



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA CLÍNICA

MABEL GOMES DE BRITO FERNANDES QUEIROZ

**AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS NATURAL KILLER (NK) COMO
FATOR PREDISPONENTE DE MUCOSITE E DE IMPACTO NO DESFECHO
CLÍNICO DURANTE A QUIMIOTERAPIA DE INDUÇÃO EM PACIENTES COM
LEUCEMIA AGUDA**

FORTALEZA-CEARÁ

2025

MABEL GOMES DE BRITO FERNANDES QUEIROZ

AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS NATURAL KILLER (NK) COMO
FATOR PREDISPONENTE DE MUCOSITE E DE IMPACTO NO DESFECHO CLÍNICO
DURANTE A QUIMIOTERAPIA DE INDUÇÃO EM PACIENTES COM LEUCEMIA
AGUDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia clínica.

Orientador: Prof. Dr. Roberto César Pereira Lima Júnior

FORTALEZA-CEARÁ

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Q45a Queiroz, Mabel Gomes de Brito Fernandes.
Avaliação da contagem de células natural killer (nk) como fator predisponente de mucosite e de impacto no desfecho clínico durante a quimioterapia de indução em pacientes com leucemia aguda / Mabel Gomes de Brito Fernandes Queiroz. – 2025.
68 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Mestrado Profissional em Farmacologia Clínica, Fortaleza, 2025.
Orientação: Prof. Dr. Roberto César Pereira Lima Júnior.

1. Leucemia. 2. Quimioterapia de indução. 3. Mucosite. 4. Células NK. I. Título.

CDD 615.1

MABEL GOMES DE BRITO FERNANDES QUEIROZ

AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS NATURAL KILLER (NK) COMO
FATOR PREDISPONENTE DE MUCOSITE E DE IMPACTO NO DESFECHO CLÍNICO
DURANTE A QUIMIOTERAPIA DE INDUÇÃO EM PACIENTES COM LEUCEMIA
AGUDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia clínica.

Aprovada em: 28/03/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Roberto César Pereira Lima Júnior (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Dayane Alves Costa
Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

Prof. Dra. Silvia Maria Meira Magalhaes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus filhos, Matheus e Bento, e ao meu
esposo Daniel.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado a oportunidade de ingressar no programa de pós-graduação em Farmacologia e no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA).

Ao Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) pela oportunidade de compor o clínico do laboratório e permitir aliar prática clínica e pesquisa científica.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Roberto Cesar, por sua excelente qualidade técnica e por ser exemplo de vocação de um verdadeiro professor e pesquisador.

Aos professores participantes das bancas de defesa e de qualificação, Profa. Dra. Silvia Magalhaes e Profa. Dra. Dayane Costa, Profa. Dra. Romelia Pinheiro, Profa. Dra. Caroline de Fatima, Prof. Dr. Pedro Everson pelo tempo dedicado e pelas valiosas contribuições.

Aos colegas da pós-graduação pela parceria nas aulas, nos seminários e na coleta de dados para desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos meus pais por sempre incentivarem meus estudos.

Aos queridos amigos, Hélio, Rebeca, Andrea e Davi, que junto comigo compõe o material humano do Laboratório de Citometria de Fluxo do HEMOCE.

Aos pacientes portadores de leucemia aguda que mesmo diante de uma doença agressiva e debilitante se prontificaram a fazer parte dessa pesquisa.

“Porque a sabedoria entrará no teu coração, e o conhecimento será agradável a tua alma. O bom discernimento te guardará, e o entendimento te protegerá.” (Provérbios 2:10-11.)

RESUMO

INTRODUÇÃO: A leucemia aguda é uma doença maligna caracterizada pela proliferação clonal de células hematopoiéticas imaturas na medula óssea. A mucosite gastrointestinal corresponde ao processo inflamatório caracterizado por eritema e ulceração que pode ocorrer em qualquer região da mucosa digestiva e compreende um importante e dispendioso efeito colateral associado à quimioterapia de indução utilizada para leucemia. As células NK são um subtipo de linfócitos que através de diversos mecanismos desempenham um importante papel na imunidade inata. **OBJETIVOS:** Avaliar a correlação entre a contagem de células NK e o desenvolvimento de mucosite oral e diarreia nos pacientes portadores de leucemia aguda submetidos a quimioterapia de indução. **MATERIAIS E MÉTODOS:** O estudo seguiu um modelo prospectivo, observacional e analítico, tendo como população-alvo os pacientes com leucemia aguda. A amostra foi composta por 70 pacientes diagnosticados no período de agosto de 2023 a dezembro de 2024. Para coleta dos dados, foram utilizados percentual de células NK determinado por citometria de fluxo de material proveniente de medula óssea ou sangue periférico, prontuários eletrônicos e um formulário de coleta de dados elaborado pelos autores. **RESULTADOS:** A idade média dos pacientes foi de 43 anos com uma faixa variando de 21 a 68 anos. O fenótipo mais encontrado das leucemias em nosso estudo foi a leucemia mieloide aguda, que correspondeu a 47 pacientes (67,1%); com relação ao risco citogenético/molecular, a maioria dos pacientes (63,2%) foi classificada como alto risco. Em relação aos efeitos adversos gastrointestinais, 36 pacientes (59%) apresentaram algum grau de mucosite oral e 31 pacientes (50,8%) apresentaram algum grau de diarreia. No que diz respeito à infecção, 53 pacientes (86,9%) apresentaram neutropenia febril e 46 pacientes (75,4%) apresentaram algum grau de infecção com foco definido. Quando se avaliaram as amostras de 27 pacientes que realizaram percentual de células NK antes e após quimioterapia de indução, a maioria dos pacientes (77,7%) apresentou queda no valor de células NK após tratamento, e se observou uma associação significativa com a presença de mucosite oral e diarreia, quantidade de linfócitos T, monócitos e desfecho clínico quando a queda no valor de células NK após quimioterapia de indução foi maior que 6%. **CONCLUSÃO:** A redução no valor do percentual sanguíneo de células NK após tratamento apresentou associação com mucosite oral, diarreia, infecção e com melhor taxa de resposta durante quimioterapia de indução em pacientes com leucemia aguda, o que destaca a relevância potencial das células NK como possível biomarcador prognóstico e terapêutico nesse contexto clínico.

Palavras-chave: leucemia; quimioterapia de indução; mucosite; células NK.

ABSTRACT

EVALUATION OF NATURAL KILLER (NK) CELL COUNT AS A PREDISPOSING FACTOR FOR MUCOSITIS AND IMPACT ON CLINICAL OUTCOME DURING INDUCTION CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA

INTRODUCTION: Acute leukemia is a malignant disease characterized by the clonal proliferation of immature hematopoietic cells in the bone marrow. Gastrointestinal mucositis is an inflammatory process characterized by erythema and ulceration that can occur in any region of the digestive mucosa and is an important and costly side effect associated with induction chemotherapy used for leukemia. NK cells are a subtype of lymphocytes that play an important role in innate immunity through several mechanisms. **OBJECTIVES:** Evaluate the correlation between NK cell count and the development of oral mucositis and diarrhea in patients with acute leukemia undergoing induction chemotherapy. **MATERIALS AND METHODS:** The study followed a prospective, observational and analytical model, with patients with acute leukemia as the target population. The sample consisted of 70 patients diagnosed between August 2023 and December 2024. For data collection, the percentage of NK cells determined by flow cytometry of material from bone marrow or peripheral blood, electronic medical records, and a data collection form prepared by the authors were used. **RESULTS:** The mean age of patients was 43 years, with a range from 21 to 68 years. The most common leukemia phenotype in our study was acute myeloid leukemia, which corresponded to 47 patients (67.1%); regarding cytogenetic/molecular risk, most patients (63.2%) were classified as high risk. Regarding gastrointestinal adverse effects, 36 patients (59%) had some degree of oral mucositis and 31 patients (50.8%) had some degree of diarrhea. Regarding infection, 53 patients (86.9%) had febrile neutropenia and 46 patients (75.4%) had some degree of infection with a defined focus. When the samples of 27 patients who underwent NK cell percentage testing before and after induction chemotherapy were evaluated, most patients (77.7%) showed a decrease in NK cell levels after treatment, and a significant association was observed with the presence of oral mucositis and diarrhea, number of T lymphocytes, monocytes and clinical outcome when the decrease in NK cell levels after induction chemotherapy was greater than 6%. **CONCLUSION:** The reduction in the blood percentage of NK cells after treatment was associated with oral mucositis, diarrhea, infection and with a better response rate during induction chemotherapy in patients with acute

leukemia, which highlights the potential relevance of NK cells as a possible prognostic and therapeutic biomarker in this clinical context.

Keywords: leukemia; induction chemotherapy; mucositis; NK cells.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Patogênese e linha do tempo da mucosite intestinal induzida por quimioterapia.....	27
Figura 2 – Funções das células NK no Sistema imunológico.....	33
Figura 3 – Fluxograma de seleção de pacientes e análise de dados.....	38
Figura 4 – Estratégia de classificação de células NK por citometria de fluxo.....	41

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Toxicidade gastrointestinal	53
Gráfico 2 – Distribuição das subpopulações linfocitárias t e NK após-QT.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação de risco citogenético e molecular da leucemia mieloide aguda.....	18
Tabela 2 –	Preditores prognóstico nas leucemias linfoides aguda.....	19
Tabela 3 –	Protocolo Hyper-CVAD.....	23
Tabela 4 –	Protocolo CALGB.....	24
Tabela 5 –	Crítérios Terminológicos Comuns para Eventos Adversos Gastrointestinais.....	28
Tabela 6 –	Painel utilizado para definição de subpopulações linfocitárias.	40
Tabela 7 –	Características clínico epidemiológicas dos pacientes com Leucemia Aguda.....	47
Tabela 8 –	Características clínico-patológicas dos pacientes com Leucemia Aguda...	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABL	<i>Abelson Leukemia Virus</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ARA-C	Citarabina
ATRA	Ácido transretinoico
HLA	Antígeno leucocitário humano
HEMOCE	Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará
CD3	<i>Cluster of Differentiation 3</i>
CD16	<i>Cluster of Differentiation 16</i>
CD33	<i>Cluster of Differentiation 33</i>
CD56	<i>Cluster of Differentiation 56</i>
CFM	Ciclofosfamida
CTCAE	Crítérios terminológicos comuns para eventos adversos
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
ROC	Curva de característica de operação do receptor
GvHD	Doença do enxerto versus hospedeiro
DRM	Doença residual mensurável
DOX	Doxurrubicina
DEX	Dexametasona
ECO	Ecocardiograma
EV	Endovenoso
GvL	Enxerto versus leucemia
NKG2D	Família NKG2D de receptores semelhantes a lectinas do tipo C
TNK- α	Fator de necrose tumoral alfa
Ph	Filadélfia
FEVE	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
PML	Gene da leucemia promielocítica
RARA	Gene do receptor de ácido retinóico alfa
Hb	Hemoglobina
FISH	Hibridização <i>in situ</i> por fluorescência
HGF	Hospital Geral de Fortaleza
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
ITK	Inibidores de tirosina quinase

INCA	Instituto Nacional do Câncer
INF- γ	Interferon gama
IL-1b	Interleucina 1beta
IL-12	Interleucina 12
IL-15	Interleucina 15
IL-18	Interleucina 18
IL-33	Interleucina 33
LLA	Leucemia Linfoide Aguda
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
LPA	Leucemia Promielocítica Aguda
LB	Linfócito B
LT	Linfócito T
LDAC	<i>Low dose cytarabine</i>
MO	Medula Óssea
MTX	Metotrexato
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
QT	Quimioterapia
PDN	Prednisona
NKG2A	Receptor 2A semelhante a lectina tipo C
PCR	Reação em cadeia da polimerase
qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa
KIR	Receptor do tipo imunoglobulina assassina
FcR γ	Receptor da porção Fc gama
NCR	Receptor de citotoxicidade natural
NKp46	Receptor desencadeador de citotoxicidade natural 1
TCR	Receptores de célula T
RC	Resposta completa
SP	Sangue periférico
SC	Subcutâneo
SNC	Sistema nervoso central
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
ATO	Trióxido de arsênio
TCTH	Transplante de células-tronco hematopoiéticas

UFC	Universidade Federal do Ceará
VCN	Vincristina
VO	Via oral
6-MP	6-mercaptopurina
7+3	Citarabina mais antracíclico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	Tratamento de indução da Leucemia Mieloide Aguda	20
1.2	Tratamento de indução da Leucemia Linfoide Aguda	22
1.3	Toxicidade gastrointestinal induzida por quimioterapia	25
1.4	O papel das células NK no sistema imunológico.....	29
2	JUSTIFICATIVA	34
3	OBJETIVOS.....	35
3.1	Objetivo geral.....	35
3.2	Objetivos específicos.....	35
4	MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1	Modelo do estudo, local e amostra	36
4.2	Procedimento de coleta de dados	36
4.3	Determinação do percentual de células NK em materiais de MO ou SP.	40
4.4	Análise dos dados.....	43
4.5	Aspectos éticos.....	43
5	RESULTADOS.....	45
6	DISCUSSÃO.....	55
7	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS.....	62
	ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	68
	ANEXO B – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS	69

1 INTRODUÇÃO

A leucemia aguda é uma doença maligna heterogênea caracterizada pela proliferação clonal de células hematopoiéticas imaturas na medula óssea. A depender da fase de maturação e da linhagem celular acometida, pode ser classificada em aguda ou crônica, mieloide ou linfoide. A Organização Mundial de Saúde (OMS) define a leucemia aguda pela presença de 20% ou mais de blastos na medula óssea e/ou no sangue. (Khoury *et al*, 2022)

Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), estima-se que sejam diagnosticados no Brasil 5.920 casos novos de leucemia em homens e 4.890 em mulheres a cada triênio. O último dado do Estado do Ceará computou 470 novos casos ao ano. Anualmente a incidência aumenta podendo chegar a atingir 10% da população acima dos 68 anos de idade. Esses dados incluem os quatro tipos mais relevantes de leucemias: leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crônica (LMC), leucemia linfoide aguda (LLA) e leucemia linfoide crônica (LLC) em ordem decrescente de frequência, sendo a LMA responsável por 90% dos casos. Para o diagnóstico, os estudos recomendam um aspirado de medula óssea para citologia e citotóxica, imunofenotipagem para definição do subtipo e uma biópsia para histopatológico. (INCA, 2021)

A incidência das leucemias agudas varia de acordo com a idade, sendo a LMA mais prevalente em adultos maiores de 60 anos. Em todas as faixas etárias, a incidência é maior em homens que em mulheres e a idade média de diagnóstico é 68 anos. A epidemiologia da LLA segue uma distribuição bimodal, o risco é maior em crianças com menos de 5 anos de idade, diminui lentamente até meados dos 20 anos e começa a aumentar novamente após os 50 anos, representando uma doença crítica quando acomete adultos. Em relação a linhagem, 75% dos casos se desenvolvem a partir de precursores da linhagem de células B, com o restante dos casos consistindo em precursores malignos de células T. (Shimony *et al*, 2025) (Basquiera *et al*, 2023)

O tratamento padrão inicial da leucemia aguda consiste em quimioterapia de indução, que geralmente requer uma internação hospitalar de pelo menos um mês, um período que está associado a uma alta mortalidade precoce devido à doença subjacente e às complicações do tratamento. O objetivo principal do tratamento da leucemia aguda é atingir a resposta completa com o reestabelecimento da hematopoese e, conseqüentemente, a remissão hematológica. Antes de iniciar, é conveniente realizar uma avaliação clínica para determinar se o paciente é considerado apto para realizar um regime intenso de quimioterapia. Embora a idade seja apenas um, e não o mais importante preditor de mortalidade, a avaliação do risco

de mortalidade relacionada ao tratamento geralmente é mais relevante em pacientes acima de 65 anos. (Dohner *et al*, 2017)

A consolidação (fase subsequente do tratamento) é realizada nos pacientes que atingem remissão clínica, hematológica e molecular. Sabe-se que a consolidação é necessária para prolongar a duração da remissão hematológica. O desfecho clínico varia desde a sobrevida de alguns dias até a cura definitiva, de acordo com aspectos clínicos e biológicos, o que é útil na estratificação de risco e previsão de desfechos. A estratificação de risco da LMA é classificada de acordo com um conjunto de alterações citogenéticas e moleculares conforme listado na **Tabela 1**. (Kartarjian *et al*, 2025)

Tabela 1 – Classificação de risco citogenético e molecular da LMA

Risco	Cariótipo	Anormalidades moleculares
Baixo	Inv(16), t(16:16) t(8:21) t(15:17)	Cariótipo normal: NPM1 mutado sem FLT3-ITD CEBPA mutado
Intermediário	Cariótipo normal Trissomia do 8 isolada t(9:11) Outros indefinidos	NPM1 mutado com FLT3-ITD NPM1 tipo selvagem com FLT3-ITD tipo selvagem
Alto	Cariótipo complexo (três ou mais anormalidades citogenéticas clonais) Monossomia: 5, 5q-, 7, 7q-, 11q23, ausência de t(9:11) inv(3), t(3:3) t(6:9), ou t(9:22), ou t(8:16)	Tp53 mutado Mutações do RUNX1, ASXL1, BCOR, SF3B1, SR5F2, STAG2, U2AF1 e/ou ZRSR2 NPM1 tipo selvagem e FLT3-ITD com alta frequência alélica

Fonte: Adaptado de NCCN/LeukemiaNet

Além da presença de alterações citogenéticas e moleculares desfavoráveis, outros fatores como quantidade de leucócitos e porcentagem de blastos, grau de anemia, idade, comorbidades, insuficiência renal, fatores psicológicos e sociais, elegibilidade à quimioterapia intensa e/ou transplante determinam o prognóstico da LMA. A sobrevida global estimada em 5 anos é de 32%, podendo atingir até 50% em pacientes jovens, porém é menos de 10% em pacientes com mais de 60 anos. (Short *et al*, 2018) (Kartarjian *et al*, 2025)

Semelhante à LMA, a estratificação de risco da LLA é baseada em fatores clínicos como idade, resposta à quimioterapia, além de alterações genéticas recorrentes. Os fatores prognósticos mais prevalentes estão evidenciados na **Tabela 2**. Embora tenha havido melhora

nos resultados para pacientes pediátricos, o prognóstico em adultos continua ruim. Pacientes adultos com LLA-B apresentam alterações genéticas de alto risco quatro vezes mais frequentemente que pacientes pediátricos. Apesar das altas taxas de resposta à quimioterapia de indução, apenas 30% a 40% dos pacientes adultos alcançam remissão de longo prazo. Pacientes idosos geralmente são incapazes de tolerar regimes intensos e, por esse motivo, apresentam um prognóstico particularmente ruim. (Pagliaro *et al*, 2024)

Tabela 2 – Preditores Prognóstico nas Leucemias Linfoides Aguda

	Risco padrão	Alto risco
Idade	<60	>60
Sexo	Feminino	Masculino
Raça	Branca, asiático	Negro, hispânico
Obesidade	Ausência	Presença
Infiltração SNC	Ausência	Presença
Contagem de leucócitos	Abaixo de 30.000	Acima de 30.000
Imunofenótipo	Linhagem B	Linhagem T
Citogenética	Hiperploídia <i>ETV::RUNX1</i> <i>TCF3::PBX1</i> <i>DUX4, ERG</i>	Hipoploídia <i>KMT2A</i> <i>TCF3-HLF</i> <i>BCR::ABL1</i> Ph like <i>MEF2D</i>
Doença residual mensurável (DRM)	<10 ⁻³ células nucleares ou indetectável	>10 ⁻³ células nucleares

Fonte: Adaptado de Basquiera et al, 2023.

Um importante fator prognóstico nas leucemias aguda é a resposta ao tratamento inicial, ou seja, a quantidade de doença após quimioterapia de indução. A doença residual mensurável (DRM) é a medida padrão para avaliar tal resposta, pois corresponde à presença de doença em pacientes que apresentam resposta completa (RC) por análise convencional. Para quantificação da DRM, a citometria de fluxo multiparamétrica tem sido amplamente usada por ser um método rápido, e tão sensível quanto os estudos moleculares por reação em

cadeia da polimerase quantitativa (qPCR), porém requer experiência técnica e padronização. O uso das novas tecnologias incluindo métodos de concentração das amostras podem detectar a doença em sensibilidade de 10^{-6} células. (Jonger *et al*, 2018) (Basquiera *et al*, 2023)

Um resultado de DRM positiva é um preditor de resistência ao tratamento e de maior chance de recaída e, dessa forma, possibilita a antecipação e a programação de intervenções como o transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) ou terapia direcionada para mutações e/ou alvos moleculares específicos. O TCTH alogênico faz parte da terapia padrão, permite um incremento nas taxas de resposta e possibilita aumento nas taxas de cura de pacientes de risco intermediário e elevado. (Kartarjian *et al*, 2025)

1.1 Tratamento de indução da Leucemia Mieloide Aguda

Nas últimas 5 décadas, a quimioterapia padrão para tratamento da LMA foi a combinação de citarabina e antraciclina (esquema comumente conhecido como 7+3), que consiste em citarabina 100–200 mg/m² por infusão contínua diariamente por 7 dias e daunorrubicina 60–90 mg/m² (ou idarrubicina 12 mg/m²) diariamente por 3 dias. Tal protocolo é considerado um modelo aceitável de tratamento, porém está associado a uma taxa de sobrevida global de longo prazo de 40% em pacientes jovens e menos de 10% nos pacientes mais idosos que foram elegíveis a quimioterapia intensiva. (Fernandes *et al*, 2009) (Burnett *et al*, 2013)

Existe também algumas opções alternativas de tratamento, como o protocolo FLAG mais idarrubicina (FLAG-IDA), que traz uma combinação efetiva: indução com citarabina em alta dose (1,5–2,0 g/m² diariamente por 5 dias) associada a fludarabina e idarrubicina em vez de daunorrubicina. No entanto, é ainda mais intenso e mais difícil de manejar do que o 7 + 3 devido aos efeitos colaterais associados à mielossupressão. Em geral, a citarabina em altas doses é utilizada por 3 dias nas consolidações, mas também é uma opção aceitável na terapia de indução. (Burnett *et al*, 2015)

Estudos sobre a posologia da dose de daunorrubicina evidenciaram que 60 mg/m² diariamente por 3 dias é tão eficaz quanto 90 mg/m², com um melhor perfil de segurança. A idarrubicina 12 mg/m² diariamente por 3 dias é tão eficaz quanto daunorrubicina, e foi até superior em alguns estudos, porém, mesmo em alguns centros oncológicos de referência, o acesso a idarrubicina é bastante limitado. (Burnett *et al*, 2015)

Para pacientes jovens considerados elegíveis para terapia de indução, as opções atuais de tratamento abrangem 7 + 3 ou regimes mais intensivos, com ou sem terapias

direcionadas. As terapias direcionadas disponíveis incluem (1) gemtuzumab ozogamicina, um conjugado anticorpo-medicamento, composto pelo anticorpo monoclonal direcionado ao antígeno CD33 (comumente presente em blastos mieloides leucêmicos) ligado ao agente citotóxico caliqueamicina, (2) venetoclax, um antagonista do BCL-2, que ao se ligar ao BCL-2 (oncogene com ação antiapoptótica) libera proteínas pró-apoptóticas que estavam presas a este sítio de ligação, e, quando as deixa livres, altera a permeabilidade na superfície mitocondrial, resultando na morte da célula tumoral; os pacientes com neoplasias hematológicas, incluindo a LMA, apresentam superexpressão de BCL-2, o que favorece o bloqueio da apoptose e conseqüente o surgimento, crescimento e manutenção do câncer, essa superexpressão também foi implicada como um fator de resistência a quimioterapia, causando a redução da sobrevida livre de progressão e sobrevida global dos pacientes, (3) inibidores da tirosina quinase 3 (FLT3), midostaurin, que atua inibindo a sinalização do receptor FLT3 induzindo a parada do ciclo celular da célula leucêmica e levando a apoptose da mesma. (Castaigne *et al*, 2012) (DiNaro *et al*, 2020) (Mark Levis *et al*, 2017)

O tratamento da LMA em pacientes ineligíveis para quimioterapia de alta intensidade (seja pela idade ou pela presença de comorbidades) é um desafio constante e, por muito tempo, foi escasso e ineficaz. A associação de venetoclax com LDAC (citarabina em baixa dose, do inglês, *low dose cytarabine*) demonstrou melhora significativa na taxa de remissão e sobrevida global quando comparado com LDAC isolado, com um perfil de segurança aceitável. Essa combinação vem se consolidando como um importante tratamento de primeira linha para pacientes com LMA inaptos para quimioterapia intensiva. (Wei *et al*, 2020)

É válido destacar um subtipo distinto de LMA que foi descrito pela primeira vez na literatura há mais de 50 anos: a leucemia promielocítica aguda (LPA), caracterizada pela tendência a distúrbios hemorrágicos graves. É responsável por 10–15% dos casos de LMA, e resulta de uma translocação entre os cromossomos 15 e 17, que leva à fusão do gene da leucemia promielocítica (PML) com o gene do receptor de ácido retinóico alfa (RARA). A oncoproteína de fusão PML–RARA induz leucemia ao bloquear a diferenciação mielóide normal. (Sanz *et al*, 2019)

A combinação do ácido transretinoico (ATRA) e do trióxido de arsênio (ATO) tem sido associada a remissão molecular e apresenta elevadas taxas de cura, porém, no subconjunto de pacientes de alto risco, a associação de quimioterapia (antracíclicos) deve ser iniciada na indução e na indisponibilidade do ATO. (Ravandi *et al*, 2017)

1.2 Tratamento de indução da Leucemia Linfóide Aguda

Em relação ao tratamento da leucemia linfóide aguda, nos últimos anos, novas terapêuticas foram mostradas em estudos randomizados com melhorias significativas de sobrevida. Os resultados para adultos mais jovens foram incrementados com a adoção de regimes do tipo pediátrico, com o uso de doses maiores e cumulativas de medicamentos, como corticosteroides (prednisona e/ou dexametasona), vincristina e asparaginase peguilada, além da terapia profilática direcionada ao sistema nervoso central, um sítio comum de infiltração da doença. (Hodby *et al*, 2020).

Para pacientes adultos com menos de 60 anos, o hyper-CVAD (**Tabela 3**) representa uma opção de protocolo viável, intenso e altamente mielossupressor. O CALGB (**Tabela 4**) também é um protocolo reconhecido para pacientes adultos, e consiste em um regime de indução inicial que inclui cinco quimioterápicos. Não há consenso em relação à escolha ideal dos regimes, a decisão deve ser baseada na melhor experiência do serviço, além do acesso às medicações que, por vezes, é limitado no contexto brasileiro. Os pacientes que atingem resposta completa recebem tratamento de consolidação seguido de intensificação tardia e manutenção por 24 meses. (Jabbour *et al*, 2021) (Larson *et al*, 1995)

Quanto aos pacientes portadores de LLA com mais de 60 anos ou considerados inelegíveis para quimioterapia de alta intensidade, as recomendações de tratamento variam de protocolos de baixa intensidade (com uma combinação de vincristina, corticosteroides, 6-mercaptopurina), cujo objetivo é apenas o controle da doença, a protocolos de intensidade moderada. A mortalidade associada a uma abordagem mieloablativa pode ser substancialmente diminuída se houver substituição por um condicionamento de intensidade reduzida, sem prejuízo significativo na eficácia. (Hagop *et al*, 2021) (Hunault-Berger *et al*, 2011)

Tabela 3 – Protocolo Hyper-CVAD

Bloco	Drogas
Blocos 1,3,5 e 5	CFM 300mg/m ² EV 2 vezes ao dia (D1-D3) VNC 2mg EV no D4 e no D11 DOX 50mg/m ² no D5 DEX 40mg uma vez ao dia D1-D4 e D11-D14
Blocos 2,4,6 e 8	MTX 1g/m ² EV D1 ARA-C 3g/m ² 12/12h D2-D3 Metilprednisolona 50mg EV duas vezes ao dia D1-D3
Rituximab ^a	375mg/m ² EV dias 1 e 11 C1 e C3, dias 1 e 8 C2 e C4
Manutenção	POMP: 6-MP três vezes ao dia (D1-D28) MTX 20mg/m ² uma vez por semana nos dias 1,8,15 e 22 VCN 2mg EV uma vez por mês PDN 200mg uma vez ao dia (D1-D5)
Profilaxia SNC	MTX 12mg IT

Abreviações: 6-MP, 6-mercaptopurina; ARA-C, citarabina; CFM, ciclofosfamida; DOX, doxorrubicina; DEX, dexametasona; IT, intratecal; MTX, metotrexato; PDN, prednisona; EV, endovenoso; VCN, vincristina.

^aApenas para pacientes com LLAB CD20+ com expressão $\geq 20\%$

Fonte: Adaptado de Basquiera et al, 2023.

O tratamento das LLA-B com pesquisa do cromossomo filadélfia positiva (Ph+) ou mutação do BCR/ABL1 exige a associação do inibidor de tirosina quinase (ITK), que deve ser iniciado na fase de indução e mantido durante todo o tratamento e após o TCTH. A combinação de ITK com corticosteroides se mostrou viável e foi capaz de induzir resposta na maioria dos pacientes com LLA Ph+ sem a necessidade de internação hospitalar, sendo, portanto, uma opção de tratamento viável. (Rousselot *et al*, 2016)

Tabela 4 – Protocolo CALGB

Fase	Drogas
Indução	CFM 1200mg/m ² EV D1 DNR 45mg/m ² EV D1-D3 VCN 2mg D1,8,15,22 PDN 60mg/m ² /d D1-D21 L-asp 6.000UI/m ² SC D5,8,11,15
Consolidação (x2)	MTX 15mg IT D1 CFM 1g/m ² EV D1 6-MP 60mg/m ² /d VO D1-D14 ARA-C 75mg/m ² SC D1-4 e D8-D11 VCN 2mg D15,D22 L-asp 6.000UI/m ² SC D15,18,22,25
Profilaxia SNC e manutenção prolongada	24 Gy irradiação SNC D1-D12 MTX 15mg IT D1 6-MP 60mg/m ² /d VO D1-D70 MTX 20mg/m ² VO D26,43,50,57,64
Intensificação tardia	DOX 30mg/m ² D1,8,15 VCN 2mg D1,8,15 DEX 10mg/m ² /d VO D1-D14 CFM 1000mg/m ² EV D29 6-Tioguanina 60mg/m ² /d VO D29-D42 ARA-C 75mg/m ² SC D29-32 e 36-39
Manutenção ^a	VCN 2mg D1 a cada 4 semanas PDN 60mg/m ² /d VO D1-D5 a cada 4 semanas MTX 20mg/m ² VO D1,8,15,22 a cada 4 semanas 6-MP 60mg/m ² VO D1-D28

Abreviações: 6-MP, 6-mercaptopurina; ARA-C, citarabina; CFM, ciclofosfamida; DEX, dexametasona ; DOX, doxorrubicina; DNR, daunorrubicina; EV, endovenoso; IT, intratecal; L-asp, asparaginase MTX, metotrexato; PDN, prednisona; SNC, sistema nervoso central; SC, subcutâneo; VO, via oral; VCN, vincristina;

Fonte: Adaptado de Basquiera et al, 2023.

1.3 Toxicidade gastrointestinal induzida por quimioterapia

Os atuais protocolos de quimioterapia não conseguem diferenciar as células tumorais das normais, pois atuam de maneira inespecífica nas células que se encontram em rápida divisão celular. Esse fato explica parcialmente o desenvolvimento das diversas toxicidades decorrentes das terapias oncológicas. Os efeitos colaterais associados à

quimioterapias de indução de leucemia e as manifestações clínicas são muito heterogêneas e variáveis, os pacientes costumam apresentar náuseas, vômitos, alopecia, além de anemia, neutropenia e plaquetopenia decorrente da mielotoxicidade. Alguns efeitos colaterais como toxicidade hepática e renal, fibrose pulmonar, mucosite intestinal e neuropatia periférica são característicos de determinadas drogas. (Akbarali *et al*, 2022)

O epitélio intestinal contém células que se dividem rapidamente e, portanto, representa um alvo significativo para os agentes quimioterápicos que atuam direta ou indiretamente na ruptura da barreira epitelial. A incapacidade de restaurar rapidamente a função de barreira após a quimioterapia leva ao desenvolvimento da mucosite gastrointestinal, que corresponde ao processo inflamatório caracterizado por eritema e ulceração que pode ocorrer em qualquer região da mucosa digestiva, desde a boca ao ânus. (Dahlgren *et al*, 2021)

Aproximadamente 40% dos pacientes em quimioterapia antineoplásica, utilizando doses padrão, apresentam algum grau de mucosite. Quando a quimioterapia é realizada em altas doses e associada à radioterapia, a incidência de mucosite pode atingir até 100%, afetando mais de dois milhões de pessoas no mundo a cada ano. Compreende, portanto, um dos efeitos adversos mais impactantes, e, se não for tratada de forma adequada e oportuna, pode evoluir para translocação bacteriana, sepse e óbito. (Elad *et al*, 2021)

No intestino saudável, a integridade e a homeostase da barreira epitelial são mantidas por causa do processo de restituição e renovação contínua, visto que na medida que as células luminais mortas se desprendem, essas são simultaneamente substituídas por células epiteliais vizinhas e por células da camada inferior do epitélio com a participação também das células-tronco intestinais. Naturalmente, o DNA das células-tronco da cripta permanece bem protegido do ambiente luminal. (Dahlgren *et al*, 2021)

Durante a ação de determinados agentes quimioterápicos, os processos de mitose e amplificação nas células-tronco de criptas são comprometidos pela apoptose e, por esse motivo, a regeneração celular do epitélio fica prejudicada, o que significa que a eliminação normal e contínua na ponta das vilosidades não é acompanhada por renovação celular adequada. (Dahlgren *et al*, 2021)

A ideia de que a lesão celular no epitélio seria responsável pela quebra de barreira e formação de úlceras foi detalhada por um modelo de cinco fases. A fase (1) de **iniciação** é caracterizada por lesão direta ao DNA e pela formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que ativam diversos fatores como caspases, Bcl-2 e a via do NF- κ B, dando sequência a fase (2) de **ativação da sinalização**. Conforme foi demonstrado em modelos experimentais, a via do NF- κ B tem importante destaque porque desempenha um papel fundamental ao

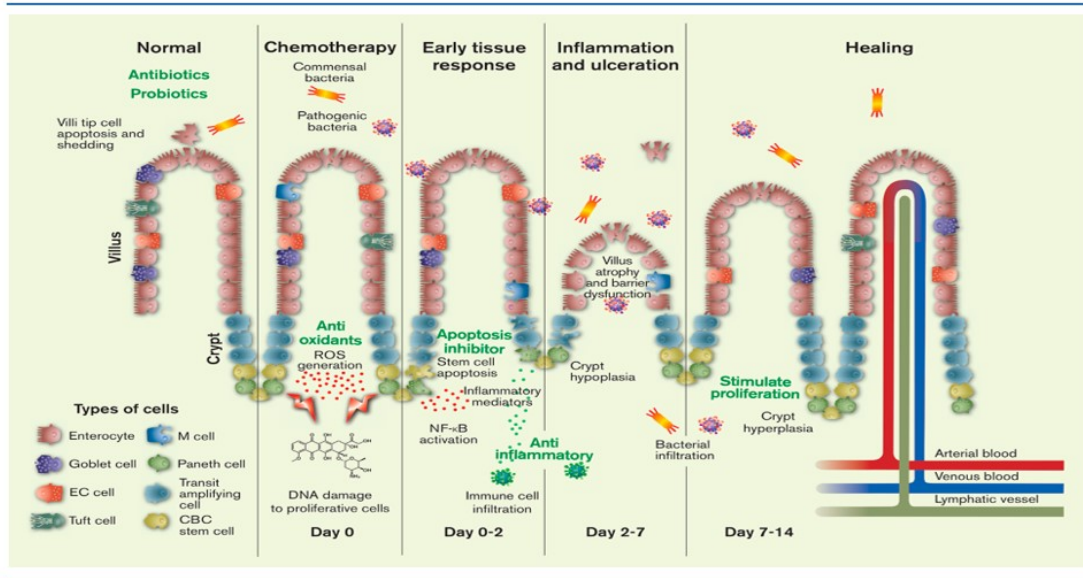
regular citocinas pró-inflamatórias, como, por exemplo TNF- α , IL-6, IL-1, IL-18 e IL-33. Esses efeitos causam conjuntamente a morte de células-tronco intestinais e a subsequente quebra da barreira intestinal. (Sonis *et al*, 2009) (Ribeiro *et al*, 2016)

Muitos desses mediadores participam ativamente da cascata inflamatória culminando na fase (3) representada pela **amplificação da sinalização**, por meio da qual as respostas de retroalimentação positiva e negativa dos fatores iniciais afetam o tecido local em uma interação bioquímica complexa e mútua. Por exemplo, a via do NF- κ B ativa a liberação de TNF- α , que por sua vez ativa mais NF- κ B, aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias por células imunes como macrófagos. É um ciclo vicioso de amplificação de sinal, levando subsequentemente o desenvolvimento de ulceração epitelial. (Wang et al, 2012)

O efeito dessa cascata lesiva é a descontinuidade mecânica da integridade anatômica do epitélio mucoso e da lâmina basal resultando na fase (4) definida pela presença de **inflamação e ulceração da mucosa**, na qual ocorre ablação das vilosidades epiteliais, interrupção da adesão das células epiteliais intestinais e um aumento da translocação de componentes luminiais incluindo bactérias da microbiota do trato alimentar e células imunes para a lâmina própria. A fase (5) final é a **cicatrização**, estágio no qual a proliferação, a diferenciação e a maturação epiteliais normais são restauradas. (Al-Dasooqi *et al*, 2013).

A mucosite, portanto, compreende um processo biologicamente complexo, que tem como alvo inicial as células-tronco intestinais e envolve uma sequência dinâmica e interativa de eventos inflamatórios em cascata que compromete mucosa e submucosa, compreende uma lesão multifacetada composta por participantes da resposta imune inata, resposta inflamatória, constituintes da microbiota do trato alimentar e elementos tardios de cicatrização e reparo (**Figura 1**).

Figura 1 – Patogênese e linha do tempo da mucosite intestinal induzida por quimioterapia



Fonte: Arte de Febe Jacobsson

A lesão no DNA das células-tronco intestinais causada pelo efeito citostático dos quimioterápicos culmina na liberação de EROS e de mediadores da inflamação, levando a ativação da cascata inflamatória e causando ulceração, atrofia de vilosidades e criptas, além da translocação de bactérias luminiais (comensais e patogênicas) e infiltração de células imunes. Em torno de 7-14 dias (2 semanas), a histologia normal é restaurada e a cura atingida. Os termos em verde mostram estratégias potenciais para intervenção clínica: antibióticos, probióticos, anti-oxidantes, inibidores da apoptose, anti-inflamatórios. A figura também mostra os seis diferentes tipos de células maduras do intestino, as vilosidades presentes no intestino delgado e os vasos linfáticos, venozos e arteriais. (Dahlgren et al, 2021)

Uma estratégia para classificar objetivamente e documentar de maneira reprodutível os graus de mucosite intestinal é utilizar o *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE), versão 5.0 de novembro de 2017, um sistema de classificação de efeitos adversos associados a terapia oncológica. A graduação da toxicidade aos agentes quimioterápicos para mucosite oral e diarreia é definida conforme descrito na **Tabela 5**.

Tabela 5 – Critérios Terminológicos Comuns para Eventos Adversos Gastrointestinais

Definição	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5
Mucosite oral: distúrbio caracterizado por ulceração ou inflamação da mucosa oral.	Assintomáticos ou sintomas leves, intervenção não indicada;	Dor moderada ou úlcera que não interfere na ingestão oral, modificação na dieta é indicado;	Dor intensa, interferindo na ingestão oral;	Consequências fatais; intervenção urgente indicada;	Morte;
Diarreia: distúrbio caracterizado por um aumento na frequência e/ou evacuações amolecidas ou aquosas.	Menos de quatro evacuações diarreicas em 24 horas;	De quatro a seis evacuações diarreicas em 24 horas;	Sete ou mais evacuações em 24 horas ou incontinência fecal;	Fatal, exigindo tratamento urgente;	Morte;

Fonte: CTCAE versão 5.0

A imunidade da mucosa intestinal é formada por um sistema composto por células epiteliais, células dendríticas (DCs), e por células assassinas naturais (NK, do inglês, *natural killer*), além de linfócitos intraepiteliais e da lâmina própria, células M e tecidos linfóides organizados. Dentre o subgrupo de células linfóides inatas, as células NK da lâmina própria intestinal possuem um papel importante como primeira linha de defesa contra patógenos invasores, por meio da secreção de citocinas, como IFN- γ , e da lise de microorganismos. (Logan *et al*, 2007)

As células NK presentes na mucosa intestinal já foram relacionadas com diversas doenças inflamatórias, como doença de Crohn e retocolite ulcerativa, porém o papel biológico das células NK na mucosite intestinal induzida por quimioterápicos necessita ser melhor investigado. (Yadav Pk *et al*, 2011)

Lamentavelmente, a mucosite induzida por quimioterápicos continua sendo um desafio clínico comum em pacientes oncológicos. Embora diversas medidas de prevenção possam ser usadas, infelizmente, ainda não existe um tratamento direcionado e o manejo clínico dos pacientes permanece limitado ao tratamento dos sintomas. Pacientes com essa complicação requerem ampla terapia analgésica, cuidados de enfermagem adicionais e maior tempo de internação. Considerando que atualmente não há opções de tratamento direcionado, muitos pacientes têm prejuízo na eficácia do protocolo devido à necessidade de redução de dose, o que aumenta a mortalidade e a morbidade, além de contribuir indiretamente para o acréscimo nos custos de saúde. (Migliorati *et al*, 2013) (Figueiredo *et al*, 2013)

O amplo conhecimento acerca de preditores individuais sejam eles imunológicos, genéticos e/ou moleculares que levam aos diferentes graus de lesão intestinal por

quimioterapia pode beneficiar os pacientes mediante o desenvolvimento de estratégias eficazes para a prevenção e tratamento desse dispendioso efeito colateral.

1.4 O papel das células NK no sistema imunológico

Historicamente, as células assassinas naturais (NK, do inglês, *natural killer*) foram descritas há mais de 40 anos como um grande linfócito granular com a capacidade de destruir uma célula-alvo naturalmente, realizando sua função de morte sem a necessidade de expansão clonal e sem diferenciação prévia.

O modelo predominante para o desenvolvimento e maturação das células NK postula que as células precursoras hematopoiéticas comprometidas com a linhagem de células NK derivam da medula óssea e migram para vários locais anatômicos onde a sinalização dependente de IL-15 impulsiona a maturação para linhagem NK. Os locais de desenvolvimento de células NK são numerosos e incluem o baço, fígado, órgãos linfoides secundários, timo, intestino, amígdalas. (Freud *et al*, 2017) (Scoville *et al*, 2017)

As células NK constituem 5 a 15% dos linfócitos circulantes e morfologicamente se assemelham a grandes linfócitos com numerosos grânulos citoplasmáticos, sendo possível diferenciar de outros subtipos de linfócitos através da microscopia e do uso de anticorpos monoclonais. Os antígenos utilizados para identificação são o CD56 e o CD16. Como as células NK não fazem rearranjo gênico, não expressam o receptor de linfócitos T (TCR) nem a molécula acessória CD3. O fenótipo das células NK corresponde, portanto, a uma combinação de marcadores, e não há, portanto, um antígeno específico que seja exclusivo à membrana das células NK. (Abel *et al*, 2018)

Existem duas subpopulações de células NK que apresentam características fenotípicas e funcionais distintas entre si. Uma delas tem baixa expressão do CD56 e alta expressão do CD16, são conhecidas como células CD56dim, e correspondem a mais de 90% das células NK humanas, sendo a população mais citotóxica. Através da exocitose de grânulos citolíticos é capaz de mediar a morte de células infectadas e tumorais. (Amand *et al*, 2017)

Em contraste, o segundo subtipo é caracterizado pela alta expressão de CD56 e expressão baixa ou negativa de CD16 e por isso é chamada de CD56bright. É responsável pela produção de citocinas, incluindo interferon- γ (IFN- γ), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-10 (IL-10) e IL-13 quando expostas a estímulos ambientais, como IL-1- β , IL-2, IL-12, IL-15 e IL-18. A população CD56bright é encontrada em menor quantidade (menos

de 10%) no sangue, mas pode ser encontrada nos tecidos e nos linfonodos, têm pouca ou nenhuma capacidade de matar espontaneamente alvos de células tumorais. Parte das evidências defendem a noção de que a progressão das células NK CD56bright para CD56dim é provavelmente parte de um *continuum* em seu desenvolvimento, ambas com papéis distintos e, ao mesmo tempo, importantes durante a resposta imune humana. (Danru *et al*, 2024) (Wu *et al*, 2020)

Uma das diversas funções das células NK maduras é a citotoxicidade direta, processo iniciado através da alteração conformacional e dinâmica que leva a fusão da membrana externa do grânulo com a membrana citoplasmática do alvo, gerando adesão e liberação direcionada de grânulos líticos. Os principais conteúdos presentes nesses grânulos são moléculas de perforina e granzima. As perforinas são proteínas capazes de formar poros na membrana celular e, portanto, levar à lise osmótica, enquanto as granzimas são proteases altamente específicas com função pro-apoptótica. Tais mecanismos integrados de exocitose de grânulos organizam uma sinapse imunológica que culmina na morte celular de maneira rápida e potente, o que dificulta eventuais mecanismos de resistência. (Myers *et al*, 2021)

A capacidade das células NK de reconhecerem e atacarem células é inversamente proporcional à quantidade de expressão do complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC-I) presente na superfície dessas células. Dessa forma, as células NK lisam as células-alvo quando a expressão do MHC-I for ausente ou deficiente na membrana. Essa capacidade é conhecida com *missing-self* e consiste de um mecanismo de imunovigilância, pois, como os linfócitos T somente reconhecem antígenos no contexto do MHC, a perda da expressão do MHC representa um mecanismo de escape ao ataque dessas células T. Este representa, portanto, uma falha da resposta adaptativa, mas compensada por esse potencial da resposta imune inata característico das células NK. Cabe destacar que células tumorais e infectadas por vírus apresentam baixa expressão do complexo MHC-I. (Caligiuri *et al*, 2008)

É interessante destacar que a regulação final das células NK para citotoxicidade direta ou tolerância depende do equilíbrio orquestrado de sinais estimulatórios versus supressores proporcionado pela funcionalidade de três grandes famílias de receptores das células NK, que podem ser ativadores e/ou inibitórios. (Kruse *et al*, 2014)

O CD16 é o receptor ativador mais potente expresso pelas células NK e ao se ligar a porção Fc dos anticorpos IgG participa da ativação delas por meio de um processo conhecido como citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC). O CD16 é o único receptor que consegue ativar células NK por si só, sem nenhuma ativação adicional, o que torna as células NK as principais efetoras da ADCC em humanos. Essa propriedade é a base

imunológica que compõe um dos mecanismos de ação dos anticorpos monoclonais (mAbs) quiméricos, como rituximabe e trastuzumabe, utilizados em pacientes com cânceres hematológicos e tumores sólidos. Vários desses mAbs estão em amplo uso terapêutico e mudaram a sobrevida do tratamento do câncer, demonstrando assim um potencial terapêutico considerável mediado pelas células NK. (Velichinskii *et al*, 2021)

Ainda em relação aos receptores ativadores encontrados nas células NK, cabe destacar a importância do NKG2D, uma proteína transmembrana que reconhece ligantes de superfície expressos em células estressadas ou tumorais, ativando a resposta citotóxica. O NKG2D está presente em quase todas as células NK e também podem ser expressos em linfócitos T CD8+ citotóxicos. Entre seus ligantes conhecidos, estão produtos dos genes MHC Ib que, diferentemente dos MHC I convencionais, aumentam sua expressão na superfície de células que sofreram algum tipo de estresse. Conforme foi demonstrado, os ligantes de superfície do NKG2D tornam a célula tumoral suscetível a citólise pela célula NK. O NKG2D também participa da hipótese conhecida como “*stress-triggered self*” que exemplifica mais uma das funções das células NK no sistema imune: o reconhecimento de células infectadas ou transformadas por doenças por meio da regulação positiva de ligantes para receptores ativadores, que não são expressos em células normais. (Julia *et al*, 2012) (Danru *et al*, 2024)

No que se refere aos receptores que inibem a atividade das células NK, temos quatro categorias: (1) receptores do tipo imunoglobulina de células assassinas (KIRs); (2) receptores do tipo C da lectina (NKG2A/CD94); (3) receptores do tipo imunoglobulina leucocitária (LILRs); e (4) receptores dos *checkpoints* imunológicos (PD-1, TIM-3, LAG-3 e TIGIT). Os *checkpoints* imunológicos são pontos de controle do sistema imunológico que evitam que o próprio sistema imunológico ataque células saudáveis, mas também podem ser usados como mecanismo de evasão por algumas células tumorais. O aumento da expressão de PD-1 na superfície das células NK foi demonstrado em várias malignidades hematológicas, e esse fato foi importante para aplicar na prática clínica a terapia anti- PD-1/PD-L1. Atualmente, os inibidores de PD-1 (nivolumab, pembrolizumab) são usados de forma eficaz para o tratamento de linfomas de Hodgkin e linfoma difuso de células B que foram refratários ou recaíram após tratamento inicial. (Joy Hsu *et al*, 2018)

As células NK são as primeiras células da população de linfócitos totais a se reconstituírem após o TCTH, o que é uma vantagem bem atraente para aplicações terapêuticas das células NK nesse contexto. O TCTH alogênico constitui uma terapia curativa de diversas neoplasias hematológicas, e a sua eficácia reside na capacidade do sistema imunológico do

enxerto remover células leucêmicas residuais por meio de um efeito conhecido como enxerto versus leucemia (GvL), causado espontaneamente após o transplante ou por meio da infusão de linfócitos T do doador. No entanto, devido à incompatibilidade entre HLA classe I e HLA classe II do doador e do receptor, uma aloreatividade pode acontecer e levar a doença do enxerto versus hospedeiro (GvHD), complicação clínica frequente que pode atingir diversos órgãos e que exige manejo multidisciplinar. (Dickinson *et al*, 2017)

O benefício de utilizar células NK em vez de células T é o menor risco de uma reação enxerto versus hospedeiro, pois as células NK geralmente não atacam células que expressam moléculas HLA classe I. O uso de células NK alorreativas também é uma vantagem utilizada no TCTH. Como os genes dos receptores HLA e KIR são herdados independente um do outro, nem sempre a compatibilidade HLA é acompanhada da compatibilidade KIR. Foi comprovado que a incompatibilidade KIR é uma vantagem positiva por deixar as células NK alorreativas. Sendo assim, uma etapa de seleção antes de usar células NK alogênicas — a tipagem KIRs-HLA-I com intuito de encontrar incompatibilidades KIRs pode ser realizada para garantir o incremento desse efeito reativo. (Mehta, Rohtesh S *et al*, 2018)

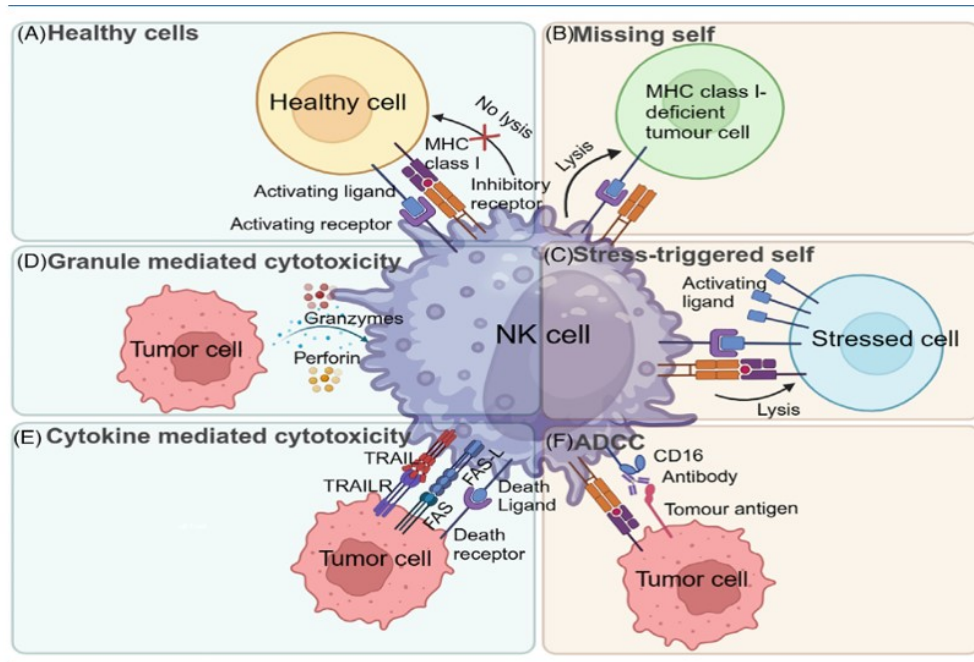
Essas observações foram evidenciadas em um estudo que mostrou o efeito favorável do uso de células NK haploidênticas de doadores em crianças com LLA, demonstrando uma taxa de sobrevida maior em pacientes que receberam células NK alorreativas. Um outro estudo usando transplantes de medula óssea haploidêntico com células T depletadas para tratamento de LMA mostrou que pacientes com incompatibilidade KIR tiveram um risco reduzido de recidiva de leucemia e não adquiriram GvHD, enquanto demonstravam aumento da sobrevida global. (Beldi-Ferchiou *et al*, 2017) (Ruggeri, Loredana *et al*, 2012)

Células NK alogênicas ou singênicas são atualmente consideradas agentes eficazes para combater tumores hematológicos. Em estudos prévios, a infusão de células NK expandidas demonstrou ser viável e segura para aumentar sua atividade em estudos pré-clínicos e também *in vivo* para pacientes com diferentes neoplasias hematológicas. (Silla *et al*, 2021).

Um outro papel funcional das células NK no sistema imunológico é a produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo produção de interferon gama (IFN- γ) e fator de necrose tumoral (TNF). Essas citocinas têm potentes efeitos antiproliferativos, antiangiogênicos e pró-apoptóticos em células tumorais, além de sua capacidade de aumentar as respostas das células T CD8+ citotóxicas. (Myers *et al*, 2020)

As células NK, portanto, apresentam uma variedade de funções efetoras no sistema imunológico que estão resumidas na **Figura 2**.

Figura 2 – funções das células NK no sistema imunológico



Fonte: DanRuWang et al, 2024

- (A) A tolerância das células NK depende do equilíbrio orquestrado de sinais ativadores e/ou inibitórios.
- (B) A imunovigilância realizada através da citotoxicidade contra células tumorais deficientes em MHC-I, que escaparam da ação dos linfócitos T citotóxicos (missing-self).
- (C) O reconhecimento de células estressadas (infectadas ou tumorais) pelo receptor ativador, como NKG2D.
- (D) A citotoxicidade direta da células-alvo através da liberação de grânulos citolíticos.
- (E) A apoptose endógena de células-alvo por meio da ligação de moléculas da família TNF de membrana aos ligantes da membrana das células tumorais.
- (F) A citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) mediado pelo receptor CD16, que se liga à células opsonizadas por Ig (células com anticorpos ligados a antígenos de membrana de superfície) e inicia uma cascata de sinalização, destruindo a tumoral revestida de anticorpos.

2 JUSTIFICATIVA

Apesar de diversos estudos evidenciarem as células NK como uma potencial estratégia terapêutica contra o câncer, as associações entre a caracterização dessas células, toxicidades secundárias ao tratamento quimioterápico e prognóstico nas leucemias aguda ainda são bastante limitados principalmente no cenário brasileiro.

Além disso, a participação direta das células NK na mucosite intestinal induzida por quimioterápicos necessita ser melhor elucidada tanto em modelos experimentais como em modelos humanos. Ao explorar o papel das células NK no contexto dos efeitos adversos gastrointestinais e do desfecho clínico decorrente do tratamento inicial das leucemias aguda, nosso estudo almeja preencher essa lacuna de conhecimento e contribuir na identificação de pacientes com maior risco de desenvolver toxicidades e resistência as terapias instituídas, ou seja, preditores que serão úteis em uma doença tão heterogênea como a leucemia aguda.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a associação entre a contagem de células NK e o desenvolvimento de mucosite oral e diarreia nos pacientes portadores de leucemia aguda submetidos à quimioterapia.

3.2 Objetivos específicos

- a) Determinar a contagem de células NK ao diagnóstico em pacientes portadores de leucemia aguda;
- b) Determinar a contagem de células NK na reavaliação pós quimioterapia de indução dos pacientes portadores de leucemia aguda;
- c) Correlacionar a quantidade de células NK com intercorrências clínicas, eventos gastrointestinais adversos, infecções e taxas de resposta ao tratamento quimioterápico de indução em leucemia.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Modelo do estudo, local e amostra

O estudo seguiu um modelo prospectivo, observacional e analítico.

Foram considerados elegíveis os pacientes que apresentassem os seguintes critérios:

- a) Diagnóstico de leucemia mieloide aguda, leucemia promielocítica aguda e leucemia linfóide aguda de células B e T.
- b) Idade acima de 18 anos e abaixo de 70 anos;
- c) Ter sido submetido à quimioterapia como regime de indução de leucemia aguda;
- d) Ter quantificação de células NK através da imunofenotipagem por citometria de fluxo;
- e) Interesse voluntário em participar da pesquisa confirmado pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram excluídos os pacientes que apresentaram pelo menos um dos critérios abaixo:

- a) Ausência de informações sobre os ciclos de quimioterapia no prontuário;
- b) Leucemia aguda secundária a mielodisplasia, síndromes mieloproliferativas e recaída de leucemia aguda;
- c) Idade acima de 70 anos;

4.2 Procedimento de coleta de dados

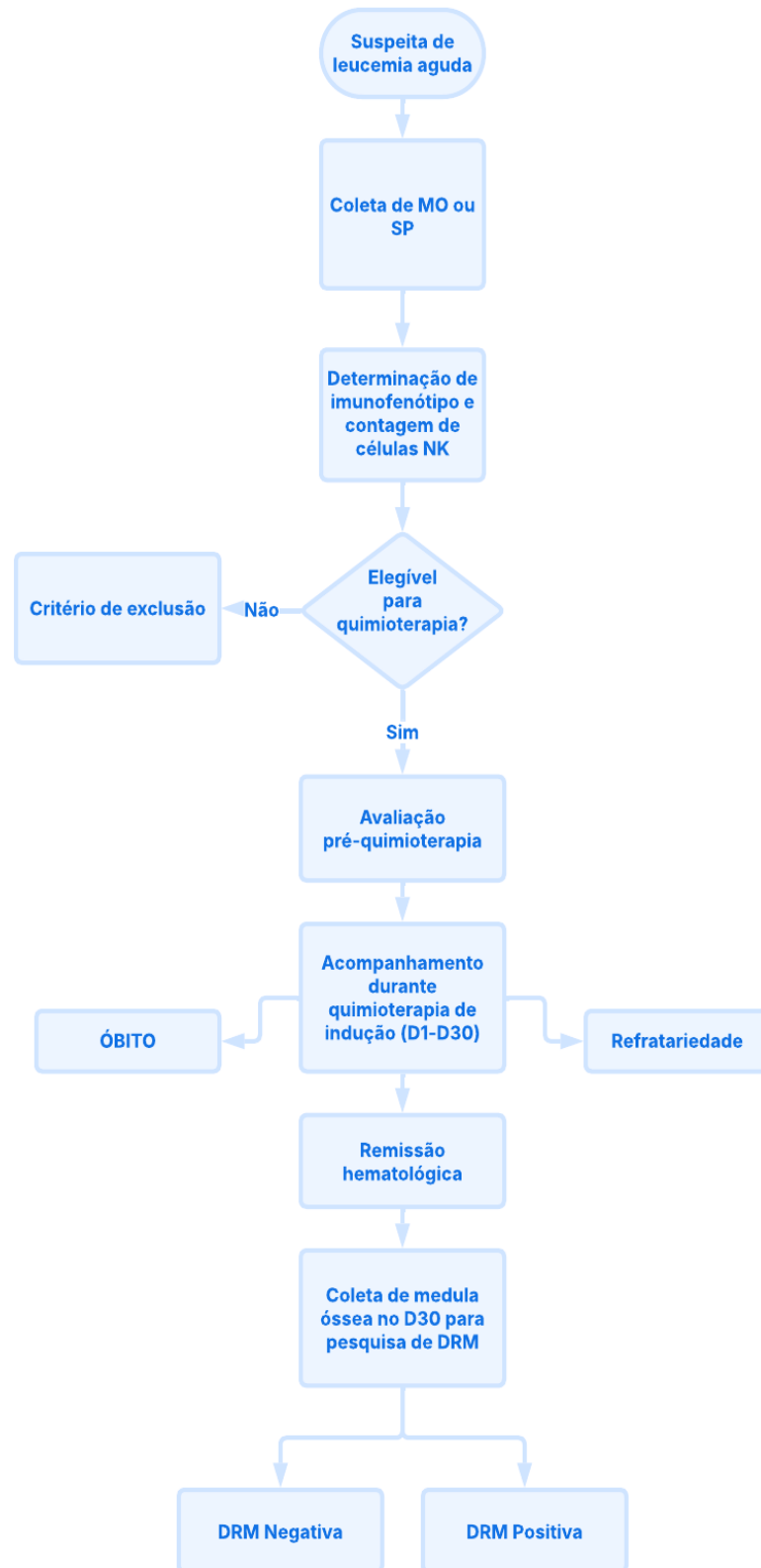
A amostra foi composta por 70 pacientes, diagnosticados entre agosto de 2023 e dezembro de 2024. No momento da hipótese clínica de leucemia aguda, os pacientes realizaram a coleta de 2 ml de medula óssea (MO) ou sangue periférico (SP) e as amostras foram enviadas ao Laboratório de Citometria de Fluxo do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Ceará (HEMOCE) para definir a linhagem da célula leucêmica e, portanto, classificar fenotipicamente a leucemia (mieloide ou linfóide). Adicionalmente,

foram quantificados os percentuais de blastos, de células NK e as demais células nucleares como monócitos, granulócitos, linfócitos B, linfócitos T, entre outras. Nesse momento, os indivíduos participantes do projeto foram chamados a participar da pesquisa pelos pesquisadores responsáveis, e convidados a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Após a definição do fenótipo da leucemia, o paciente realizou exames laboratoriais e de imagem para estadiamento e avaliação clínica da elegibilidade para quimioterapia de indução. Nesse ínterim, entre o início da quimioterapia e recuperação hematológica transcorreram 30 dias, as eventuais intercorrências clínicas como infecção, sepse, choque cardiogênico, neuropatias, sangramentos, derrames cavitários que aconteceram foram também registradas no estudo, incluindo os pacientes que foram a óbito.

Após 30 dias de quimioterapia (D30), os pacientes que estavam em remissão hematológica foram reavaliados através de nova coleta de material de MO para pesquisa de doença residual mensurável, também realizado no Laboratório de Citometria de Fluxo do HEMOCE. Nesse momento foi definido também o percentual de células NK e demais células. O fluxograma abaixo (**Figura 3**) descreve a jornada do paciente hematológico portador de leucemia aguda em quimioterapia de indução que foi incluído no nosso estudo.

Figura 3 – Fluxograma de seleção de pacientes e análise de dados



Fonte: elaborado pela autora

Durante a quimioterapia os pacientes foram acompanhados através da análise de prontuários eletrônicos e foram coletadas variáveis clínicas e patológicas, incluindo: idade, sexo, grau de anemia, nível de plaquetas, quantidade de leucócitos e porcentagem de blastos, subtipo diagnóstico da leucemia aguda, avaliação de risco molecular e citogenético, grau de mucosite oral e grau de diarreia (indicativo de mucosite intestinal) mediante escala da *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE), presença de náuseas, presença ou não de febre, de infecção, uso ou não de antibióticos de largo espectro, presença ou não de microrganismos isolados em hemoculturas, e avaliação de doença residual mínima. Seguem as variáveis que foram investigadas:

Variáveis nominais:

- a) Sexo (masculino/feminino)
- b) Subtipo de leucemia (leucemia mieloide aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia linfóide aguda B, leucemia linfóide aguda T)
- c) Protocolo de quimioterapia realizado:
 - 1- 7+3
 - 2- LDAC+Venetoclax
 - 3- ATRA
 - 4- CALGB
 - 5- OUTROS
- d) Presença de náuseas (sim/não)
- e) Presença de febre (sim/não)
- f) Presença de infecção bacteriana (sim/não)
- g) Doença residual mensurável (positiva/negativa)

Variáveis ordinais:

- a) Percentual de células NK no diagnóstico
- b) Grau de anemia no diagnóstico
- c) Grau de leucocitose no diagnóstico
- d) Nível de plaquetas no diagnóstico
- e) Percentual de blastos no diagnóstico
- f) Risco molecular/citogenético: baixo, intermediário, alto, standard
- g) Grau de mucosite (0/1/2/3/4/5)
- h) Grau de diarreia (0/1/2/3/4/5)
- i) Terapia antimicrobiana: profilaxias/1/2/3 ou mais antibióticos

4.3 Determinação do percentual de células NK em materiais de MO ou SP

A contagem da população de células *natural killer* (NK) foi realizada através da técnica de citometria de fluxo que utiliza uma combinação de componentes fluidicos, ópticos e eletrônicos para analisar células individualmente e reunir as informações obtidas para posterior análise. As células ou alguns dos seus componentes são marcados com corantes fluorescentes e alinhados num fluxo contínuo que permite a sua passagem individual frente à luz emitida por um ou mais lasers. Os sinais gerados são convertidos em informação digital da intensidade de fluorescência e analisados através de softwares especializados.

As amostras foram recebidas no laboratório e avaliadas se estavam em condições adequadas quanto ao aspecto e a presença ou não de coágulos. Para realização da contagem de células NK, o sangue total dos pacientes foi inicialmente incubado com anticorpos monoclonais de acordo com o painel de subpopulações linfocitárias que inclui os seguintes antígenos: CD16-PE, CD56-PE, CD19-PECy7, CD3-V450 ou APCH-7, CD45-Percp ou V500, de acordo com a tabela 6.

Tabela 6 – Painel utilizado para definição de subpopulações linfocitárias

MARCADOR	FLUOCROMO	CLONE	TITULAÇÃO	MARCA
CD3	V450 ou APC-H7	UCHT-1	5uL	BD Biosciences
CD16	PE	B73.1	5uL	BD Biosciences
CD19	PECy7	J3-119	5uL	Beckman Coulter
CD45	Percp ou V500 ou KrO	HI30	5uL	BD Biosciences Beckman Coulter
CD56	PE	My31	5uL	Beckman Coulter

Fonte: elaborado pela autora

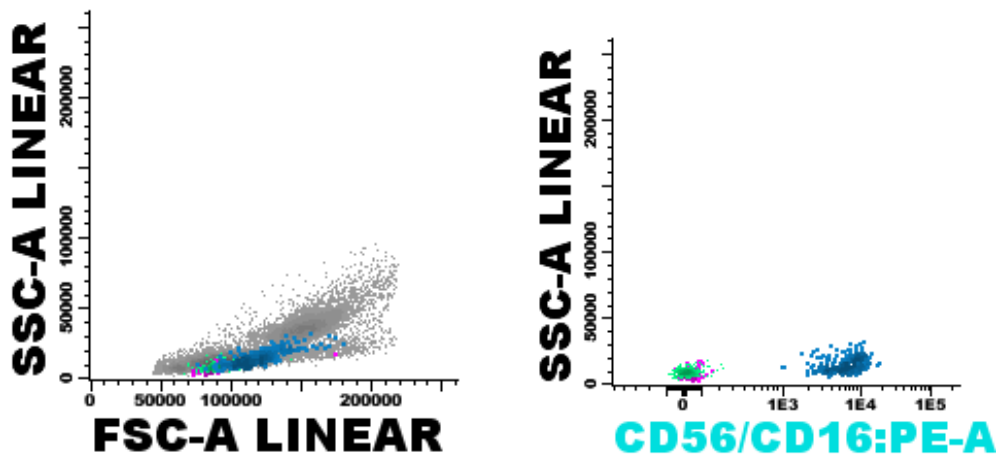
O SP ou MO foram marcados com corantes fluorescentes e submetido a um processo com uma solução de eritrólise (que lisa hemácias) e fixa leucócitos, resultando numa suspensão livre de hemácias. Em seguida, foi adicionado uma solução isotônica tampão fosfato salino (PBS), tornando a análise apropriada para a leitura por citometria de fluxo.

As células NK correspondem a aproximadamente 5 a 15% dos linfócitos do sangue e são caracterizadas fenotipicamente pela expressão do antígeno de superfície CD56/CD16 (CD, *cluster of differentiation*) e pela ausência de CD3, o fenótipo (CD3-/CD16+/CD56+) corresponde as células NK que foram quantificadas no presente estudo. Após processamento, as amostras foram adquiridas no equipamento BD *FACSCANTO II*,

sendo um total de 30 mil eventos no diagnóstico e 1 milhão de eventos na reavaliação após 30 dias do início da quimioterapia (na pesquisa de doença residual mínima).

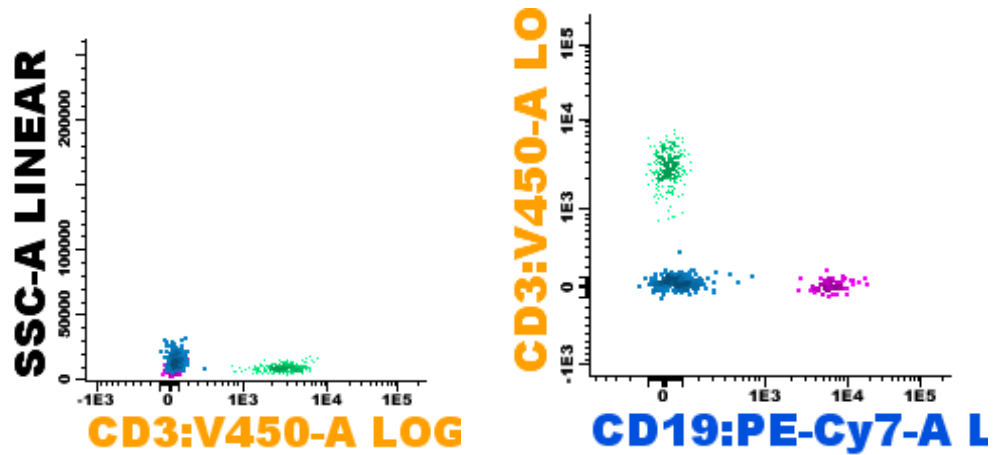
Em seguida foram analisadas e quantificadas no software *Infinicyt* versão 2.0, conforme **Figura 4**. Algumas amostras foram analisadas também no contador hematológico para definição da leucometria total. Os resultados foram expressos em percentual de células NK do total de linfócitos.

Figura 4 – Estratégia de caracterização de células NK por citometria de fluxo.

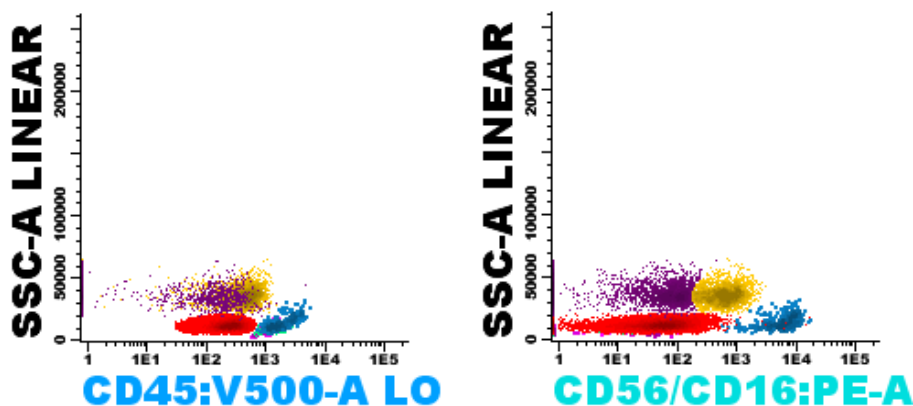


Fonte: elaborado pela autora

- (A) Para seleção da população de células NK foi realizado inicialmente um *gate* na população de linfócitos totais de acordo com as características de tamanho (FSC- *forward scatter*) e granulosidade (SSC- *side scatter*).
- (B) Em seguida, foi determinado um *dot plot* SSCxCD56/CD16, que representa a característica de dispersão de luz em combinação com o CD56/CD16 e realizado um *gate*, evidenciando a população de célula NK em azul (padrão homogêneo forte de CD56/CD16+)



- (C) Foi realizado um *dot plot* SSCxCD3 para delimitar a população de linfócitos T CD3+ (em verde) e confirmar a população de células NK em azul (CD3-/CD56+/CD16+).
- (D) Também foi realizado um *dot plot* CD19xCD3 para delimitar a população de linfócitos B CD19+ (em rosa), linfócitos T (em verde) e evidenciar a população de células NK em azul (CD19-/CD3-/CD56+/CD16+).



Fonte: elaborado pela autora

- (E) Característica de dispersão de luz em combinação com o CD45 evidenciado monócitos em amarelo, granulócitos em roxo, células NK em azul, e células blásticas leucêmicas em vermelho.
- (F) Padrão normal homogêneo forte de células NK CD56+/CD16+ destacadas em azul. Nesse gráfico evidenciada em outra perspectiva: monócitos em amarelo, granulócitos em roxo, células Nk em azul, e células blásticas leucêmicas em vermelho.

4.4 Análise dos dados

A análise estatística foi realizada com um estudo descritivo da população, através da análise das medidas de tendência central, dispersão e distribuição de frequência para as categorias de mucosite, de desfecho e demais variáveis independentes.

Os dados da citometria que determinaram a contagem de células NK no diagnóstico e após o tratamento inicial foram submetidos a curva ROC para estimativa do ponto de corte que foi definido como variação > que 6% na queda do valor de células NK antes e depois do tratamento.

Neste caso, foram considerados como baixa variação de queda de células NK os que tivessem valores < ou iguais a 6% de variação, e como alta variação de queda de NK os que tivessem valores > 6%. Os dados foram expressos em forma de frequência absoluta e percentual e associados com a presença de toxicidade intestinal e com o desfecho clínico por meio do teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson. A magnitude de cada associação foi estimada pela Razão de Chances (Odds Ratio, OR).

As associações foram consideradas estatisticamente significativas quando a probabilidade da hipótese nula (p) foi menor do que 5% ($P < 0,05$). Todas as análises foram realizadas no software SPSS versão 20.0 para Windows adotando uma confiança de 95%.

4.5 Aspectos éticos

O Projeto de Pesquisa deste estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará/HEMOCE (Número do Parecer: 6.140.642 / CAAE: 61879922.8.0000.8152). A utilização das amostras do foi feita após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os possíveis riscos relacionados diretamente ao manuseio de amostras de sangue dos pacientes, como exposição por contato acidental direto por queda do tubo de coleta foram minimizados pela adoção de técnicas seguras como manuseio somente no mesmo local de processamento das amostras e por profissional treinado para tanto e que já atua na rotina laboratorial. O risco à exposição aos insumos para processamento das amostras foi amenizado pelo uso de equipamento de proteção individual.

Foram obtidas informações dos prontuários eletrônicos das instituições coparticipantes (Hospital Geral de Fortaleza e Hospital Universitário Walter Cantídio) para análise de associação clínico-patológica com os marcadores do estudo. Com o objetivo de

minimizar os riscos de perda de dados dos prontuários, apenas os pesquisadores envolvidos tiveram acesso aos prontuários dos pacientes. Foram tomados os devidos cuidados na preservação de condições de biossegurança, incluindo a prevenção de acidentes em laboratório, bem como o manejo e acondicionamento corretos dos materiais usados. Durante todo o estudo, os procedimentos empregados resguardaram a confidencialidade das informações bem como o cuidado ético com os dados.

5 RESULTADOS

Os resultados foram obtidos da análise de uma amostra de 70 pacientes com leucemia aguda diagnosticados entre agosto de 2023 e dezembro de 2024. 36 pacientes (51,4%) eram mulheres e 34 homens (48,6%). A idade média dos pacientes foi de 43 anos com uma faixa variando de 21 a 68 anos. Quando separados por diagnóstico, a média de idade dos pacientes com LMA foi de 46 anos e com LLA foi de 38 anos.

Quando agrupados por faixa etária, notou-se que 44 pacientes (66,9%) tinham menos do que 50 anos e 26 pacientes (37,1%) tinham 50 anos ou mais. Em relação ao tipo de material das amostras analisadas, 58 amostras foram de medula óssea (82,9%) e 12 amostras de sangue periférico (17,1%).

O fenótipo mais encontrado das leucemias em nosso estudo foi a leucemia mieloide, que correspondeu a 47 pacientes (67,1%), dos quais 16 pacientes foram diagnosticados como o subtipo mieloide promielocítica (que correspondeu a 34% das leucemias mieloides). 17 pacientes (24,3%) foram diagnosticados com LLA-B, 5 pacientes (7,1%) com LLA-T, e apenas 1 (1,4%) paciente com linhagem bifenotípica B e T.

Com relação ao percentual de granulócitos no diagnóstico, 38 pacientes (54,3%) não apresentaram granulócitos nas amostras de medula ou sangue periférico e 32 pacientes (45,7%) tinham algum valor acima de zero. O percentual de monócitos foi zero em 57 pacientes (85,1%) e em 32 pacientes (45,7%) foi acima de zero.

No que se refere ao percentual de linfócitos totais, 39 pacientes (55,7%) apresentaram até 6% e 31 (44,3%) maior ou igual a 6%. 8 pacientes (11,8%) apresentaram até 3,5% de linfócitos B e 60 pacientes (88,2%) tinham 3,5% ou mais. O percentual de linfócitos T dentro do total de linfócitos foi até 60% em 27 pacientes (39,1%), e maior ou igual a 60% em 46 pacientes (60,9%).

Relativamente ao grau de anemia ao diagnóstico, 12 pacientes (17,1%) apresentaram anemia leve (Hb maior que 10 g/dL), 31 pacientes (44,3%) anemia moderada (Hb entre 7-10 g/dL) e 27 pacientes (38,6%) anemia severa (Hb menor do que 7 g/dL). A quantidade de leucócitos no diagnóstico foi maior ou igual a 50.000 células/ μ L em 22 pacientes (31,4%) e menor do que 50.000 células/ μ L em 48 pacientes (68,6%).

O nível de plaquetas foi menor do que 30.000 μ L em 27 pacientes (38,6%), entre 30.000 e 50.000 μ L em 14 pacientes (20%), entre 50.000 e 100.000 μ L em 17 pacientes (24,3%) e acima de 100.000 μ L em 12 pacientes (17,1%).

Quanto à presença de blastos no sangue periférico no momento do diagnóstico, 7 pacientes (57,1%) apresentaram menos do que 20%, 5 pacientes (13,5%) apresentaram entre 20-50% e 25 pacientes (67,6%) mais do que 50% do total de leucócitos.

Com relação ao risco citogenético/molecular, a maioria dos pacientes (63,2%) foi classificada como alto risco (36 pacientes), 9 pacientes (15,8%) foram classificados como baixo risco, 11 pacientes (19,3%) como risco intermediário e 1 paciente (1,8%) como risco *standard*. O estudo citogenético apresentou algum tipo de alteração em 31 pacientes (47%), enquanto 35 pacientes (53%) apresentaram cariótipo normal.

A pesquisa da mutação do BCR/ABL1 foi positiva em 6 pacientes (9,1%), a mutação do FLT3 foi encontrada em 5 pacientes (7,6%) e a oncoproteína de fusão PML/RARA foi positiva em 13 pacientes (19,7%).

No que se refere ao protocolo de tratamento realizado, a maioria dos pacientes (30,3%) realizou o 7+3, enquanto 16 pacientes (24,2%) realizaram o protocolo com ATRA, 14 pacientes (21,2%) realizaram CALGB, 5 pacientes (7,6%) LDAC com venetoclax.

Em relação aos efeitos adversos gastrointestinais secundários à quimioterapia de indução, 36 pacientes (59%) apresentaram algum grau de mucosite oral e 31 pacientes (50,8%) apresentaram algum grau de diarreia. 12 pacientes (19,7%) apresentaram mucosite oral grau III ou IV, e 9 pacientes (14,8%) apresentaram diarreia grau III ou IV. De forma a determinar os graus de mucosite, os pacientes foram classificados de acordo com os critérios CTCAE 5.0: 19 pacientes (31,1%) apresentaram mucosite oral grau I, 5 pacientes (8,2%) grau II, 10 pacientes (16,4%) grau III e 2 pacientes (3,3%) grau IV; 13 pacientes (21,3%) apresentaram diarreia grau I, 9 pacientes (14,8%) apresentaram diarreia grau II, 3 pacientes (4,9%) apresentaram grau III e 6 pacientes (9,8%) grau IV. 48 pacientes (78,7%) referiram náuseas durante a quimioterapia.

No que diz respeito a infecção sistêmica, 46 pacientes (75,4%) apresentaram algum grau de infecção com foco definido, enquanto 15 pacientes (24,6%) não tiveram infecção documentada. A neutropenia febril esteve presente em 53 pacientes (86,9%). As principais características clínico epidemiológicas estão descritas na **Tabela 6**.

Tabela 7 – Características clínico epidemiológicas dos pacientes com Leucemia Aguda

	Parâmetro	Total		Parâmetro	Total
Sexo	Feminino	36 (51.4%)	Mucosite	Não	25 (41.0%)
	Masculino	34 (48.6%)		Sim	36 (59.0%)
Idade	<50	44 (62.9%)	Diarreia	Não	30 (49.2%)
	50+	26 (37.1%)		Sim	31 (50.8%)
Diagnóstico	LMA	31 (44.3%)	Nausea	Não	13 (21.3%)
	LPA	16 (22.9%)		Sim	48 (78.7%)
	LLA B	17 (24.3%)	Febre	Não	8 (13.1%)
	LLA T	5 (7.1%)		Sim	53 (86.9%)
	LLA B/T	1 (1.4%)		Não	15 (24.6%)
	Não tratou	5 (7.6%)	Infecção	Sim	46 (75.4%)
	7+3	20 (30.3%)		Antibiótico	1
ATRA	16 (24.2%)	2	12 (20.0%)		
Outros	6 (9.1%)	3 ou mais	30 (50.0%)		
Protocolo de quimioterapia	CALGB	14 (21.2%)	Profilaxia	10 (16.7%)	
	LDAC + VENETO	5 (7.6%)			

Fonte: elaborado pela autora

As hemoculturas foram negativas em 39 pacientes (63,9%), 6 pacientes (9,8%) apresentaram hemoculturas positivas para germes sensíveis e 15 pacientes (24,6%) apresentaram hemoculturas com isolamento de bactérias multirresistentes.

Em relação ao perfil de antibióticos utilizados, 10 pacientes (16,7%) usaram apenas profilaxias via oral, 8 pacientes (13,3%) realizaram uma classe de antibióticos de amplo espectro, 12 pacientes (20%) necessitaram de duas classes de antibióticos e a maioria, 30 pacientes (50%), usou três classes ou mais de antibióticos de largo espectro, demonstrando um perfil de infecção mais grave.

Durante o período de internação, 52 pacientes (81,3%) apresentaram alguma intercorrência clínica que exigiu cuidados mais especializados, 12 pacientes (18,8%), que corresponde a minoria, não apresentaram intercorrência clínica durante quimioterapia de indução.

(Continuação)

LMA	31 (44.3%)	19 (45.2%)	12 (42.9%)	0,601	4 (40.0%)	12 (70.6%)	0,304	14 (66.7%)	0,312
LPA	16 (22.9%)	10 (23.8%)	6 (21.4%)		2 (20.0%)	3 (17.6%)		4 (19.0%)	
LLA B	17 (24.3%)	9 (21.4%)	8 (28.6%)		3 (30.0%)	1 (5.9%)		2 (9.5%)	
LLA B	5 (7.1%)	4 (9.5%)	1 (3.6%)		1 (10.0%)	1 (5.9%)		1 (4.8%)	
LLA B/T	1 (1.4%)	0 (0.0%)	1 (3.6%)		0 (0.0%)	0 (0.0%)		0 (0.0%)	
Material									
MO	58 (82.9%)	35 (83.3%)	23 (82.1%)	0,897	7 (70.0%)	15 (88.2%)	0,239	17 (81.0%)	0,895
SP	12 (17.1%)	7 (16.7%)	5 (17.9%)		3 (30.0%)	2 (11.8%)		4 (19.0%)	
Granulócito									
Zero	38 (54.3%)	23 (54.8%)	15 (53.6%)	0,922	7 (70.0%)	8 (47.1%)	0,247	12 (57.1%)	0,756
>0	32 (45.7%)	19 (45.2%)	13 (46.4%)		3 (30.0%)	9 (52.9%)		9 (42.9%)	
Monócitos									
Zero	57 (85.1%)	36 (87.8%)	21 (80.8%)	0,431	9 (90.0%)	14 (87.5%)	0,846	17 (85.0%)	0,313
>0	10 (14.9%)	5 (12.2%)	5 (19.2%)		1 (10.0%)	2 (12.5%)		3 (15.0%)	
Linfócitos Totais									
Até 6	39 (55.7%)	22 (52.4%)	17 (60.7%)	0,492	7 (70.0%)	8 (47.1%)	0,247	12 (57.1%)	0,756
>6	31 (44.3%)	20 (47.6%)	11 (39.3%)		3 (30.0%)	9 (52.9%)		9 (42.9%)	
LB									
Até 3,5	8 (11.8%)	7 (17.5%)	1 (3.6%)	0,079	2 (22.2%)	2 (11.8%)	0,482	3 (15.0%)	0,921
>3,5	60 (88.2%)	33 (82.5%)	27 (96.4%)		7 (77.8%)	15 (88.2%)		17 (85.0%)	
LT									
Até 60			17 (60.7%)	0,002			0,075		0,001
>60	27 (39.1%)	10 (24.4%)	* (0.0%)		5 (50.0%)	3 (17.6%)		3 (14.3%)	
	42 (60.9%)	31 (75.6%)*	11 (39.3%)		5 (50.0%)	14 (82.4%)		18 (85.7%)*	
% Blastos									
Até 60	24 (34.3%)	14 (33.3%)	10 (35.7%)	0,837	3 (30.0%)	8 (47.1%)	0,384	9 (42.9%)	0,675
>60	46 (65.7%)	28 (66.7%)	18 (64.3%)		7 (70.0%)	9 (52.9%)		12 (57.1%)	
Hb									
Leve (>10)	12 (17.1%)	9 (21.4%)	3 (10.7%)	0,498	4 (40.0%)	1 (5.9%)	0,072	2 (9.5%)	0,074
Moderada (7-10)	31 (44.3%)	18 (42.9%)	13 (46.4%)		4 (40.0%)	8 (47.1%)		10 (47.6%)	
Severa (<7)	27 (38.6%)	15 (35.7%)	12 (42.9%)		2 (20.0%)	8 (47.1%)		9 (42.9%)	
Leucocitos									
<50.000	48 (68.6%)	28 (66.7%)	20 (71.4%)	0,674	7 (70.0%)	11 (64.7%)	0,778	15 (71.4%)	0,326
>50.000	22 (31.4%)	14 (33.3%)	8 (28.6%)		3 (30.0%)	6 (35.3%)		6 (28.6%)	
Plaquetas									
<30.000	27 (38.6%)	15 (35.7%)	12 (42.9%)	0,237	4 (40.0%)	6 (35.3%)	0,935	8 (38.1%)	0,623
30.00-50.000	14 (20.0%)	9 (21.4%)	5 (17.9%)		3 (30.0%)	4 (23.5%)		5 (23.8%)	
50.000-100.000	17 (24.3%)	8 (19.0%)	9 (32.1%)		2 (20.0%)	4 (23.5%)		4 (19.0%)	
>100.000	12 (17.1%)	10 (23.8%)	2 (7.1%)		1 (10.0%)	3 (17.6%)		4 (19.0%)	
Blastos									
<20%	7 (18.9%)	4 (19.0%)	3 (18.8%)	0,986	1 (25.0%)	3 (33.3%)	0,808	4 (36.4%)	0,363
20-50%	5 (13.5%)	3 (14.3%)	2 (12.5%)		1 (25.0%)	1 (11.1%)		2 (18.2%)	

(Continuação)

>50%	25 (67.6%)	14 (66.7%)	11 (68.8%)		2 (50.0%)	5 (55.6%)		2 (100.0%)	5 (45.5%)	
ECO alterado										
Não	46 (71.9%)	27 (71.1%)	19 (73.1%)	0,860	9 (90.0%)	13 (76.5%)	0,382	5 (83.3%)	17 (81.0%)	0,895
Sim	18 (28.1%)	11 (28.9%)	7 (26.9%)		1 (10.0%)	4 (23.5%)		1 (16.7%)	4 (19.0%)	
FEVE										
Até 50%			2 (10.0%)	0,077	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1,000	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1,000
>50%	2 (4.0%)	0 (0.0%)							16 (100.0%)	
	48 (96.0%)	30 (100.0%)	18 (90.0%)		8 (100.0%)	14 (100.0%)		6 (100.0%)		
Risco										
Baixo	9 (15.8%)	6 (18.2%)	3 (12.5%)	0,153	2 (22.2%)	4 (25.0%)	0,401	0 (0.0%)	6 (31.6%)	0,104
Intermediário	11 (19.3%)	9 (27.3%)	2 (8.3%)		0 (0.0%)	2 (12.5%)		0 (0.0%)	2 (10.5%)	
Alto	36 (63.2%)	17 (51.5%)	19 (79.2%)		6 (66.7%)	10 (62.5%)		5 (83.3%)	11 (57.9%)	
Standard	1 (1.8%)	1 (3.0%)	0 (0.0%)		1 (11.1%)	0 (0.0%)		1 (16.7%)	0 (0.0%)	
Cariótipo alterado										
Não	35 (53.0%)	18 (45.0%)	17 (65.4%)	0,105	3 (30.0%)	10 (58.8%)	0,148	1 (16.7%)	12 (57.1%)	0,080
Sim	31 (47.0%)	22 (55.0%)	9 (34.6%)		7 (70.0%)	7 (41.2%)		5 (83.3%)	9 (42.9%)	
BCRABL mutado										
Não	60 (90.9%)	37 (92.5%)	23 (88.5%)	0,577	8 (80.0%)	17 (100.0%)	0,055	5 (83.3%)	20 (95.2%)	0,326
Sim	6 (9.1%)	3 (7.5%)	3 (11.5%)		2 (20.0%)	0 (0.0%)		1 (16.7%)	1 (4.8%)	
FLT3 mutado										
Não			26 (100.0%)	0,061			0,097			0,247
	61 (92.4%)	35 (87.5%)			10 (100.0%)	13 (76.5%)		6 (100.0%)	17 (81.0%)	
Sim	5 (7.6%)	5 (12.5%)	0 (0.0%)		0 (0.0%)	4 (23.5%)		0 (0.0%)	4 (19.0%)	
PMLRARA mutado										
Não	53 (80.3%)	32 (80.0%)	21 (80.8%)	0,939	8 (80.0%)	14 (82.4%)	0,879	5 (83.3%)	17 (81.0%)	0,895
Sim	13 (19.7%)	8 (20.0%)	5 (19.2%)		2 (20.0%)	3 (17.6%)		1 (16.7%)	4 (19.0%)	
Quimioterapia										
Não			2 (7.7%)	0,941			0,260			0,216
	5 (7.6%)	3 (7.5%)			0 (0.0%)	0 (0.0%)		0 (0.0%)	0 (0.0%)	
7+3	20 (30.3%)	11 (27.5%)	9 (34.6%)		4 (40.0%)	8 (47.1%)		2 (33.3%)	10 (47.6%)	
Atra	16 (24.2%)	10 (25.0%)	6 (23.1%)		2 (20.0%)	3 (17.6%)		1 (16.7%)	4 (19.0%)	
CALGB	14 (21.2%)	8 (20.0%)	6 (23.1%)		3 (30.0%)	2 (11.8%)		2 (33.3%)	3 (14.3%)	
LDAC + VENETO	5 (7.6%)	4 (10.0%)	1 (3.8%)		0 (0.0%)	4 (23.5%)		0 (0.0%)	4 (19.0%)	
Outros	6 (9.1%)	4 (10.0%)	2 (7.7%)		1 (10.0%)	0 (0.0%)		1 (16.7%)	0 (0.0%)	
Mucosite oral										
Não	25 (41.0%)	16 (43.2%)	9 (37.5%)	0,295	2 (20.0%)	3 (17.6%)	0,240	3 (50.0%)	2 (9.5%)	0,211
Grau I	19 (31.1%)	12 (32.4%)	7 (29.2%)		3 (30.0%)	7 (41.2%)		2 (33.3%)	8 (38.1%)	
Grau II			4 (16.7%)			3 (17.6%)			3 (14.3%)	
Grau III	5 (8.2%)	1 (2.7%)			0 (0.0%)	4 (23.5%)		0 (0.0%)	6 (28.6%)	
Grau IV	10 (16.4%)	6 (16.2%)	4 (16.7%)		3 (30.0%)	2 (23.5%)		1 (16.7%)		
	2 (3.3%)	2 (5.4%)	0 (0.0%)		2 (20.0%)	0 (0.0%)		0 (0.0%)	2 (9.5%)	
Mucosite oral										
Não	25 (41.0%)	16 (43.2%)	9 (37.5%)	0,656	2 (20.0%)	3 (17.6%)	0,879	3 (50.0%)*	2 (9.5%)	0,024
Sim	36 (59.0%)	21 (56.8%)	15 (62.5%)		8 (80.0%)	14 (82.4%)		3 (50.0%)	19 (90.5%)	

(Continuação)

*										
Mucosite Grau III e IV										
Não	49 (80.3%)	29 (78.4%)	20 (83.3%)	0,634	5 (50.0%)	13 (76.5%)	0,159	13 (61.9%)	0,326	
Sim	12 (19.7%)	8 (21.6%)	4 (16.7%)		5 (50.0%)	4 (23.5%)		8 (38.1%)		
Diarreia										
Não	30 (49.2%)	15 (40.5%)	15 (62.5%)	0,271	4 (40.0%)	7 (41.2%)	0,545	6 (28.6%)	0,171	
Grau I	13 (21.3%)	9 (24.3%)	4 (16.7%)		0 (0.0%)	3 (17.6%)		3 (14.3%)		
Grau II	9 (14.8%)	7 (18.9%)	2 (8.3%)		3 (30.0%)	2 (11.8%)		5 (23.8%)		
Grau III			2 (8.3%)		1 (10.0%)	1 (5.9%)		2 (9.5%)		
Grau IV	3 (4.9%)	1 (2.7%)	1 (4.2%)		2 (20.0%)	4 (23.5%)		5 (23.8%)		
6 (9.8%)	5 (13.5%)							1 (16.7%)		
Diarreia										
Não	30 (49.2%)	15 (40.5%)	15 (62.5%)	0,094	4 (40.0%)	7 (41.2%)	0,952	6 (28.6%)	0,016	
Sim	31 (50.8%)	22 (59.5%)	9 (37.5%)		6 (60.0%)	10 (58.8%)		15 (71.4%)		
Diarreia Grau III e IV										
Não	52 (85.2%)	31 (83.8%)	21 (87.5%)	0,689	7 (70.0%)	12 (70.6%)	0,974	14 (66.7%)	0,430	
Sim	9 (14.8%)	6 (16.2%)	3 (12.5%)		3 (30.0%)	5 (29.4%)		7 (33.3%)		
Nausea										
Não	13 (21.3%)	6 (16.2%)	7 (29.2%)	0,228	1 (10.0%)	2 (11.8%)	0,888	2 (9.5%)	0,623	
Sim	48 (78.7%)	31 (83.8%)	17 (70.8%)		9 (90.0%)	15 (88.2%)		19 (90.5%)		
Febre										
Não	8 (13.1%)	6 (16.2%)	2 (8.3%)	0,373	1 (10.0%)	1 (5.9%)	0,693	1 (4.8%)	0,326	
Sim	53 (86.9%)	31 (83.8%)	22 (91.7%)		9 (90.0%)	16 (94.1%)		20 (95.2%)		
Infecção										
Não	15 (24.6%)	12 (32.4%)	3 (12.5%)	0,077	2 (20.0%)	1 (5.9%)	0,260	1 (4.8%)	0,099	
Sim	46 (75.4%)	25 (67.6%)	21 (87.5%)		8 (80.0%)	16 (94.1%)		20 (95.2%)		
Cultura										
Não	39 (63.9%)	26 (70.3%)*	13 (54.2%)	0,006	7 (70.0%)	11 (64.7%)	0,521	13 (61.9%)	0,563	
Pos			6 (25.0%)			2 (11.8%)		2 (9.5%)		
Pos MR	6 (9.8%)	0 (0.0%)	* (4.2%)		0 (0.0%)	2 (11.8%)		2 (9.5%)		
Fungo	15 (24.6%)	11 (29.7%)	4 (16.7%)		3 (30.0%)	4 (23.5%)		6 (28.6%)		
1 (1.6%)	0 (0.0%)				0 (0.0%)	0 (0.0%)		0 (0.0%)		
Antibiótico										
Profílatia	10 (16.7%)	8 (22.2%)	2 (8.3%)	0,262	1 (10.0%)	1 (5.9%)	0,565	1 (4.8%)	0,196	
1,00	8 (13.3%)	3 (8.3%)	5 (20.8%)		1 (10.0%)	3 (17.6%)		2 (9.5%)		
2,00	12 (20.0%)	6 (16.7%)	6 (25.0%)		4 (40.0%)	3 (17.6%)		5 (23.8%)		
3+	30 (50.0%)	19 (52.8%)	11 (45.8%)		4 (40.0%)	10 (58.8%)		13 (61.9%)		
Intercorrença clínica										
Não	12 (18.8%)	8 (20.5%)	4 (16.0%)	0,652	4 (40.0%)	2 (12.5%)	0,105	3 (15.0%)	0,074	
Sim	52 (81.3%)	31 (79.5%)	21 (84.0%)		6 (60.0%)	14 (87.5%)		17 (85.0%)		
Granulocito										
Zero	3 (8.8%)	1 (4.8%)	2 (15.4%)	0,289	0 (0.0%)	3 (17.6%)	0,159	2 (9.5%)	0,623	

								(Conclusão)	
>0	31 (91.2%)	20 (95.2%)	11 (84.6%)		10 (100.0%)	14 (82.4%)		5 (83.3%)	19 (90.5%)
Monócito									
Zero	7 (20.6%)	4 (19.0%)	3 (23.1%)	0,778	0 (0.0%)	6 (35.3%)*	0,033	0 (0.0%)	6 (28.6%)
>0	27 (79.4%)	17 (81.0%)	10 (76.9%)		10 (100.0%)*	11 (64.7%)		6 (100.0%)	15 (71.4%)
Linfócito									
Até 6	13 (37.1%)	8 (36.4%)	5 (38.5%)	0,901	7 (70.0%)*	5 (29.4%)	0,040	3 (50.0%)	9 (42.9%)
>6	22 (62.9%)	14 (63.6%)	8 (61.5%)		3 (30.0%)	12 (70.6%)*		3 (50.0%)	12 (57.1%)
LB									
Até 3,5	14 (63.6%)	11 (73.3%)	3 (42.9%)	0,166	7 (77.8%)	6 (60.0%)	0,405	3 (60.0%)	10 (71.4%)
>3,5	8 (36.4%)	4 (26.7%)	4 (57.1%)		2 (22.2%)	4 (40.0%)		2 (40.0%)	4 (28.6%)
LT									
Até 60	4 (19.0%)	2 (14.3%)	2 (28.6%)	0,432	0 (0.0%)	3 (30.0%)	0,073	1 (20.0%)	2 (14.3%)
>60	17 (81.0%)	12 (85.7%)	5 (71.4%)		9 (100.0%)	7 (70.0%)		4 (80.0%)	12 (85.7%)
Desfecho D30									
Remissão citológica	12 (18.2%)	8 (20.0%)	4 (15.4%)	0,200	0 (0.0%)	1 (5.9%)	0,022	0 (0.0%)	1 (4.8%)
Remissão molecular	21 (31.8%)	16 (40.0%)	5 (19.2%)		9 (90.0%)*	6 (35.3%)		3 (50.0%)	12 (57.1%)
Refratário molecular	16 (24.2%)	7 (17.5%)	9 (34.6%)		1 (10.0%)	10 (58.8%)*		3 (50.0%)	8 (38.1%)
Óbito	17 (25.8%)	9 (22.5%)	8 (30.8%)		0 (0.0%)	0 (0.0%)		0 (0.0%)	0 (0.0%)
LNK_delta									
Reduziu	11 (40.7%)	4 (22.2%)	7 (77.8%)*	0,006	7 (70.0%)*	4 (23.5%)	0,018	6 (100%)*	5 (23.8%)
Aumentou	16 (59.3%)	14 (77.8%)*	2 (22.2%)		3 (30.0%)	13 (76.5%)*		0 (0.0%)	16 (76.2%)*
LNK_delta_menos_6									
Não	6 (22.2%)	2 (11.1%)	4 (44.4%)	0,099	4 (40.0%)	2 (11.8%)	0,088	-	-
Sim	21 (77.8%)	16 (88.9%)	5 (55.6%)		6 (60.0%)	15 (88.2%)		-	-

*p<0,05, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson (n, %)

Fonte: elaborado pela autora

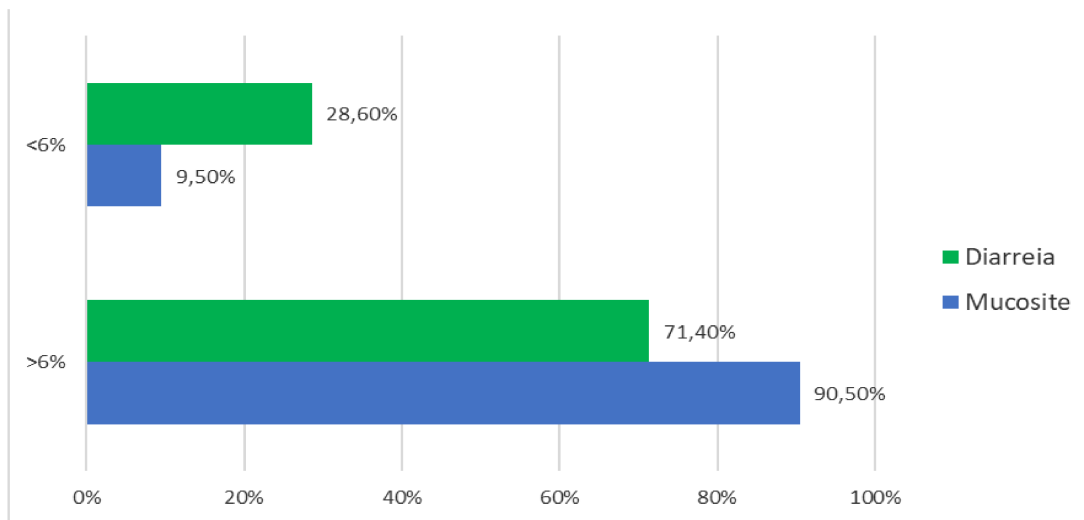
A avaliação do percentual de células NK nos 27 pacientes mostrou que houve queda do percentual em 21 pacientes (77,8%) após quimioterapia de indução. Uma queda maior do que 6%, ou seja, uma alta variação de queda de células NK foi significativa em 16 pacientes (76,2%) (p=0,001).

Um alta variação de queda células NK demonstrou uma associação significativa com a quantidade de linfócitos T pós quimioterapia, houve um aumento de linfócitos T em 18 de 21 pacientes (85,7%) quando a queda de células NK foi maior do que 6%. (p=0,001)

Uma alta variação de queda no valor de células NK depois do tratamento também se correlacionou com a presença de mucosite oral e diarreia, representado no **Gráfico 3**. Observou-se que nos pacientes em que a redução das células NK foi alta (maior que 6%), os

pacientes (n=19/21) apresentaram algum grau de mucosite oral (90,5%)(p=0,024). Em relação a diarreia, a distribuição e o nível de significância também foram semelhantes à mucosite oral: 15 de 21 pacientes (71,4%) que tiveram alta variação na queda de células NK apresentaram algum grau de diarreia (p=0,016).

Gráfico 1 – toxicidade gastrointestinal



Legenda: Delta de células NK <6% (valor pré-quimioterapia de indução menos valor 30 dias pós-início da quimioterapia) e delta >6% nesta contagem sanguínea. As colunas azuis representam a análise da mucosite oral e as colunas verdes a diarreia.

Fonte: elaborado pela autora

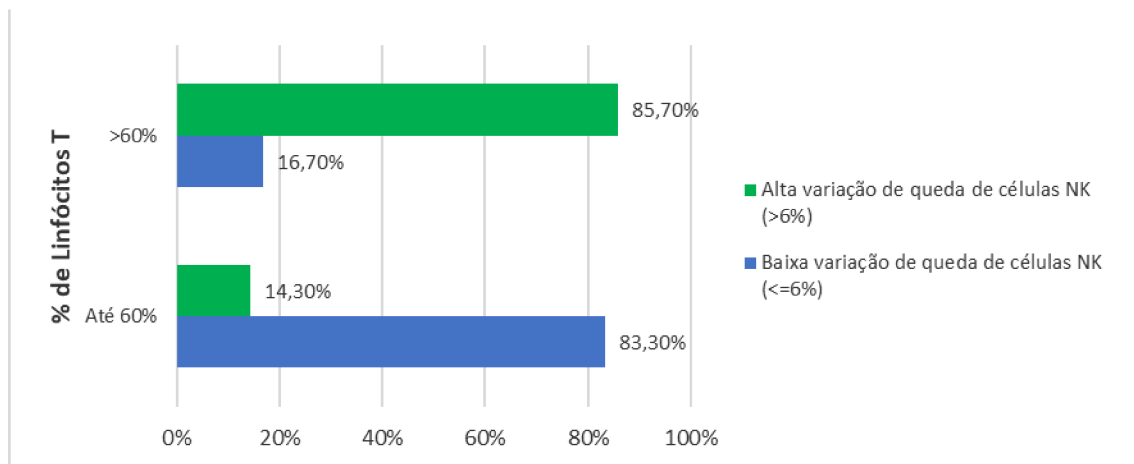
Não foram encontradas associações significativas quando a mucosite e a diarreia foram estratificadas de acordo com o grau, assim como também não houve diferença significativa quanto à presença de náuseas nos grupos estudados. Além disso, também não foram evidenciadas associações significativas com idade, sexo e subtipo diagnóstico.

A frequência de febre não mostrou diferença estatística entre os grupos estudados, porém, a presença de infecção foi significativamente maior na população de pacientes com alta variação na queda de células NK: 20 de 21 pacientes (90,5%) apresentaram infecção com foco bem definido (p=0,099). A presença de intercorrências clínicas também foi maior no grupo de pacientes com maior queda na variação de células NK, e, embora não seja possível concluir se houve realmente diferença significativa (p=0,074), é um dado que merece ser destacado.

No grupo de pacientes com alta variação de queda de células NK após quimioterapia de indução, ou seja, queda maior do que 6%, não foi encontrada diferença com significado estatístico quanto aos desfechos. Contudo, no subgrupo em que o percentual de

células NK em relação ao total de linfócitos foi menor do que 15% após quimioterapia (n=9/10), 90% dos pacientes apresentaram pesquisa de doença residual mensurável negativa evidenciando resposta hematológica completa pós-terapia de indução, dado esse com relevância estatística (p=0,022), conforme representado no **gráfico 2**.

Gráfico 2 – Distribuição das subpopulações linfocitárias t e NK após-QT



Fonte: elaborado pela autora

Curiosamente, nesse mesmo grupo, em todos os pacientes (n=10/10) a quantidade de linfócitos T pós-tratamento foi de mais 60% do total de linfócitos, sugerindo uma possível expansão compensatória da população de linfócitos T naqueles que tinham baixas quantidades de células NK (**Tabela 7**). O percentual de monócitos também foi maior em todos os pacientes (n=10/10) desse grupo, inclusive com significado estatístico (p=0,033), o que fortalece a ideia de que mecanismos compensatórios próprios da imunidade adaptativa se revelam mais eficazes na resposta contra o câncer.

6 DISCUSSÃO

As células NK se configuram como potentes constituintes da imunidade inata e participam de diversos mecanismos associados a terapêuticas contra neoplasias hematológicas. Em nosso estudo, avaliamos a contagem dessas células antes e depois do tratamento de indução em pacientes portadores de leucemia aguda e correlacionamos com algumas características clínico-patológicas, dentre elas a presença de mucosite oral e diarreia, infecção clinicamente documentada e resposta clínica e laboratorial ao tratamento.

Embora dados epidemiológicos não estivessem inicialmente descritos nos objetivos da nossa pesquisa, os resultados encontrados merecem ser discutidos, pois houve uma leve divergência em relação a epidemiologia global da leucemia, visto que na literatura a taxa de incidência para homens foi de 6,1 por 100.000, em comparação com 4,3 por 100.000 mulheres, e na nossa amostra a incidência foi bastante equilibrada, com uma leve predominância do sexo feminino. (Bispo *et al*, 2020)

A idade média de diagnóstico da LMA segundo estatística mundial é de 68 anos, dado bastante superior ao encontrado no nosso estudo que foi de 46 anos. No caso da LLA, a idade média no nosso estudo foi de 38 anos, o que também discordou de alguns estudos prévios que descreveram uma distribuição bimodal da LLA: 80% ocorrendo em crianças e um segundo pico ocorrendo por volta dos 50 anos. Essas diferenças podem ser justificadas pela dificuldade de acesso da população senil aos centros oncológicos especializados, pois, no cenário e no contexto da saúde pública brasileira, as vagas da regulação são priorizadas para os pacientes mais jovens, uma vez que a idade é um fator determinante na elegibilidade à quimioterapia de indução. (Shimony *et al*, 2025) (Basquiera *et al*, 2023)

Em consonância com nossos dados, um estudo realizado no Brasil avaliou 98 indivíduos com LMA e a média de idade no diagnóstico foi 44 anos. A discordância com a literatura internacional quanto à significância estatística para essa variável também pode estar relacionada à incorporação da Leucemia Promielocítica (LPA) na estatística das leucemias mieloides, que é prevalente em pacientes mais jovens. (Padilha *et al*, 2015)

Segundo dados epidemiológicos mundiais, a LMA é a leucemia mais comum em adultos, e, de fato, nossos resultados são semelhantes aos publicados: o subtipo mais comum de leucemia no nosso estudo foi a mieloide aguda, correspondendo a 67% dos pacientes. Um fato curioso que merece ser destacado é que observamos em nosso estudo que a LPA correspondeu a 1/3 dos casos das leucemias mieloides. Esse valor é discordante da literatura que relata a LPA responsável por 10 a 15%. A abordagem ao paciente com suspeita de LPA

exige um laboratório experiente e uma confirmação rápida do diagnóstico, seja por cariótipo convencional, hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) ou reação em cadeia da polimerase quantitativa. Todos os pacientes do nosso estudo tiveram acesso à confirmação diagnóstica realizada pelo SUS a pelo menos um desses métodos, o que reflete uma assistência laboratorial integrada e especializada e pode justificar esse valor acima do descrito na literatura. Contudo, pode ser interessante avaliar em estudos futuros a alta prevalência de LPA no cenário estadual. (Sanz *et al*, 2019)

Em nosso estudo, a incidência de toxicidade gastrointestinal foi semelhante para mucosite oral (59%) e diarreia (50,8%) atingindo mais da metade dos pacientes. Esse achado está em consonância com publicações científicas anteriores que demonstraram uma faixa de incidência de mucosite oral e não oral variando de um único dígito a bem mais de 50%, podendo atingir 60 a 100% dos pacientes tratados com quimioterapia de alta dose, radioterapia e transplante de medula óssea. (Kwon *et al*, 2016)

Náuseas e vômitos induzidos por quimioterapia são alguns dos efeitos colaterais mais incapacitantes do tratamento do câncer. A maioria dos pacientes (78,7%) do nosso estudo apresentou náuseas durante quimioterapia de indução, o que também é semelhante com que está descrito na literatura: náuseas e vômitos acometem cerca de 70-80% dos pacientes em tratamento oncológico. Quando comparamos os grupos de acordo com percentual de células NK antes e depois do tratamento não encontramos associações significativas com a presença de náuseas, o que pode ser explicado pelo fato de que não há mecanismos imunes envolvidos na fisiopatologia da resposta ao vômito, pois as evidências sugerem fortemente que a êmese é mediada principalmente por diversos neurotransmissores integrando o trato gastrointestinal e o sistema nervoso central. (Gupta *et at*, 2021)

A mortalidade precoce continua sendo um desafio da fase inicial da quimioterapia intensiva em pacientes com leucemia aguda. No nosso estudo, 25% dos pacientes foram a óbito, e ao buscarmos esse dado na literatura percebemos que as taxas de mortalidade são amplamente variáveis (10-50%), pois dependem de fatores sociodemográficos, *status* mutacional, risco citogenético, e até mesmo do ambiente hospitalar em que o paciente recebe os cuidados contra o câncer. Portanto, análises de subgrupos seriam necessárias para definir o real valor da mortalidade precoce no nosso estudo. (Gwendolyn *et al*, 2017) (Koji *et al*, 2023)

Os principais fatores de risco associados à mortalidade precoce durante a quimioterapia de indução são sangramento devido à trombocitopenia e complicações infecciosas decorrentes do estado imunocomprometido. Em nosso estudo, a neutropenia febril esteve presente em quase 90% dos pacientes (86,9%), e a presença de infecção clínica foi

documentada em 75,4% pacientes. Esses achados estão em consonância com ensaios clínicos anteriores que também avaliaram pacientes em quimioterapia de indução intensiva, e relataram neutropenia febril em mais de 80% dos pacientes e infecções em 50%-60%. (Desai *et al*, 2021) (Hong *et al*, 2016)

No nosso estudo, a presença de infecção foi significativamente maior na população de pacientes com alta variação na queda de células NK após tratamento, o que pode ser justificado pelo papel citotóxico que as células NK desempenham como primeira linha de defesa contra patógenos virais, bacterianos e protozoários. Conforme foi descrito na literatura, existem vias de sinalização mediadas por células NK que levam a morte de patógenos intracelulares, através da (1) liberação de grânulos citotóxicos contendo a proteína formadora de poros, perforina, e proteases, granzimas; seguida da ativação de caspases pelas granzimas. As caspases, por sua vez, promovem a clivagem proteolítica de substratos celulares levando à apoptose; (2) montagem dos canais, formação de poros e troca de íons contribuem para a perturbação osmótica e levam a morte celular por necroptose ou piroptose; (3) morte celular mediada por inflamossomo e caspases que ocorre quando patógenos extracelulares e intracelulares ou seus produtos ativam as vias de sinalização do inflamossomo e a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1b e IL-18). (Belizário *et al*, 2018)

O presente estudo mostrou que uma queda no percentual de células NK após o tratamento esteve associada ao desenvolvimento de algum grau de mucosite oral e diarreia. A participação das células NK na patogênese da mucosite intestinal induzida por quimioterápicos não está claramente elucidada na literatura. No entanto, a associação demonstrada no nosso estudo pode ser explicada pelo papel que as células NK desempenham na imunidade inata como primeira linha de defesa contra patógenos invasores, particularmente as células NK da lâmina própria intestinal.

As células NK participam da imunidade inata por meio de diversos mecanismos, dentre eles a produção de citocinas pró-inflamatórias, sendo as principais o IFN- γ e o TNF- α . Um estudo prévio demonstrou usando um modelo animal de mucosite induzida pelo quimioterápico 5-fluorouracil, que a administração de pentoxifilina e talidomida, ambos inibidores da síntese de citocinas, teve um efeito protetor e, portanto, evidenciou que TNF- α tinha um papel importante na patogênese da mucosite oral, o que nos permite sugerir que indiretamente as células NK, através da produção de TNF- α , estão associadas a esse mecanismo. (Lima *et al*, 2005)

Outros estudos demonstraram que na fase ulcerativa da mucosite, as bactérias translocam e estimulam as células circundantes a liberarem citocinas e quimiocinas para

recrutamento de células constituintes da imunidade inata, como macrófagos, mastócitos e neutrófilos para produzir moléculas pró-inflamatórias adicionais e contribuir ainda mais para a apoptose celular. Também foi evidenciado em estudos prévios que após a fase ulcerativa, a matriz extracelular e as células mesenquimais submucosas interagem com células imunes inatas para iniciar o processo de cura da mucosite oral induzida por quimiorradioterapia, ativando a proliferação e diferenciação de células epiteliais e o restabelecimento da flora microbiana. (Sonis *et al*, 2010) (Cinausero *et al*, 2017)

Observou-se no presente estudo uma associação de menor frequência de células NK após quimioterapia com o desenvolvimento de mucosite. As células NK são potentes produtoras de moléculas pró-inflamatórias e, dessa forma, participam ativamente da imunidade inata. As complexas interações entre as respostas imunes inatas e o microbioma bacteriano desempenham um papel fundamental na etiologia e na resolução da mucosite induzida por quimioterapia. Embora o nosso estudo apresente limitações quanto a caracterização da ativação funcional das células NK, se considerarmos o papel pró-inflamatório e antimicrobiano que as células NK desempenham, podemos justificar porque a redução no percentual dessas células esteve associada com o surgimento de algum grau de mucosite e diarreia no decorrer do tratamento quimioterápico.

Em nossa amostra, observamos que no subgrupo de pacientes em que o percentual de células NK em relação ao total de linfócitos foi menor do que 15% após quimioterapia, a taxa de resposta ao tratamento avaliada através da pesquisa de doença residual mensurável foi a melhor resposta possível, ou seja, doença residual mínima negativa. Nesse mesmo grupo de pacientes, identificamos que o percentual de linfócitos T e de monócitos também foi maior em relação ao grupo de pacientes com percentual de células NK maior do que 15%. Em outros termos, após o tratamento os pacientes com menos células NK, mais linfócitos T e mais monócitos obtiveram a melhor resposta clínica esperada, indicando uma provável ativação da imunidade adaptativa e especialização resposta às infecções.

O impacto do papel das células NK nas respostas imune antitumorais e no prognóstico das neoplasias hematológicas, embora extensamente estudado, é discutível.

Um estudo prévio demonstrou que o aumento do número de células NK na medula óssea de crianças com LLA no diagnóstico foi positivamente correlacionado com a resposta ao tratamento. (Mizia-Malarz *et al*, 2019)

Um outro estudo examinou o fenótipo e a função das células NK em pacientes com LMA no diagnóstico e após a indução e comparou com controles saudáveis da mesma idade, esse estudo evidenciou que as células NK dos pacientes com LMA têm um fenótipo

anormal com regulação negativa do receptor ativador NKp46 e regulação positiva do receptor inibitório NKG2A, levando a uma função citotóxica e efetora prejudicada, e que isso foi parcialmente corrigido após a indução, durante a remissão. Nesse estudo o aumento da frequência de células NK que expressaram NKG2A e a produção prejudicada de TNF- α foram associados a falha em atingir resposta completa após quimioterapia de indução. Nesse mesmo estudo, foi observado também uma influência negativa induzido por blastos de LMA, prejudicando a capacidade do sistema imunológico inato de combater a proliferação da leucemia. (Stringaris *et al*, 2014) Tal achado pode indicar que a ativação predominante de mecanismos inatos em detrimento dos adaptativos, mais especializados, pode ser um fator que contribui para o escape tumoral à imunovigilância por restringir a eficiência global do sistema de controle tumoral.

Um estudo realizado em uma universidade brasileira expandiu células NK haploidenticas doadas e infundiu em 13 pacientes com LMA recaída/refratária de alto risco. Os pacientes receberam quimioterapia de resgate com esquema fludarabina, citarabina em altas doses, e fator estimulador de colônia de granulócitos associados a infusões repetidas de células NK (expandidas e modificadas) três vezes por semana em um total de seis infusões. Infusões de células NK criopreservadas foram administradas com segurança e apresentaram bons resultados, incluindo ação em sistema nervoso central. (Silla *et al*, 2021)

O maior percentual de linfócitos T e de monócitos observado no grupo de pacientes com menos células NK do nosso estudo sugere uma ativação maior da imunidade adaptativa em relação a imunidade inata em um possível mecanismo compensatório de resposta contra o câncer. A ideia de interação entre o sistema imune e o câncer surgiu quando foi demonstrado que tumores desenvolvidos em camundongos imunodeficientes eram eliminados em camundongos imunocompetentes, além da maior incidência de câncer em indivíduos com imunodeficiência. Os braços inato e adaptativo da imunidade formam um sistema integrado de defesas do hospedeiro, e ambos participam da resposta imune contra o câncer. A imunovigilância corresponde a capacidade do sistema imune de reconhecer e eliminar as células neoplásicas e, nesta etapa, as células NK determinam um papel central principalmente pela toxicidade direta e pela expressão de ligantes do receptor NKG2D. (Smyth *et al*, 2005)

Dados obtidos de diversos estudos oferecem evidências de que tipos específicos de células imunes inatas e adaptativas podem funcionar como mecanismos extrínsecos de supressão de tumores, porém também pode promover a progressão do tumor. Tais ações

duplas de proteção do hospedeiro e promoção do tumor são chamadas de imunoedição do câncer. (Schreiber *et al*, 2011)

Em relação a participação da imunidade adaptativa, está bem estabelecido que as respostas dos linfócitos T citotóxicos CD8⁺ são eficazes na eliminação de tumores em vários modelos, especialmente para tumores que expressam moléculas MHC-I. Em diversos modelos experimentais e em pacientes com câncer, foi demonstrado que os linfócitos T CD4⁺ também podem mediar a imunidade antitumoral, seja diretamente matando células tumorais, ou indiretamente ativando células imunes inatas ou reduzindo a angiogênese tumoral. (Kravtsov *et al*, 2022)

Observou-se no presente estudo que o percentual e a funcionalidade das células NK pode estar conectado com informações prognósticas, porém, ao mesmo tempo, mecanismos de controle dos tumores hematológicos podem editar diversas maneiras de escapar das respostas imunológicas anticâncer. Esta pesquisa tem pontos fortes e perspectivas, visto que a caracterização fenotípica das células NK pode ajudar a melhorar o conhecimento sobre o efeito citotóxico e prognóstico dessas células.

No entanto, os presentes resultados não permitem afirmar a atividade funcional das células NK, o que poderia ser avaliado através da expressão de perforina ou de outros marcadores de degranulação, ou ainda da expressão dos receptores ativadores ou inibitórios, ou através da dosagem de fatores solúveis relacionados com a ativação de células NK (IL-15, IL-12, TFN- α e IFN- γ), além da dosagem de citocinas pró-inflamatórias (IL-1b, IL-18, IL-33). Tal limitação atual pode ser interessante ser avaliada em estudo futuros.

É importante ser destacado que para além da caracterização funcional dos receptores das células NK, também é extremamente significativo avaliar a expressão e o comportamento dos ligantes. Conforme foi demonstrado em um estudo prévio realizado em pacientes portadores de leucemia aguda, os blastos expressaram ligantes na superfície, mas também níveis elevados de ligantes solúveis foram encontrados no soro dos pacientes, os ligantes solúveis agiram reduzindo a expressão do NKG2D e diminuindo a atividade funcional das células NK, prejudicando a atividade antileucêmica das mesmas e piorando o prognóstico da doença. (Julia *et al*, 2012) (Courtney *et al*, 2014)

7 CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a diminuição no percentual de células NK após quimioterapia de indução está correlacionada com toxicidades gastrointestinais representadas por mucosite oral e diarreia, infecção clinicamente documentada e taxa de resposta completa ao tratamento inicial das leucemias aguda.

REFERÊNCIAS

- ABEL, A. M et al. Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. **Frontiers in immunology**, v. 9, p 1869, 2018.
- AKBARALI, H. I et al. Chemotherapy induced gastrointestinal toxicities. **Advances in cancer research**, v. 155, p 131-166, 2022.
- AMAND, M. et al. Human CD56^{dim}CD16^{dim} Cells As an Individualized Natural Killer Cell Subset. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 699, 2017.
- BASQUIERA, A. L. et al. Expert Recommendations for the Diagnosis, Treatment, and Management of Adult B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Latin America. **JCO global oncology**, v. 9, p. 2200292, 2023.
- BELIZÁRIO, J. E et al. When and how NK cell-induced programmed cell death benefits immunological protection against intracellular pathogen infection. **Innate immunity**, v. 24, p. 452-465, 2018.
- BURNETT, ALAN K et al. Optimization of chemotherapy for younger patients with acute myeloid leukemia: results of the medical research council AML15 trial. **Journal of clinical oncology**, v. 31, p. 27, 2013.
- BURNETT, A. K et al. A randomized comparison of daunorubicin 90 mg/m² vs 60 mg/m² in AML induction: results from the UK NCRI AML17 trial in 1206 patients. **Blood**, v. 125, p. 3878-3885, 2015.
- CASTAIGNE, S. et al. Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo acute myeloid leukaemia (ALFA-0701): a randomised, open-label, phase 3 study. **Lancet**, v. 379, p. 1508-1516, 2012.
- CINAUSERO, M. et al. New Frontiers in the Pathobiology and Treatment of Cancer Regimen-Related Mucosal Injury. **Frontiers in pharmacology**, v. 8, p. 354, 2017.
- CRANE, C. A et al. Immune evasion mediated by tumor-derived lactate dehydrogenase induction of NKG2D ligands on myeloid cells in glioblastoma patients. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, p. 12823-12828, 2014.
- DAHLGREN, D.; SJÖBLOM, M.; HELLSTRÖM, P.M.; LENNERNÄS, H et al. Chemotherapeutics-induced intestinal mucositis: Pathophysiology and potential treatment strategies. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 681417, 2021.
- DESAI, P. M et al. Open-Label Phase II Prospective, Randomized, Controlled Study of Romyelocel-L Myeloid Progenitor Cells to Reduce Infection During Induction Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia. **Journal of clinical**, v. 39, p. 3262-3272, 2021.
- DICKINSON, A. M et al. Graft-versus-Leukemia Effect Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Leukemia. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 496, 2017.

DINARDO, C.D.; JONAS, B.A.; PULLARKAT, V et al. Azacitidine and venetoclax in previously untreated acute myeloid leukemia. **N Engl J Med**, v. 383, p. 617-629 2020.

DÖHNER H, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. **Blood**, v. 129, p. 424-447, 2017.

ELAD, S.; CHENG, K.K.F.; LALLA, R.V. et al. MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. **Cancer**, v. 126, p. 4423-4431, 2021.

FERNANDEZ, H.F.; SUN, Z.; YAO, X, et al. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. **N Engl J Med**, v. 361, p. 1249- 1259, 2009.

FIGUEIREDO, A. et al. Laser terapia no controle da mucosite oral: um estudo de metanálise. **Rev. Assoc. Med. Bras**, v. 59, p. 467-474, 2013.

FREUD, A.G. et al. The broad spectrum of human natural killer cell diversity. **Immunity**, v. 47, p. 820-833, 2017.

GUPTA, K. et al. Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting: Pathogenesis, Recommendations, and New Trends. **Cancer treatment and research communications**, v. 26, p. 100278, 2021.

KANTARJIAN, H.M.; SHORT, N.J.; FATHI, A.T. et al. Acute Myeloid Leukemia: Historical Perspective and Progress in Research and Therapy Over 5 Decades. **Clin Lymphoma Myeloma Leuk**, v. 21, p. 580-597, 2021.

HEUSER, M et al. Acute myeloid leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of oncology**, v. 31, p. 697-712, 2020.

HO, G. et al. Early mortality and complications in hospitalized adult Californians with acute myeloid leukaemia. **British journal of haematology**, v. 177, p. 791-799, 2017.

HODBY, KATHARINE A, et al. Recent Advances in the Management of Acute Lymphoblastic Leukaemia. **Current treatment options in oncology**, v. 21, p. 23, 2020.

HONG, J. et al. Pre-treatment blood inflammatory markers as predictors of systemic infection during induction chemotherapy: results of an exploratory study in patients with acute myeloid leukemia. **Supportive care in cancer**, v. 24, p. 187-194, 2016.

HSU, J. et al. Contribution of NK cells to immunotherapy mediated by PD-1/PD-L1 blockade. **The Journal of clinical investigation**, v. 128, p. 4654-4668, 2018.

HUNAULT-BERGER, M. et al. A randomized study of pegylated liposomal doxorubicin versus continuous-infusion doxorubicin in elderly patients with acute lymphoblastic leukemia: the GRAALL-SA1 study. **Haematologica**, v. 9, p. 245-252, 2011.

INSTITUTE NACIONAL CANCER. **Cancer Therapy Evaluation Program: Common Terminology Criteria for Adverse Events, Version 5.0.** Bethesda: Nacional Cancer Institute, 2010.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2023: incidência do Câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 2022.

JABBOUR, E. et al. The Hyper-CVAD Regimen is an Optimal Pediatric-inspired Regimen for Adolescents and Adults With Acute Lymphoblastic Leukemia. **Clinical lymphoma, myeloma & leucemia**, v. 21, p. 63-65, 2021.

JONGEN-LAVRENCIC, M.; GROB, T.; HANEKAMP D et al. Molecular minimal residual disease in acute myeloid leukemia. **N Engl J Med**, v. 378, p. 1189-1199, 2018.

JULIA, H. et al. Comprehensive Analysis of NKG2D Ligand Expression and Release in Leukemia: Implications for NKG2D-Mediated NK Cell Responses. **J Immuno**, v. 189, p. 1360-1371, 2012.

KANTARJIAN, H. M et al. Acute myeloid leukemia management and research in 2025. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 75, p. 46-67, 2025.

KARMAKAR, S.; PAL, P.; LAL, G et al. Key Activating and Inhibitory Ligands Involved in the Mobilization of Natural Killer Cells for Cancer Immunotherapies. **Immunotargets Therapy**, v. 10, p. 387-407, 2021.

KHOURY, J.D., SOLARY, E., ABLA, O et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. **Leukemia**, v. 36, p. 1703–1719, 2022.

KRAVTSOV, D. S et al. Roles of CD4+ T cells as mediators of antitumor immunity. **Frontiers in immunology**, v. 13, p. 972021, 2022.

KRUSE PH, MATTA J, UGOLINI S, VIVIER E et al. Natural cytotoxicity receptors and their ligands. **Immunol Cell Biol.**, v. 92, p. 221-229, 2014.

KWON, Y. et al. Mechanism-based management for mucositis: option for treating side effects without compromising the efficacy of cancer therapy. **OncoTargets and therapy**, v.9, p. 2007–2016, 2016.

LARSON, R.A.; DODGE, R.K.; BURNS, C.P. et al. A five-drug remission induction regimen with intensive consolidation for adults with acute lymphoblastic leukemia: Cancer and leukemia group B study 8811. **Blood**, v. 85, p. 2025-2037, 1995.

LIMA, V. et al. Effects of the tumour necrosis factor-alpha inhibitors pentoxifylline and thalidomide in short-term experimental oral mucositis in hamsters. **European journal of oral sciences.**, v. 113, p. 210-217, 2005.

LIU, S. et al. NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development. **Journal of hematology & oncology**, v. 14, p. 17, 2021.

LOGAN, R. M et al. The role of pro-inflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: pathobiology, animal models and cytotoxic drugs. **Cancer treatment reviews**, v. 33, p. 448-460, 2007.

LUETKE-EVERSLOH, M.; CICEK, B.B.; SIRACUSA F, et al. NK cells gain higher IFN- γ competence during terminal differentiation. **Eur J Immunol**, v. 44, p. 2074-2084, 2014.

LEVIS, M. Midostaurin approved for FLT3-mutated AML. **Blood**, v. 129, p. 3403-3406, 2017.

MEHTA, R. S et al. NK cell therapy for hematologic malignancies. **International journal of hematology**, v. 107, p. 266-270, 2018.

MIGLIORATI, C. et al. Systematic review of laser and other light therapy for the management of oral mucositis in cancer patients. **Support Care Cancer**, v. 21, p. 333-41, 2013.

MIZIA-MALARZ, A.; GRAŻYNA SOBOL-MILEJSKA. NK Cells as Possible Prognostic Factor in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **Disease markers**, 2019.

MYERS, J. A.; JEFFREY S. M. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 18, p. 85-100, 2020.

PADILHA, S. L. et al. Acute myeloid leukemia: survival analysis of patients at a university hospital of Paraná. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 37, p. 21-27, 2015.

PAGLIARO, L.; CHEN, S.J.; HERRANZ, D. et al. Acute lymphoblastic leukaemia. **Nat Rev Dis Primers**, v. 10, p. 1-41, 2024.

RAVANDI, F.; RICHARD, S. Acute Promyelocytic Leukemia: A Perspective. **Clinical lymphoma, myeloma & leucemia**, v. 17, p. 543-544, 2017.

RIBEIRO, R.A.; WANDERLEY, C.W.; WONG, D.V. et al. Irinotecan- and 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis: insights into pathogenesis and therapeutic perspectives. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 78, p. 881-893, 2016.

ROUSSELOT, P.; COUDE, M.M.; GOKBUGET, N, et al. Dasatinib and low-intensity chemotherapy in elderly patients with Philadelphia chromosome-positive ALL. **Blood**, v. 128, p. 774-782, 2016.

SANZ, M. A et al. Management of acute promyelocytic leukemia: updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet. **Blood**, v. 133, p. 1630-1643, 2019.

SASAKI, K. et al. Early Mortality as a Quality Indicator in Frontline and Salvage Acute Myeloid Leukemia. **Clinical lymphoma, myeloma & leukemia**, v. 23, p. 905-910, 2023.

SCHREIBER, R. D et al. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. **Science**, v. 331, p. 1565-1570, 2011.

SCOVILLE, S.D.; FREUD, A.G.; CALIGIURI, M.A. Modeling Human Natural Killer Cell Development in the Era of Innate Lymphoid Cells. **Front Immunol**, v. 8, p. 360, 2017.

SHIMONY, S. et al. Acute Myeloid Leukemia: 2025 Update on Diagnosis, Risk-Stratification, and Management. **American journal of hematology**, 2025.

SHORT, N.J.; RYTTING, M.E.; CORTES, J.E. Acute myeloid leukaemia. **The Lancet**, v. 392, p. 593-606, 2018.

SILLA, L. et al. Adoptive immunotherapy with double-bright (CD56^{bright} /CD16^{bright}) expanded natural killer cells in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a proof-of-concept study. **British journal of haematology**, v. 195, p. 710-721, 2021.

SMYTH, M.J.; SWANN, J.; CRETNEY, E.; ZERFAFA, N.; YOKOYAMA, W.M.; HAYAKAWA, Y. NKG2D function protects the host from tumor initiation. **J Exp Med**, v. 202, p. 583-599, 2005.

SMYTH, M.J.; CRETNEY, E.; KELLY, J.M.; WESTWOOD, J.A.; STREET, S.E.; YAGITA, H, et al. Activation of NK cell cytotoxicity. **Mol Immunol**, v. 42, p. 501-510, 2005.

SONIS ST. The pathobiology of mucositis. **Nat Rev Cancer**, v. 4, p. 277–284, 2004.

SONIS, ST. Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. **Oral oncology**, v. 45, p. 1015-1020, 2009.

SONIS, S.T. New thoughts on the initiation of mucositis. **Oral Dis**, v. 16, p. 597–600, 2107.

STRELTSOVA, M.A.; EROKHINA, S.A.; KANEVSKIY, L.M.; LEE, D.A.; TELFORD, W.G.; SAPOZHNIKOV, A.M, et al. Analysis of NK cell clones obtained using interleukin-2 and gene-modified K562 cells revealed the ability of "senescent" NK cells to lose CD57 expression and start expressing NKG2A. **PLoS One**, v. 13, e0208469, 2018.

STRINGARIS, K. et al. Leukemia-induced phenotypic and functional defects in natural killer cells predict failure to achieve remission in acute myeloid leukemia. **Haematologica**, v. 99, p. 836-847, 2014.

RUGGERI, L.; CAPANNI, M.; URBANI, E.; PERRUCCIO, K.; SHLOMCHIK, W.D.; TOSTI, A.; POSATI, S.; ROGAIA, D.; FRASSONI, F.; AVERSA, F.; et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. **Science**, v. 295, p. 2097–2100, 2022.

VELICHINSKII, R.A.; STRELTSOVA, M.A.; KUST, S.A.; SAPOZHNIKOV, A.M.; KOVALENKO, E.I. The Biological Role and Therapeutic Potential of NK Cells in Hematological and Solid Tumors. **Int. J. Mol. Sci**, v. 22, 11385, 2021.

YADAV, P.K.; CHEN, C.; LIU, Z. Potential role of NK cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. **J Biomed Biotechnol**, v. 2011, 348530, 2011.

WANG, R.; JAW, J.J.; STUTZMAN, N.C.; ZOU, Z.; SUN, P.D. Natural killer cell-produced IFN- γ and TNF- α induce target cell cytolysis through up-regulation of ICAM-1. **J Leukoc Biol**, v. 91, p. 299-309, 2012.

WEI, A.H.; MONTESINOS, P. Venetoclax plus LDAC for newly diagnosed AML ineligible for intensive chemotherapy: a phase 3 randomized placebo-controlled trial. **Blood**, v. 135, p. 2137-2145, 2020.

WU, S.Y.; FU, T.; JIANG, Y.Z. Natural killer cells in cancer biology and therapy. **Mol Cancer**, v. 19, p. 120, 2020.

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O (a) senhor (a) está sendo convidado (a) para participar, de forma voluntária, da pesquisa intitulada: AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS NATURAL KILLER (NK) E DO DESENVOLVIMENTO DE MUCOSITE ORAL E/OU INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS que está sob a responsabilidade dos pesquisadores: Mabel Gomes de Brito Fernandes Queiroz e Alexandre Danton Viana Pinheiro e tem como objetivos: avaliar a correlação entre a contagem de células NK e o desenvolvimento de mucosite oral e/ou intestinal nos pacientes portadores de neoplasias hematológicas submetidos a quimioterapia, determinar a contagem de células NK no diagnóstico de pacientes portadores de neoplasias hematológicas, identificar os pacientes mais susceptíveis a desenvolver mucosite grave, avaliar as toxicidades relacionadas à quimioterapia, identificar a frequência genotípica e alélica dos polimorfismos para TLR4 rs4986791 e rs4986790 e TLR9 rs352140, rs5743836 e rs187084; relacionar a frequência genotípica e alélica dos polimorfismos com o grau de severidade da mucosite oral e intestinal. Sua participação se dará por meio de análise do exame diagnóstico, imunofenotipagem por citometria de fluxo E pesquisa de polimorfismos.

Para isso precisamos que o (a) senhor (a), autorize o uso do prontuário para coleta de dados clínicos. Suas informações serão tratadas de forma anônima e confidencial, isto é, em nenhum momento será divulgado o seu nome em qualquer fase do estudo. Os dados coletados serão utilizados apenas nesta pesquisa e os resultados divulgados em eventos e/ou revistas científicas.

Esta pesquisa poderá trazer os riscos possíveis relacionados diretamente ao manuseio de amostras de sangue dos pacientes, como exposição por contato acidental direto por queda do tubo de coleta. Tais riscos serão minimizados pela adoção de técnicas seguras como manuseio somente no mesmo local de processamento das amostras por profissional treinado para tanto e que já atua na rotina hospitalar. O risco à exposição aos insumos para processamento das amostras será minimizado pelo uso de equipamento de proteção individual. Serão obtidas, ainda, informações dos prontuários para análise de associação clínico-patológica com os marcadores em estudo. O risco inerente a essa etapa envolve o vazamento de informações sigilosas das pacientes. De forma a minimizar todos esses riscos, apenas os pesquisadores envolvidos no projeto poderão manipular o material biológico (amostras de sangue) e prontuários das pacientes, ficando estritamente proibido o uso deste material para outros fins além dos escopos descritos neste projeto, com o objetivo de minimizar os riscos de perda de dados dos prontuários.

A sua participação é de caráter **voluntário**, isto é, a qualquer momento o (a) Sr. (a) pode recusar-se a responder qualquer pergunta ou desistir de participar e retirar seu consentimento, entrando em contato com a responsável pela pesquisa pelo telefone 85-997735095. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição.



Digitais caso não assine

Fortaleza, _____ de _____ de _____

Participante da pesquisa

Pesquisador responsável

ANEXO B – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS

Iniciais:

Sexo: () M () F

Hospital de origem: () HUWC () HGF

Data de nascimento: __/__/__

Material: () MO () SP

Diagnóstico: () LMA () LPA () LLA-B () LLA-T () Leucemia aguda linhagem ambígua

Data do exame: __/__/__

Número prontuário:

Número pedido do exame:

Dados do hemograma inicial: Hb g/dL Leucócitos Plaquetas

Percentual de blastos no sangue periférico:

Dados do mielograma: blastos __%

Dados da imunofenotipagem:

Percentual de granulócitos: __% Monócitos __% Eritroblastos __% Blastos __%

Linfócitos totais: __% Subpopulações linfocitárias B: __% T: __% NK: __%

Percentual de células NK de acordo com o total de eventos: NK: __%

Dados do ecocardiograma: () normal () alterado /valor da fração de ejeção (FEVE): __%

Esquema de quimioterapia:

Data do início da quimioterapia (D1): __/__/__

Risco molecular/citogenético: () Baixo () Intermediário () Alto () Risco padrão () Não avaliado

Cariótipo: () Não coletado () Normal () Alterado _____

fish: () Não coletado () Normal () Alterado _____

Biologia molecular: () Não coletado () Mutado _____ () Não mutado _____

Grau de mucosite: () Não apresentou () I () II () III () IV () V () Não avaliado

Grau de diarreia: () Não apresentou () I () II () III () IV () V () Não avaliado

Presença de náuseas: () Sim () Não

Neutropenia febril: () Sim () Não

Infecção com foco clínico documentado: () Sim () Não () Foco:

Hemoculturas: () Não coletado () Negativa () Positiva

Intercorrências: _____

Reavaliação no D30 (pesquisa de doença residual mensurável):

() Não coletado () Negativa () Positiva

Data do exame: __/__/__

Dados da imunofenotipagem:

Percentual de granulócitos: __% monócitos __% eritroblastos __% blastos __%

Linfócitos totais: __% Subpopulações linfocitárias B: __% T: __% NK: __%

Desfecho no D30: () Refratário primário () DRM negativa () DRM positiva () óbito

Data da última avaliação: __/__/__

Desfecho atual: _____