Quadro 4, que descreve o nome do autor, título da obra e os principais achados.

Quadro 4 - Resultados

AUTOR:	TÍTULO ORIGINAL DA OBRA:	RESULTADOS:
Myint et al; 1995.	Fludarabine-related autoimmune haemolytic anaemia in patients with chronic lymphocytic leukaemia	Estudo retrospectivo com 52 pacientes com LLC e 12 desenvolveram AHAI após o tratamento com Fludarabina.
Tertian et al; 1996.	Fatal intravascular autoimmune hemolytic anemia after fludarabine treatment for chronic lymphocytic leukemia	Relato de caso, paciente com LLC que desenvolveu AHAI abrupta e fatal, após o uso da Fludarabina.
Villas et al; 1997.	ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE ASSOCIADA A FLUDARABINA	Quadro de LLC associada a AHAI, após uso da Fludarabina com desfecho fatal por complicações causadas pela anemia.
Weiss et al; 1998.	Hemolytic Anemia After Fludarabine Therapy for Chronic Lymphocytic Leukemia	Estudo retrospectivo onde 24 pacientes com LLC, desenvolveram AHAI após tratamento com Fludarabina.
Nishida et al; 2006.	Fludarabine-associated autoimmune hemolytic anemia occurring in B-cell chronic lymphocytic leukemia	Paciente desenvolveu AHAI após uso da Fludarabina com boa resposta no controle da anemia mediante ao uso do Rituximabe.

FONTE: Autora, 2022

Segundo Myint et al (1995), uma pesquisa realizada com 52 pacientes com LLC, constatou que 12 desses indivíduos tratados com fludarabina, desenvolveram AHAI grave por anticorpos quentes. Todos tinham estadiamento B ou C, Bintent, e uma leucocitose sustentada antes do início do tratamento. Entre os dozes, nove pacientes não tinham histórico de hemólise e apresentavam o TAD negativo antes de iniciar o tratamento. A AHAI foi diagnosticada por uma queda de hemoglobina associada a esferócitos, uma reticulocitose, aumento urobilinogênio urinário e um teste de antiglobulina direto positivo. Todos que desenvolveram a AHAI grave foram tratados com corticoides e em alguns casos transfusões de concentrado de hemácias. Ocorreram cinco mortes, uma delas foi pela exarcebação da hemólise após 2 ciclos de fludarabina, três morreram de infecções e outro faleceu de pneumonia.

Um estudo de caso publicado por Tertian et al (1996) relatou a presença de um episódio hemolítico e fatal em um homem de 65 anos. Ele tinha uma linfocitose sustentada, com TAD negativo e não apresentava nenhum sinal de hemólise. Após alguns meses seu caso evoluiu ele apresentava esplenomegalia, seu hemograma apresentava uma leucocitose, hemoglobina de 9,3 g/dl e uma plaquetopenia, na contagem diferencial 98% das células eram linfócitos. A imunofenotipagem confirmou células B expressando CD5, CD19, CD23 e IgD kappa e seu teste TAD foi positivo para IgG e por isso foi submetido a 3 ciclos de Fludarabina. Logo após o primeiro ciclo ele apresentou uma rápida redução no número de leucócitos circulantes; no segundo ciclo seu teste TAD apresentou a positividade para anti- Cd3 e após seis semanas do terceiro ciclo ele foi admitido na emergência com quadro de anemia hemolítica intravascular de início súbito. Os exames laboratoriais mostraram uma Hb de 4,6g/dl, urina escura, reticulocitose, aumento da bilirrubina indireta e diminuição da haptoglobina. Ele apresentava síndrome desconforto respiratório aguda, choque, acidose e insuficiência renal aguda, acabou falecendo algumas horas depois após transfusão de concentrado de hemácias e altas doses de corticóides. Não foi possível confirmar, mas esse relato de caso leva a crer que o paciente desenvolveu uma AHAI mista.

Em ambos estudos, citados acima, existe uma semelhança nos sintomas clínicos e achados laboratoriais dos pacientes que desenvolvem AHAI. Segundo Juliusson (1997), essas características são justificadas pela decorrência da desregulação autoimune causada pelo uso do monofosfato de fludarabina, essa mesma perspectiva é compartilhada por Bordin (2005), autor que reforça o processo de imunossupressão causada pelo fármaco.

Um estudo retrospectivo feito por Weiss et al (1998), realizou uma revisão de relatórios fornecidos pelo FDA, que incluiu 24 pacientes, com idade mediana de 68 anos, no qual três desenvolveram AHAI após o sexto ciclo de fludarabina, enquanto os outros apresentaram a AHAI depois do quarto ou quinto ciclo de tratamento. Esses pacientes apresentaram um hematócrito médio de 16% (variação de 6,1 a 21,3%), dosagem de haptoglobina, realizada em 14 pacientes, foi baixa (<5 mg/dl); dos 24 indivíduos, 19 apresentaram TAD positivo e os outros 5 foram negativos. Entre os 24 pacientes, 7 acabaram falecendo em decorrência da anemia hemolítica, após o uso da fludarabina.

Outras complicações também ocorreram nesses pacientes após o tratamento da AHAI, como o aparecimento de infecções oportunistas e infiltrado pulmonar, que acredita-se ter ocorrido pela toxicidade pulmonar causada pela fludarabina.

Do mesmo modo, um estudo de caso realizado por Villa et al (1997) também descreveu um processo hemolítico abrupto e conseqüentemente fatal em um homem, 63 anos, estadiamento IV Rai e C Binet, após o uso da Fludarabina como monoterapia. Antes do óbito ele apresentou anemia, febre baixa e icterícia, os exames laboratoriais revelaram hemoglobina (Hb) 7,2 g/dl, reticulócitos 13,4%, bilirrubina direta 15 mg/dl, LDH 1140 U/l e a haptoglobina indetectável. Mesmo após um mês da suspensão da Fludarabina ele ainda apresentava um alto grau hemolítico e precisava constantemente de transfusões. Foi decidido fazer a remoção do baço para melhora do quadro clínico, mas o paciente faleceu por complicações pós-cirúrgicas.

Os dados acima estão diretamente relacionados ao conceito de ativação e/ou exarcebação do efeito hemolítico causado pelo uso da fludarabina para tratar LLC ativa, ideia compartilhada por Garratty (2010); o autor reforça que as complicações causadas pelo uso dos análogos de purinas podem variar de grave até fatal. Outras intercorrências causadas em decorrência do uso da fludarabina também foram descritas pelo autor Juliusson (1997).

Outro relato de caso realizado por Nishida et al (2006) descreveu que um homem de 80 anos, diagnosticado com LLC estadiamento III de Rai, foi internado em 2004 no *National Tokyo Medical Center Hospital*, em Tóquio no Japão, após apresentar um quadro de hepatoesplenomegalia, leucocitose com mais de 86% de linfócitos, Hb 10 g/dl, plaquetopenia e com TAD negativo. Foi submetido a um ciclo de Fludarabina, que se mostrou eficaz na resposta medicamentosa, com melhora do quadro clínico e laboratorial, porém seis meses após ao tratamento sua anemia progrediu gradualmente, Hb de 7,5 g/dl, baixos níveis de haptoglobina, reticulocitose e um aumento da LDH e bilirrubina, TAD positivo confirmando o diagnóstico da AHAI. Foi iniciado rapidamente o tratamento com Rituximabe e prednisolona que demonstrou melhora do quadro clínico da AHAI nesse paciente. A descrição do protocolo de tratamento corrobora a ideia de Borthakur et al (2007) que fala sobre o benefício do uso do Rituximabe para tratar AHAI causada pelo uso da fludarabina, já

que o paciente teve uma boa resposta no controle da anemia hemolítica.

Diante todas as informações apresentadas até aqui, é possível notar que a Fludarabina é um quimioterápico com um papel importante no tratamento da LLC, porém seus efeitos hemolíticos, imunossupressão e toxicidade podem causar complicações graves em pacientes que a utilizam.

6 CONCLUSÃO

Discutir sobre o uso da Fludarabina em pacientes com LLC ativa, justifica-se pelo fato de que, o fármaco analisado pode causar um fenômeno de autoimunidade nesses indivíduos, sendo a AHAI o mais frequente. Como principais resultados dessa pesquisa é possível elencar que as consequências ocasionadas pela AHAI são em decorrência da instauração e exacerbação do processo hemolítico, que pode diminuir drasticamente os níveis de hemoglobina podendo levar esse tipo de paciente ao óbito rapidamente. Sendo assim, é possível notar que essa medida terapêutica pode impactar diretamente o prognóstico e a qualidade de vida desses doentes. O uso de terapia alvo específico, como inibidores BTK ou anti-BCL2 entre outros, ou combinação da quimioterapia com anticorpos monoclonais, Rituximabe, tem um papel benéfico para controle e prevenção de episódios de autoimunidade em pacientes com LLC ativa, porém essas medidas terapêuticas tem um alto custo.

Os conteúdos aqui apresentados demonstram que muitas outras pesquisas ainda podem ser realizadas, principalmente sobre os benefícios do diagnóstico precoce da AHAI induzida pelo uso da fludarabina; tratamentos mais eficazes para controle do grau de hemolítico e intervenções terapêuticas específicas com baixo custo benefício, são assuntos pertinentes para ampliar os conhecimentos científicos a cerca dessa temática.

Portanto, é preciso reconhecer que o investimento em novas pesquisas é de suma importância para o desenvolvimento de medidas terapêuticas que visem manter uma boa qualidade de vida, maior longevidade e controle da doença para esse tipo de paciente.

REFERÊNCIAS

ALVES, C. DO V. **Leucemia Linfocítica Crônica Fisiopatologia, diagnóstico e abordagens terapêuticas**. Lisboa: universidade de Lisboa, 2017.

AUTORE, F. et al. Autoimmune Hemolytic Anemia in Chronic Lymphocytic Leukemia: A Comprehensive Review. **Cancers**, v. 13, n. 22, p. 5804, 19 nov. 2021.

BARCELLINI, W.; FATTIZZO, B. How I treat warm autoimmune hemolytic anemia. **Blood**, v. 137, n. 10, p. 1283–1294, 11 mar. 2021.

BERENTSEN, S. How I manage patients with cold agglutinin disease. **British Journal of Haematology**, v. 181, n. 3, p. 320–330, maio 2018.

BORDIN, J. O. Anemia hemolítica auto-imune e outras manifestações imunes da leucemia linfocítica crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 27, n. 4, dez. 2005.

BORTHAKUR, G. et al. Immune anaemias in patients with chronic lymphocytic leukaemia treated with fludarabine, cyclophosphamide and rituximab? incidence and predictors. **British Journal of Haematology**, v. 136, n. 6, p. 800–805, mar. 2007.

BURGER, J. A. et al. The microenvironment in mature B-cell malignancies: a target for new treatment strategies. **Blood**, v. 114, n. 16, p. 3367–3375, 15 out. 2009.

DEARDEN, C. et al. The prognostic significance of a positive direct antiglobulin test in chronic lymphocytic leukemia: a beneficial effect of the combination of fludarabine and cyclophosphamide on the incidence of hemolytic anemia. **Blood**, v. 111, n. 4, p. 1820–1826, 15 fev. 2008.

EICHHORST, B. F. Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first-line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia. **Blood**, v. 107, n. 3, p. 885–891, 13 out. 2005.

ELTER, T.; HALLEK, M.; ENGERT, A. Fludarabine in chronic lymphocytic leukaemia. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 7, n. 12, p. 1641–1651, 28 ago. 2006.

GARRATTY, G. Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. **Blood Reviews**, v. 24, n. 4–5, p. 143–150, jul. 2010.

HALLEK, M. et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. **Blood**, v. 131, n. 25, p. 2745–2760, 21 jun. 2018.

HALLEK, M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. **American Journal of Hematology**, v. 94, n. 11, p. 1266–1287, 4 nov. 2019.

HALLEK, M.; AL-SAWAF, O. Chronic lymphocytic leukemia: 2022 update on diagnostic and therapeutic procedures. **American Journal of Hematology**, v. 96, n. 12, p. 1679–1705, 24 dez. 2021a.

HILL, Q. A. et al. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. **British Journal of Haematology**, v. 176, n. 3, p. 395–411, fev. 2017.

JULIUSSON, G. Complications in the treatment of CLL with purine analogues. **Hematology and Cell Therapy**, v. 39, n. S1, p. S41–S44, nov. 1997.

KIKUSHIGE, Y. et al. Self-Renewing Hematopoietic Stem Cell Is the Primary Target in Pathogenesis of Human Chronic Lymphocytic Leukemia. **Cancer Cell**, v. 20, n. 2, p. 246–259, ago. 2011.

LEPORRIER, M. Role of fludarabine as monotherapy in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. **The Hematology Journal**, v. 5, p. S10–S19, 2004.

MOREAU, E. J. et al. Improvement of the Chronic Lymphocytic Leukemia Scoring System With the Monoclonal Antibody SN8(CD79b). **American Journal of Clinical Pathology**, v. 108, n. 4, p. 378–382, 1 out. 1997.

MYINT, H. et al. Fludarabine-related autoimmune haemolytic anaemia in patients with chronic lymphocytic leukaemia. **British journal of haematology**, v. 91, n. 2, p. 341–344, 1995.

NISHIDA, Hiroko et al. Fludarabine-associated autoimmune hemolytic anemia occurring in B-cell chronic lymphocytic leukemia. **Leukemia research**, v. 30, n. 12, p. 1589–1590, 2006.

OLIVEIRA, I. M. **Leucemia Linfocítica Crônica: fisiopatologia, diagnóstico e terapêutica**. TESE DE DOUTORADO—LISBOA: UNIVERSIDADE DE LISBOA, 2021.

PFISTER, Verena. Comparação das características clínicas, laboratoriais e dos desfechos de pacientes com leucemia linfocítica crônica acompanhados em hospitais públicos ou privados no Brasil: uma análise retrospectiva do Registro Brasileiro de Leucemia Linfocítica Crônica. 2020.

RAMONDO, Francesco Di et al. Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia patients treated with fludarabine. **Leukemia & lymphoma**, v. 11, n. 1-2, p. 63–68, 1993.

TERTIAN, G. et al. Fatal intravascular autoimmune hemolytic anemia after fludarabine treatment for chronic lymphocytic leukemia. **Hematology and cell therapy**, v. 38, n. 4, p. 359–360, 1996.

CALVO VILLAS, J. M. et al. Anemia hemolítica autoimune asociada a fludarabina. **Farm Hosp**, v. 21, n. 5, 1997.

VITALE, C. et al. Autoimmune complications in chronic lymphocytic leukemia in the era of targeted drugs. **CancersMDPI AG**, , 1 fev. 2020.

WEISS, R. B. et al. Hemolytic anemia after fludarabine therapy for chronic lymphocytic leukemia. **Journal of Clinical Oncology**, v. 16, n. 5, p. 1885–1889, maio 1998.