



LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA- A INFLUÊNCIA BIOMOLECULAR DO PROGNÓSTICO AO TRATAMENTO: UMA REVISÃO DE LITERATURA

ALEX GUIMARÃES DE ARAÚJO; ATHAÍSE JÚLIA SANTOS DA SILVA; DAVI FARIAS TABOZA AREIAS DE MELO; MAYRA EMANUELLY SILVA BALBINO; JOSÉ CARLOS VILAR JUNIOR

RESUMO

A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma doença caracterizada pelo acúmulo de linfócitos B malignos, que podem afetar diferentes órgãos e causar sintomas como febre e perda de peso. O artigo a seguir apresenta quais são as influências da ciência biomolecular nos âmbitos de prognóstico e tratamento dessa doença, com objetivos de análise e discussão sobre evidências disponíveis na literatura. Trata-se de uma revisão de literatura do tipo narrativa, onde buscou-se analisar e descrever o conhecimento disponível nas bases de dados: *Scientific Eletronic Library Online (SCIELO)*, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), *National Library of Medicine (MEDLINE)*, com o objetivo de responder perguntas específicas. A leucemia linfocítica crônica (LLC) é reconhecida por não conseguir ser prevista com exatidão pelos sistemas de estadiamento clínico a nível individual. Diante disto, buscou-se investigar outros marcadores de prognóstico que poderiam agregar valor preditivo aos sistemas de estadiamento ou até mesmo substituí-los, como os: Padrões de infiltração histológica na medula óssea; Tempo de duplicação linfocitária; Estados de mutação dos genes de imunoglobulina; Alterações cromossômicas e o sistema FISH da citogenética. É importante fixar que a biologia molecular influencia de maneira direta nos papéis de prognóstico e tratamento da Leucemia Linfocítica Crônica, pois surge como um importante método científico, por proporcionar a gênese de todos os estudos e direções clínicas para as mais diversas patologias. Traz novas e fidedignas abordagens medicamentosas, de caráter diagnosticável, prognósticos sólidos e verídicos, trazendo assim, uma melhor perspectiva de tratamento com atualizações focadas e direcionadas ao bem estar do paciente

Palavras-chave: Leucemia linfocítica crônica. Prognóstico. Tratamento. Biologia Molecular.

1 INTRODUÇÃO

Para Emadi (2023), a leucemia é uma doença maligna que envolve uma produção excessiva de leucócitos imaturos ou anormais que, com o tempo, suprime a produção de células sanguíneas normais e resulta em sintomas relacionados à citopenias. A malignização costuma ocorrer nas células-tronco pluripotentes, embora, de vez em quando, ocorra na célula-tronco diferenciada com capacidade mais limitada de auto renovação. Proliferação anormal, expansão clonal, diferenciação aberrante e diminuição do apoptose (morte celular programada) levam à substituição dos elementos sanguíneos normais por células malignas.

De acordo com a OMS (2016) *apud* Emadi (2023), a classificação vai basear-se em uma combinação de características clínicas e morfologia, imunofenótipo e fatores genéticos. Outros sistemas de classificação menos utilizados são o sistema franco-americano-britânico (FAB), que se baseia na morfologia dos leucócitos anormais. Podem ser classificadas em quatro subtipos: Aguda ou Crônica, baseado na porcentagem de blastos ou células de leucemia na medula óssea ou no sangue; Mieloide ou Linfoide, com base na linhagem predominante das

células malignas.

Yamamoto e Figueiredo (2005) relatam que a leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma neoplasia do sistema linfo-hematopoiético ímpar no que diz respeito às demais leucemias devido às suas características. É mais frequente nos países ocidentais, sendo aproximadamente de 22 a 30% dos casos de leucemia. No que diz respeito aos estudos epidemiológicos, tem-se a dificuldade de que muitos pacientes são assintomáticos, ou apresentam evolução clínica indolente e, conseqüentemente, não procuram por tratamento e/ou internação. Por esse motivo, os autores relatam que os dados referentes à patologia podem estar subestimados.

Para Alves (2017), há três fatores para a compreensão da doença: os receptores dos linfócitos B (BCR), as alterações genéticas e as alterações advindas do desequilíbrio entre a proliferação celular e a apoptose.

As alterações genéticas podem ser entendidas que em pacientes com LLC é comum que tenham pelo menos uma alteração genética. Essas mutações são um fator predisponente significativo para o surgimento da Leucemia Linfocítica Crônica. Contudo, ainda não é totalmente claro quais os genes que estão diretamente associados ao desenvolvimento da doença. O que se sabe é que essas alterações genéticas desempenham um papel crucial na determinação do prognóstico da LLC, dos quais pode-se pontuar as Deleções: 17p13; 11q22-q23; 13q14 respectivamente, a Trissomia 12 e as Mutações somáticas (Alves, 2017).

As alterações de apoptose e proliferação celular diante do quadro de Leucemia Linfocítica Crônica, são caracterizadas principalmente pela acumulação de células B que “escaparam” da morte celular programada, resultando em um ciclo celular estagnado na fase G0/G1.

Considerando este cenário acima, surgiu-se a seguinte problemática: Qual seria a influência da Biologia Molecular no prognóstico e tratamento da Leucemia Linfocítica Crônica?

A relevância deste tema justifica a realização da pesquisa, pois é de grande importância e necessidade ter conhecimento e propriedade sobre ações biomoleculares que possam simplificar o entendimento da doença, e auxiliar no papel de desenvolver e monitorar um bom e eficaz tratamento, com base nos prognósticos revelados.

Assim, o presente estudo apresenta o objetivo geral de: Analisar estudos disponíveis na literatura, realizar uma revisão narrativa dos fatos descobertos. Discorrer sobre os mecanismos de auxílio em prognósticos e enfim discutir a influência da Biologia Molecular e seu papel na monitoração do tratamento da LLC.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

De acordo com Lakatos e Marconi (2021, p. 44) “pesquisa é uma atividade realizada para a investigação de problemas teóricos ou práticos, empregando métodos científicos”, e que se justifica pela busca de respostas, utilizando procedimentos científicos já conhecidos e consagrados pela comunidade acadêmica-científica.

Esse projeto de pesquisa tem como abordagem inicial, quanto objetivo, uma abordagem exploratória, que de acordo com Gil (2017) é aquela atividade realizada que busca propor uma maior familiaridade com o problema, visando a construção de hipóteses.

Como procedimento técnico para subsidiar a temática e aumentar a familiaridade com o tema proposto, foi utilizado a técnica da pesquisa bibliográfica, sendo essa ação elaborada com base em material já publicado por meios escritos e eletrônicos buscando analisar e descrever o conhecimento disponível nos descritores em ciências da saúde, tais como: *Scientific Eletronic Library Online (SCIELO)*, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), *National Library of Medicine (MEDLINE)* em suas publicações nos últimos 5 anos, utilizando como critério de inclusão marcadores biomoleculares para LLC e principais técnicas de biologia molecular para diagnóstico de cânceres, que se aproximasse

do objetivo proposto. Nesse sentido e conforme grifos de Fachin (2017) a pesquisa bibliográfica é essencial porque se assemelha a uma fonte inesgotável de informações, que auxilia na construção do conhecimento intelectual, na apresentação dos resultados prevaletentes, nesse estudo brincipais biomarcadorees da LLC terapias, contribuindo para o conhecimento em todas as formas do saber.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Marcadores clínicos de prognóstico na LLC.

Sistemas de Estadiamento Clínico.

Os pacientes com LLC são mundialmente alocados em três grandes grupos de risco (baixo, intermediário e alto), baseando-se em dois sistemas de estadiamento clínico dos pesquisadores Rai e Binet no ano de 1981 (Vasconcelos, 2005).

Figura 1 – tabela Estadiamento Clínico da Leucemia Linfocitária Crônica.

Classificação Rai	Classificação Binet
Estadio 0	Leucitos absolutos de $> 10.000/\text{mm}^3$ ($> 10 \times 10^9/\text{L}$) no sangue e infiltração $> 25\%$ na medula óssea
Estadio I	Estadio 0 com linfócitos aumentados
Estadio II	Estadio 0 com hepatomegalia ou esplenomegalia
Estadio III	Estadio 0 com anemia com hemoglobina $< 11 \text{ g/dL}$ ($< 110 \text{ g/L}$)
Estadio IV	Estadio 0 com anemia, leucos e com contagem plaquetária $< 100.000/\text{mm}^3$ ($< 100 \times 10^9/\text{L}$)
Disto	
Estadio A	Leucitos absolutos de $> 10.000/\text{mm}^3$ ($> 10 \times 10^9/\text{L}$) no sangue e infiltração $> 25\%$ na medula óssea Hemoglobina $> 10 \text{ g/dL}$ ($> 100 \text{ g/L}$) Plaquetas $> 100.000/\text{mm}^3$ ($> 100 \times 10^9/\text{L}$) e 2 locais comprometidos*
Estadio B	Estadio A, mas 2-5 locais comprometidos
Estadio C	Como o estadio A ou B, mas hemoglobina $< 10 \text{ g/dL}$ ($< 100 \text{ g/L}$) ou plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$ ($< 100 \times 10^9/\text{L}$)

Fonte: Adaptado de Yuri Vasconcelos 2005, *apud* Binet *et al* 1981.

Do ponto de vista prático, Binet parece ser mais objetivo que Rai na categorização dos portadores de LLC, pois os indivíduos Binet A correspondem ao dobro dos classificados em Rai 0 (63% vs. 31% dos casos de LLC, respectivamente), no entanto possuindo uma mediana de sobrevida equivalente (>10 anos para ambos). Apesar da fácil aplicação de um ou outro sistema de estadiamento na prática clínica (ambos dependem apenas de exame físico e hemograma), nenhum destes consegue prever as variações evolutivas individuais e acabam por somente refletir a carga tumoral (Vasconcelos, 2005).

Marcadores Biológicos do prognóstico na LLC.

Padrão de infiltração na histologia da medula óssea.

Como a biópsia de medula óssea está atualmente reservada a raros casos em que auxilia no diagnóstico diferencial com outras doenças linfoproliferativas crônicas, o padrão histomorfológico da medula óssea encontra-se em desuso na análise de prognóstico na LLC.

Pois, de acordo com Rozman *et al* 1984 *apud* Vasconcelos (2005), os portadores de LLC apresentam um padrão difuso de infiltração linfocitária na histologia da medula óssea e possuem historicamente um perfil evolutivo mais agressivo quando comparados aos pacientes que apresentam um padrão não-difuso.

Tempo de duplicação linfocitária.

Para os autores Montserrat e Cheson (1996), um tempo de duplicação linfocitária igual

a 12 meses confere um pior prognóstico, e muitas vezes serve de parâmetro (se < seis meses) na decisão terapêutica de pacientes com LLC. Apesar de classicamente utilizado, o tempo de duplicação linfocitária vem perdendo importância na estimativa de prognóstico na LLC, tanto pela longa espera na sua definição quanto pelo poder preditivo superior de outros parâmetros biológicos (imunofenóticos e moleculares) que serão discutidos mais adiante.

Estado de mutação dos genes de imunoglobulinas.

Vasconcelos (2005), relatou que alguns estudos constataram que o estado de mutação dos genes da região variável da cadeia pesada de imunoglobulinas (genes IgVH) confere uma predição evolutiva bastante acurada aos pacientes com LLC. De forma comparativa à sequência germline de referência, indivíduos com uma homologia <98% costumam apresentar uma evolução clínica bastante indolente e mediana de sobrevida que excede os vinte anos. Por outro lado, os pacientes com uma homologia = 98% frequentemente possuem doença de caráter agressivo, demanda terapêutica, alta incidência de morte por causas relacionadas à LLC, e uma mediana de sobrevida em torno de oito anos.

Imunofenótipo.

Para Moreau *et al* (1997), o estudo do imunofenótipo celular é indispensável ao diagnóstico de LLC, e também serve como importante ferramenta na apreciação de três marcadores de prognóstico nesta doença: CD38, Zap-70 e lipoproteína lipase (LPL). Seus altos níveis de expressão nos linfócitos B da LLC estão frequentemente associados a pacientes com prognóstico desfavorável, independentemente do estágio clínico, o que parece correlacionar com um maior estado de ativação celular.

A metodologia mais comumente empregada na avaliação destes marcadores é a citometria de fluxo multiparamétrica. Enquanto CD38 e Zap-70 possuem anticorpos comercialmente disponíveis, a LPL ainda carece desta disponibilidade. Os estudos realizados com CD38 e com Zap-70 oferecem dados contraditórios em relação ao valor de expressão utilizado como ponto de corte, porém o importante é considerar a porcentagem de linfócitos B com alta expressão destes marcadores, já que subpopulações celulares – contendo padrões distintos de expressão – podem coexistir numa mesma amostra analisada. De maneira geral, os pontos de corte mais amplamente utilizados são 30% e 20% para CD38 e Zap-70, respectivamente. Para LPL, o valor ideal ainda requer validação em séries com maior número de pacientes (Damle, 1999; Crespo, 2003; Heintel, 2005).

Alterações cromossômicas do LLC.

As anomalias mais comuns são: trissomia do cromossomo 12 (+12), translocação ou deleção do braço longo do 13 (t/del (13q)), deleção do braço longo do 6 (del (6q)), alterações envolvendo braço longo do 11, na banda q22-23 (11q22-23), translocação do braço longo do 14 (t (14q)) e deleção do braço curto do 17 (del (17p)), perfazendo cerca de 60% das alterações (Chauffaille, 2005).

Em relação à avaliação de prognóstico, embora não esteja claro se tal importância é independente do estágio da doença, pacientes com anormalidades cromossômicas têm sobrevida menor que aqueles com cariótipo normal. Pacientes com cariótipo normal respondem significativamente melhor à quimioterapia. Aqueles com anomalias complexas (mais de três anormalidades) têm pior sobrevida e apresentam doença mais agressiva. Indivíduos com alta porcentagem de células anormais também têm pior sobrevida. A trissomia 12 confere prognóstico desfavorável em relação ao cariótipo normal. Porém, del (13q), que ocorre em 10% dos casos, é indicativa de sobrevida mais longa (Zwiebel, 1998; Han, 1988; Escudier, 1993 e Xue, 1993).

Novas alterações cromossômicas podem surgir ao longo da evolução da doença,

levando ao conceito de "evolução clonal". Evolução de cariótipo ocorre em cerca de 20% dos casos de LLC e o desenvolvimento da Síndrome de Richter se acompanhada de alterações cromossômicas adicionais geralmente, a del (17p) (Chauffaille, 2005).

FISH.

A autora Chauffaille (2005) relata que utilização de citogenética molecular, em particular a FISH, tem aumentado substancialmente a capacidade de detecção de anormalidades cromossômicas, de modo que a incidência e o número de anomalias recorrentes têm sido estabelecidos mais precisamente à luz desta metodologia. A razão para isto é que a FISH permite a detecção de anormalidades específicas, ou seja, no alvo predeterminado e suplantando o empecilho maior da citogenética clássica, que é o fato dos linfócitos B malignos permanecerem fora da fase de divisão (Go/G1). Talvez um dos avanços mais notáveis na biblioteca de sondas disponíveis tenha sido o conjunto designado para as linfoproliferações de célula B maligna.

O tratamento.

De acordo com Emadi (2023), a terapia inicial tem como objetivo de: Aliviar sintomas; Induzir remissões duráveis e Prolongar a sobrevida. Os pacientes são observados até que os sintomas desenvolvam, momento em que o tratamento consiste em uma terapia-alvo em combinação com um anticorpo monoclonal direcionado contra as células B.

Estudos sugeriram que a terapia-alvo é tão eficaz, se não superior, quanto à quimioimunoterapia como primeira linha de tratamento para a maioria dos pacientes. A seleção da terapia inicial depende das características do paciente, características específicas da doença como presença de del (17p) e objetivos abrangentes da terapia (Emadi, 2023).

Emadi, 2023 *apud* Shanafelt *et al* 2019, explica que anteriormente, análogos da purina (p. ex., fludarabina), bem como agentes alquilantes (p. ex., bendamustina, clorambucil, ciclofosfamida) foram utilizados em combinação com um anticorpo monoclonal anti-CD20, o rituximabe. A combinação de fludarabina, ciclofosfamida e rituximabe (FCR) era o antigo padrão de cuidado para o tratamento de primeira linha na maioria dos pacientes clinicamente adequados. No passado, os pacientes idosos não tratados recebiam bendamustina e rituximabe, uma vez que esse esquema era mais fácil de tolerar. O importante estudo E1912 examinou a eficácia do tratamento com FCR versus a nova combinação de ibrutinibe, um inibidor oral da tirosina quinase de Bruton (Btk) e rituximabe em pacientes < 70 anos com LLC não tratada anteriormente. Os resultados mostraram uma melhor sobrevida livre de progressão em pacientes que receberam ibrutinibe mais rituximabe em comparação à quimioimunoterapia padrão.

Ensaios mais recentes em pacientes não tratados sugerem que a combinação de acalabrutinibe, um inibidor de Btk oral de segunda geração e obinutuzumabe, um anticorpo monoclonal glicoproteico contra CD20, é tão eficaz e potencialmente mais bem tolerada do que a quimioimunoterapia convencional. Dado o advento da terapia-alvo para uso no tratamento de primeira linha da LLC, vários estudos examinaram uma abordagem "limitada por tempo" ao tratamento. O venetoclax, um inibidor oral do Bcl2 (um inibidor oral de Bcl-2), foi utilizado em combinação com o obinutuzumabe para tratar de maneira eficaz os pacientes por um período fixo de 12 meses. São necessárias pesquisas adicionais acerca do uso do monitoramento da doença residual mínima (DRM) na LLC e como as alterações da DRM podem orientar a retomada do tratamento (Sharman *et al*, 2020; Fischer *et al* 2019).

Por fim, a Radioterapia é citada por Emadi (2023) é administrada uma irradiação paliativa a áreas de linfadenopatia ou para envolvimento do fígado e baço que não responde à quimioterapia. A irradiação total do corpo em doses pequenas é às vezes bem-sucedida para melhor temporariamente os sintomas.

4 CONCLUSÃO

Portanto, é importante fixar que a biologia molecular influencia de maneira direta nos papéis de prognóstico e tratamento da Leucemia Linfocítica Crônica (LLC), pois surge como um importante método científico, por proporcionar a gênese de todos os estudos e direções clínicas para as mais diversas patologias.

A ciência biomolecular vem fomentando com louvor década após década, estudos de grande eficácia clínica e comprovação científica. Trazendo novas e fidedignas abordagens medicamentosas, de caráter diagnosticável, prognósticos sólidos e verídicos, trazendo assim, uma melhor perspectiva de tratamento com atualizações focadas e direcionadas ao bem estar do paciente, seja em situações paliativas ou de prognósticos de sobrevida, adiando possíveis recidivas inerentes à patologia abordada neste artigo.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Catarina. Leucemia linfocítica crônica: Fisiopatologia, diagnóstico e abordagens terapêuticas. Tese (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – **Universidade de Lisboa**. Lisboa, p. 72, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/36006>. Acesso em: 09 Jun 2024;
- BINET, J L; AUQUIER, A; DIGHIRO, G *et al*. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. **Cancer**, 1981;48(1):198-206;
- CHAUFFAILLE, M L L F; VIEIRA, S; MARTINS S L R. Importância do cariótipo em LLC: relato de 18 casos. **Jornal Bras Patol Clin/Med Lab** 2004; 46:75-78;
- CHESON, B D; BENNETT, J M; GREVER, M *et al*. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. **Blood**, 1996; 87(12):4.990-4.997.
- CRESPO, M; BOSCH, F; VILLAMOR, N *et al*. ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. **N Engl J Med**, 2003; 348(18):1.764-75.
- DAMLE, R N; WASIL, T; FAIS, F *et al*. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. **Blood**, 1999;94(6):1.840-1.847.
- DIGHIERO, G, BINET JL. When and how to treat chronic lymphocytic leukemia. **N Engl J Med**,2000;343(24):1.799-1.801.
- EICHHORST, B; FINK, A M, BAHLO, J *et al*: First-line chemoimmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL10): Na international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. **Lancet Oncol** 17:928–942, 2016.
- ESCUDIER, S M, LEAHY, J M P, DRACH, J W *et al*. Fluorescent in situ hybridization and cytogenetic studies of trisomy 12 in CLL. **Blood**, 1993; 81: 2.702-7.
- EMANDI, Ashkan; LAW, Jennie York. Leucemia Linfocítica Crônica (LLC). **Manual MSD, versão para profissionais de saúde**, 2023. Disponível em: <https://>

www.msmanuals.com/pt-br/profissional/hematologia-e-oncologia/leucemia/leucemia-linfocitica-cronica-llc . Acesso em: 04 Jun 2024.

FACHIN, Odília. **Fundamentos de metodologia**. 6. ed. São Paulo: Editora Saraiva, 2017. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788502636552/>. Acesso em: 02 Fev., 2024

FISCHER, K; AL-SAWAF, O; BAHLO, J, *et al*: Venetoclax and obinutuzumab in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 380(23):2225–2236, 2019. doi: 10.1056/NEJMoa1815281.

GIL, Antônio Carlos. **Como elaborar um projeto de pesquisa**. 8 ed. São Paulo: Atlas, 2017.

GONÇALVES, R. P. *et al*. Avaliação do Perfil Hematológico de Pacientes com Leucemia Linfocítica Crônica (LLC-B) em um Hemocentro Estadual. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. São Paulo, v.31, n.4, p. 228-234, Jul. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/vRsRvLGhvptyJNTws9HTbrj/?lang=pt#>. Acesso em 09 Jun 2024;

HAN, T; SADAMORI, N; BLACK, A M W *et al*. Cytogenetic studies in CLL. **Nouv Rev Franç d'Hematol** 1988; 30:393-395.

HEINTEL, D; KIENLE D; SHEHATA, M *et al*. High expression of lipoprotein lipase in poor risk B-cell chronic lymphocytic leukemia. **Leukemia** 2005; 19: 1.216-1.223.

MONTSERRAT, E; SANCHEZ-BISONO J; VINOLAS N *et al*. Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: analysis of its prognostic significance. **Br J Haematol** 1986; 62:567.

MOREAU, E J; MATUTES, E; A'HERN, R P *et al*. Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). **Am J Clin Pathol**, 1997;108(4):378-382.

ROZMAN, C; MONTSERRAT, E; RODRIGUEZ-FERNANDEZ, J M, *et al*. Bone marrow histologic pattern-the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 329 cases. **Blood**, 1984;64:642.

SHANAFELT, T D; CALL, T G. Current approach to diagnosis and management of CLL. **Mayo Clin Proc**, 2004;79:388-98.

XUE, T H, MARCO J G, ELLIS J *et al*. Trisomy 12 in CLL detected by FISH. **Blood** 1993; 82:571-5.

YAMAMOTO, M.; FIGUEIREDO, V. L. P.. Epidemiologia da Leucemia Linfocítica Crônica e Leucemia Linfocítica Crônica Familiar. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. São Paulo, v. 27, n. 4, p. 229-232, Out. 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/JRZtRRqZbwQLC6ymGSGjPtd/?lang=pt&format=html#>. Acesso em: 09 Jun 2024.