



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE
NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

SABINE CARDOSO ALMEIDA

***LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA: CLÍNICA,
DIAGNÓSTICO E ABORDAGEM TERAPÊUTICA***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSORA DOUTORA ANA BELA SARMENTO RIBEIRO
DR. JOSÉ PEDRO CARDA**

OUTUBRO 2015

Resumo

A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é um subtipo de Leucemia Mielóide Aguda (LMA) caracterizada por alterações genéticas específicas, envolvendo tipicamente rearranjos no gene do Recetor Alfa do Ácido Retinóico (*RARA*), responsáveis pela acumulação de promielócitos leucémicos na medula óssea e sangue periférico - ocasionando, frequentemente, uma coagulopatia de consumo potencialmente fatal.

A maioria dos casos de LPA caracteriza-se pela fusão do gene *PML*, no cromossoma 15, com o gene *RARA*, localizado no cromossoma 17 – embora ocasionalmente anomalias citogenéticas alternativas possam encontrar-se presentes. O RNA mensageiro da fusão *PML-RARA* codifica uma proteína quimérica que compromete o processo de diferenciação celular na fase promielocítica. O conceito chave que justifica a abordagem terapêutica promissora atual assenta na elevada sensibilidade terapêutica da oncoproteína de fusão *PML-RARA* ao Ácido Trans-Retinóico (ATRA), com conseqüente retoma do processo diferenciação granulocítica.

O tratamento atual da LPA consiste na administração de ATRA e quimioterapia com antraciclina, abordagem terapêutica altamente eficaz na indução da remissão. Conseqüentemente, a LPA converteu-se numa das LMA mais potencialmente tratáveis, apresentando tipicamente um excelente prognóstico. O aperfeiçoamento posterior dos regimes terapêuticos com ATRA e Trióxido de Arsénio (ATO) ofereceu a cura à maioria dos doentes com LPA. A combinação terapêutica livre de quimioterapia revelou-se inovadora ao provar-se altamente eficaz e potencialmente curativa em muitos doentes - uma descoberta excitante enquanto abordagem terapêutica altamente promissora.

No entanto, apesar da atualização dos regimes terapêuticos ao longo dos últimos anos ter proporcionado enormes progressos no que concerne ao prognóstico da LPA, existe ainda um número significativo de doentes que privam da remissão da doença por mortalidade precoce. Embora a resistência primária à terapêutica tenha já sido contornada em grande escala com os protocolos terapêuticos atuais, a mortalidade precoce por um quadro de diátese hemorrágica no estágio inicial da doença, revela-se um importante obstáculo à cura da LPA.

O quadro de coagulopatia envolve habitualmente hemorragia grave de órgãos vitais, como o sistema nervoso central, pulmões e trato gastrointestinal; podendo, inclusive, motivar quadros trombóticos. A LPA é uma das doenças hematológicas cujo reconhecimento precoce e o início imediato da terapêutica dirigida à primeira suspeita de doença, antes da confirmação citogenética ou molecular do diagnóstico, concomitante com a terapêutica de suporte agressivo, se revelam fundamentais na redução da mortalidade precoce. Os doentes que sobrevivem aos primeiros 30 dias de doença, período em que a coagulopatia e a síndrome de diferenciação pelo ATRA condicionam elevado risco de morbidade e mortalidade, apresentam uma possibilidade de cura extremamente elevada.

O objetivo desta revisão é fazer um estado da arte das publicações e dados mais recentes relacionados com esta doença hemato-oncológica, incluindo compreender o papel dos mecanismos fisiopatológicos, apresentar as características clínicas, discutir a conduta e realçar as opções terapêuticas atualmente aprovadas e ainda em investigação.

Palavras-chave: Leucemia Promielocítica Aguda, Coagulação Intravascular Disseminada, Hiperfibrinólise, Ácido Trans-Retinóico, Trióxido de Arsénio, Antraciclina, Síndrome de Diferenciação

Abstract

Acute Promyelocytic Leukemia is a distinct subtype of acute myeloid leukemia characterized by a specific genetic alteration, typically involving retinoic acid receptor alpha (RARA) gene rearrangements, that leads to the accumulation of leukemic promyelocytes in the bone marrow and blood which is frequently associated with a life-threatening consumptive coagulopathy.

Most cases of APL contain the fusion of the promyelocytic leukemia (PML) gene on chromosome 15 with the RARA gene on chromosome 17, although occasional cases have other variant cytogenetic abnormalities. The fusion messenger RNA *PML-RARA* encodes a chimeric protein that impairs normal differentiation at the promyelocyte stage. The *PML-RARA* fusion gene product is specifically targeted by the drug all-trans retinoic acid, which promotes granulocytic differentiation - basic concept that supports the current promising therapeutic approach.

The current standard treatment given to patients with newly diagnosed APL consists of all-trans retinoic acid (ATRA) and anthracycline-based cytotoxic chemotherapy, which is highly effective for remission induction. As a result, APL is considered one of the most treatable AMLs and typically has an excellent prognosis. Subsequent refinement of ATRA treatment schedules and the introduction of arsenic trioxide (ATO) allow the cure of the majority of patients with APL. The groundbreaking chemotherapy-free combination of ATRA and ATO is a highly effective and potentially curative treatment - in many, if not most, patients - and this has now emerged as the most exciting new treatment strategy.

However, even though timely intervention of ATRA and ATO has made enormous progress in the prognosis of APL, there are still a fair number of patients deprived of the chance to remission by early death. While primary leukemia resistance has virtually disappeared as a cause of remission induction failure, death due to hemorrhage remains the major problem during the early treatment phase.

Severe coagulopathy usually results in an outbreak of hemorrhage in vital organs, most frequently occurring in the central nervous system, the lung and the gastrointestinal tract, and as well as the frequent incidence of thrombosis. APL is one of the few hematologic diseases that the early recognition and prompt initiation of

treatment at first suspicion remains a challenge in clinical practice, once rapid institution of ATRA at the first suspicion of the disease before cytogenetic or molecular confirmation of the diagnosis and aggressive blood product support are critical to reduce early mortality. Patients who survive the first 30 days after diagnosis of their disease, when the coagulopathy and the ATRA differentiation syndrome can cause morbidity and mortality, have an extraordinarily high rate of cure.

The aim of this review is to make a state of art of the most recent available data concerning this hemato-oncological disease, including understand the role of pathophysiology mechanisms, introduce the clinical features, discuss the management and highlight the therapeutic options already approved and that are still under investigation.

Key-words: Acute Promyelocytic Leukemia, Disseminated Intravascular Coagulation, Hyperfibrinolysis, All-trans Retinoic Acid, Arsenic trioxide, Anthracyclines, Differentiation Syndrome

Tabela de Conteúdos

1	Introdução.....	11
2	Nota histórica.....	13
3	Caracterização e Classificação das Leucemias Mielóides.....	15
4	Leucemia Promielocítica Aguda	19
4.1	Bases Genéticas e Moleculares	19
4.1.1	RARA e o Ácido Retinóico.....	21
4.1.1.1	PML-RARA	22
4.1.1.2	X-RARA.....	25
4.2	Clínica.....	26
4.2.1	Caraterísticas e fisiopatogenia da coagulopatia	27
4.2.2	Hemorragia.....	30
4.2.3	Trombose.....	32
4.3	Diagnóstico	34
4.3.1	Morfologia e Imunofenótipo	36
4.3.2	Citogenética e Biologia Molecular.....	40
4.3.2.1	Cariótipo convencional.....	40
4.3.2.2	Hibridização <i>in situ</i> de fluorescência.....	41
4.3.2.3	Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa	42
4.3.2.4	Imunohistoquímica com anticorpos monoclonais anti-PML.....	43
4.4	Fatores de Prognóstico.....	46
4.5	Abordagem Terapêutica.....	49
4.5.1	Tratamento de suporte.....	52
4.5.2	Terapêutica dirigida de acordo com o risco	54
4.5.2.1	Doentes de baixo-médio risco	56
4.5.2.2	Doentes de alto risco.....	62
4.5.3	Monitorização da doença residual mínima.....	65

4.5.4 Recidiva.....	68
4.5.5 Situações Especiais	73
4.5.5.1 Gravidez	73
4.5.5.2 LPA relacionada com a terapêutica	75
4.5.5.3 Variantes genéticas de LPA.....	75
4.5.5.4 Idosos.....	76
4.5.5.5 Crianças e adolescentes	77
4.5.6 Considerações importantes.....	77
4.5.6.1 Síndrome de Diferenciação	77
4.5.6.2 Monitorização da terapêutica com ATO	79
4.5.6.3 Leucostase	80
4.5.6.4 Pseudotumor cerebral	80
4.5.7 Novos fármacos.....	81
4.5.7.1 Arsénio via oral	82
4.5.7.2 Anticorpo monoclonal anti-CD33	82
4.5.7.3 Inibidores do FLT3	83
4.5.7.4 ATRA Lipossomal.....	83
4.5.7.5 Tamibaroteno.....	83
5 Conclusão	85
Agradecimentos	87
Referências Bibliográficas.....	88

Índice de Figuras

Figura 1. Papel do PML-RARA e do PML na via de ativação do gene supressor tumoral <i>p53</i>	23
Figura 2. Morfologia dos promielócitos após o tratamento com ATRA.....	24
Figura 3. Patogênese da coagulopatia associada a LPA.....	30
Figura 4. Corte axial de tomografia computadorizada crânioencefálica sem contraste, num doente com LPA.	32
Figura 5. Alterações hemostáticas na LPA e sua relação com a apresentação clínica. .	33
Figura 6. Alterações morfológicas visualizadas por microscopia ótica presentes na LPA.....	37
Figura 7. Resultado da transcrição da fusão entre o <i>PML</i> e o <i>RARA</i> na translocação <i>t(15:17)</i> detetada por FISH.	42
Figura 8. Comparação entre o padrão de coloração em doentes saudáveis com PML-NB íntegros e o obtido em doentes com a oncoproteína de fusão PML-RARA, por imunohistoquímica com anticorpos monoclonais anti-PML.....	43
Figura 9. A terapêutica com ATRA induz a diferenciação gradual dos promielócitos leucémicos <i>in vivo</i> quer na medula óssea como no sangue periférico.....	58
Figura 10. Abordagem terapêutica de primeira recidiva e tratamento adicional segundo as recomendações do NCCN.	72

Índice de Tabelas

Tabela 1. Tabela de risco de acordo com a citogenética na LMA.....	15
Tabela 2. Sistemas de classificação das LMAs, de acordo com o Sistema FAB e os modelos propostos pela OMS.....	17
Tabela 3. Translocações cromossômicas mais frequentemente associadas à LPA	20
Tabela 4. Comparação de alterações esperadas nos parâmetros de coagulação entre CID, hiperfibrinólise e LPA	35
Tabela 5. Subtipos morfológicos de LPA e respectivas características morfológicas	38
Tabela 6. Marcadores imunofenotípicos avaliados por citometria de fluxo para diagnóstico diferencial de LPA e LMA.....	39
Tabela 7. Comparação de características clínicas e biológicas na apresentação, entre os doentes que registaram mortalidade precoce por hemorragia fatal e o grupo de doentes que sobreviveram aos primeiros 30 dias de doença	47
Tabela 8. Terapêutica de indução e consolidação da LPA em doentes de baixo-médio risco	59
Tabela 9. Terapêutica de indução e consolidação da LPA em doentes de alto risco que toleram antraciclinas.....	63
Tabela 10. Terapêutica de indução e consolidação da LPA em doentes de alto risco que não toleram antraciclinas	64

Lista de Abreviaturas

Alo-TMO	Transplante Alogénico de Medula Óssea
ATO	<i>Arsenic Trioxide</i> ou Trióxido de Arsénio
ATRA	<i>All-trans retinoic acid</i> ou Ácido Trans-Retinóico
Auto-TMO	Transplante Autólogo de Medula Óssea
FAB	Sistema Francês-Americano-Britânico
CoA	Coativador
CoR	Correpressor
CID	Coagulação Intravascular Disseminada
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> ou Ácido Desoxirribonucleico
FISH	<i>Fluorescence in situ hybridization</i> ou hibridização <i>in situ</i> de fluorescência
FT	Fator Tecidual
IL	Interleucina
IV	<i>Intravenous</i> ou endovenoso
LDH	Desidrogenase do Lactato
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
LPA	Leucemia Promielocítica Aguda
NB	<i>Nuclear Bodies</i> ou Corpos Nucleares
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NMP	Neoplasias Mieloproliferativas
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	Procoagulante Cancerígeno

PETHEMA	Programa para o estudo e tratamento das doenças hematológicas, da Sociedade Espanhola de Hematologia
qPCR	Reação em cadeia da polimerase em tempo real
RARs	Recetores do Ácido Retinóico
RARA	Recetor Alfa do Ácido Retinóico
RC2	Segunda remissão completa da doença
RIF	<i>Realgar-Indigo naturalis formula</i> ou Realgar-Índigo
RM	Ressonância Magnética
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> ou Ácido Ribonucléico
RT-PCR	<i>Reverse transcriptase polymerase chain reaction</i> ou reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa
rTM	<i>Recombinant Thrombomodulin</i> ou trombomodulina recombinante
RXR _s	Recetores X Retinóides
SMD	Síndromes Mielodisplásicas
SNC	Sistema Nervoso Central
TAFI	<i>Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor</i> ou Inibidor de Fibrinólise Ativável pela Trombina
TC	Tomografia Computorizada
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alfa</i> ou fator de necrose tumoral alfa
TP	Tempo de Protrombina
tPA	<i>Tissue plasminogen activator</i> ou Ativador do Plasminogénio tecidual
TTPa	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada
uPA	<i>Urokinase-type plasminogen activator</i> ou Ativador do Plasminogénio tipo uroquinase

1 Introdução

As células sanguíneas resultam de um processo de diferenciação e proliferação de células estaminais hematopoiéticas. Caracterizadas pela sua capacidade multipotente e potencial ímpar de autorrenovação, as células hematopoiéticas possibilitam, desta forma, a formação da totalidade dos elementos figurados do sangue e sistema imunológico durante toda a vida de um indivíduo.⁽¹⁾ Interferências genéticas e epigenéticas que comprometam este processo celular altamente regulado cursam com o risco de promover a expansão inapropriada de células hematopoiéticas e/ou o bloqueio da sua diferenciação. Surge assim o conceito de Leucemia, um grupo heterogêneo de neoplasias malignas caracterizado pela expansão clonal de progenitores hematopoiéticos imaturos no sangue e na medula óssea.

As leucemias agudas apresentam predominantemente células hematopoiéticas primitivas, as células blásticas, adotando uma progressão rápida; contrastando com as leucemias crônicas que apresentam células em estádios de maturação preferencialmente mais tardios. Deste modo as leucemias crônicas caracterizam-se por células mais idênticas às células saudáveis permitindo que os doentes mantenham preservadas algumas das funções fisiológicas, o que culmina numa evolução mais lenta do quadro clínico.^(2, 3) Acredita-se que o dano genético nas leucemias agudas envolva vários processos bioquímicos básicos, resultando no aumento da velocidade de produção, diminuição da apoptose e/ou bloqueio da diferenciação celular. O aspecto clínico dominante da leucemia aguda é a insuficiência da medula óssea decorrente da acumulação de blastos, podendo também ocorrer infiltração de outros tecidos nomeadamente baço, fígado, gânglios linfáticos, meninges, cérebro, pele ou testículos. Uma leucemia aguda não tratada é, regra geral, rapidamente fatal; não significando contudo que não seja possível obter remissão completa e eventualmente cura.⁽³⁾

Em paralelo, as leucemias subdividem-se ainda de acordo com a linhagem celular comprometida, mielóide e linfóide. Desta forma incluem-se no conceito Mielóide todas as células que integram as linhagens granulocítica (neutrófilos, eosinófilos, basófilos), monocítica, eritróide, megacariocítica e de mastócitos.⁽⁴⁾

Alterações cromossômicas responsáveis pela alteração estrutural e consequente produção proteica anormal são recorrentes, estando inclusive documentadas anomalias

cromossômicas específicas que podem ser correlacionadas com o prognóstico dos doentes a longo prazo.^(2, 5, 6)

A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) constitui aproximadamente 10-15% de todos os casos de Leucemia Mielóide Aguda (LMA). Trata-se de uma patologia hemato-oncológica rara, considerada um verdadeiro paradigma no mundo da Medicina, que viu o seu estatuto de leucemia humana mais agressiva detentora do pior prognóstico mudar para a mais frequentemente curável.⁽⁷⁻⁹⁾ Encontra-se associada a translocações recíprocas que cursam fenotipicamente com a infiltração leucémica da medula óssea por promielócitos displásicos, encontrando-se habitualmente presente uma coagulopatia grave e potencialmente fatal.⁽¹⁰⁻¹³⁾

Neste trabalho, após uma breve nota introdutória acerca dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na leucemogénese, é feita uma revisão acerca da LPA com especial enfoque na sua caracterização clínica e avaliação diagnóstica - fulcrais para uma abordagem terapêutica não só adequada como atempada; pretendendo-se assim uma apreciação crítica, com base na literatura científica existente, desde o mecanismo molecular ao impacte no prognóstico.

É com este objetivo que me proponho abordar este tema de grande importância, não só por se tratar de uma doença hemato-oncológica agressiva potencialmente tratável que não pode ser esquecida aquando do diagnóstico diferencial e se perante uma clínica sugestiva; mas também porque ao longo dos últimos anos a LPA ter vindo a ser palco de enormes avanços na Medicina, pelo que se reveste de enorme interesse clínico rever, clarificar e reunir os melhores métodos de atuação à luz dos conhecimentos atuais.

2 Nota histórica

A literatura médica atual não apresenta pareceres consensuais acerca da descoberta e história da Leucemia, citando frequentemente Alfred Velpeau, Alfred Bonné, John Bennett e Rudolf Virchow como os principais alicerces do estudo pioneiro desta patologia. Muitos outros autores, com mais ou menos ênfase, encontram-se mencionados na literatura médica. Cada um destes investigadores contribuiu de forma única para uma melhor compreensão das leucemias ao longo das diferentes décadas, assente num estudo complexo e gradual, fruto de uma busca incansável pelo conhecimento por parte de todos os autores envolvidos.⁽¹⁴⁾

Acredita-se que a história da Leucemia remonta ao Séc. IV ou V a.C. na Grécia Antiga quando foi pela primeira vez reconhecida uma neoplasia do sangue.⁽¹⁵⁾ Em 1825, Alfred Velpeau reportou o caso de um dos seus doentes, tendo descrito a patologia com base num quadro clínico que incluía febre, astenia e distensão abdominal, e pela observação de vasos sanguíneos com conteúdo de aspeto leitoso. Alfred Doné, pioneiro no estudo microscópico das leucemias, detetou um bloqueio da maturação dos leucócitos em 1844 tendo sido o primeiro patologista a conseguir um estudo microscópico minucioso, descritivo e ilustrativo, das alterações sanguíneas observadas *post-mortem* nos doentes leucémicos. O termo *Leucocythemia* data de 1845 e foi apresentado por John Hughes Benett (Edinburgh), tratando-se do primeiro diagnóstico reconhecido de leucemia. Por toda a Europa outros médicos do Séc. XIX observavam valores anormalmente elevados de leucócitos nos seus doentes surgindo o conceito de *white blood*. Foi neste seguimento que, em 1847, se concretizou a introdução da palavra *Leukämie* no léxico médico - Rudolf Virchow criou assim o termo que vingou até aos dias atuais, derivado do grego *leukos* e *heima*, sangue branco.^(14, 15)

O primeiro caso conhecido de LPA reporta ao ano de 1957, quando o hematologista nórdico Leif Hillest a reconheceu como um subtipo distinto de Leucemia Mielóide Aguda.^(7, 16, 17) A acumulação de promielócitos displásicos e a evolução clínica rápida, em poucas semanas, decorrente de um quadro hemorrágico grave, surgiram desde cedo como pontos-chave na caracterização da LPA. Um retrato mais detalhado desta patologia foi registado em 1959 por J. Bernard quando reportou um conjunto de 20 doentes que apresentavam o quadro clínico característico com infiltração promielocítica, referindo eventos hemorrágicos graves e de evolução aguda

determinados por coagulação intravascular disseminada (CID) e/ou hiperfibrinólise.^(7, 17) Em 1977, Jane Rowley estabeleceu um marco importante na história da LPA, ao reconhecer a translocação cromossômica recíproca t(15;17) como a alteração cariotípica característica da doença.⁽¹⁸⁾

Desde o relato dos primeiros casos que a coagulopatia potencialmente fatal foi reconhecida como a apresentação clínica característica da LPA - realidade atenuada após a descoberta das potencialidades terapêuticas do ácido Trans-Retinóico quando aplicado precocemente nesta patologia hemato-oncológica.^(7, 17)

A LPA é provavelmente um dos melhores exemplos de uma doença em que o diálogo entre médicos e investigadores providenciou avanços significativos tanto na prática clínica como nas ciências básicas. A maioria dos doentes com LPA é hoje potencialmente curável sem recurso a transplantação de medula óssea, fruto de uma melhor compreensão da leucemogénese envolvida e a sua possível reversão.^(19, 20)

3 Caracterização e Classificação das Leucemias Mielóides

Datado de 1976, o Sistema Francês-Americano-Britânico (FAB) providenciou a primeira tabela de classificação das LMA, com base em parâmetros morfológicos e critérios citoquímicos dos blastos presentes na medula óssea. O esquema proposto pelo Sistema FAB requer a presença na medula óssea de pelo menos 30% de blastos e define cada caso baseando-se na maturação celular da série granulocítica.^(1, 21)

Na década de 1980, o estudo de modificações genéticas associadas a leucemias mielóides permitiu fornecer informação importante acerca do prognóstico a partir da definição de grupos de risco. Tais descobertas possibilitaram o desenvolvimento de um esquema de classificação alternativo, e de certa forma complementar, ao FAB que se rege pelas alterações citogenéticas em causa e pelo prognóstico associado (Tabela 1).⁽¹⁾

Tabela 1. Tabela de risco de acordo com a citogenética na LMA

Prognóstico Favorável	Prognóstico Intermédio	Prognóstico Adverso
t(8;21)	Normal	del(5q)
inv(16)/t(16;16)	+8	-5
t(15;17)	t(v;11q23)	-7
	del(7q)	Complex
	+21	abn (3q)
	+22	

[Adaptado de ⁽¹⁾]

Em 2001, com revisão em 2008, a Organização Mundial de Saúde (OMS) apresenta uma estratégia diferente para a classificação das Leucemias Mielóides considerando, além das características morfológicas e citoquímicas já utilizadas pela Classificação FAB, características imunofenotípicas e alterações citogenéticas, vinculando ainda aspetos clínicos. A proposta começa por categorizar as neoplasias mielóides em cinco grupos: Leucemias Mielóides Agudas (LMA), Síndromes Mielodisplásicas (SMD), Neoplasias Mieloproliferativas (NMP), Síndromes Mielodisplásicas/Neoplasias Mieloproliferativas (SMD/NMP) e, por último, Neoplasias

Mielóides com Eosinofilia e anomalia dos recetores do fator de crescimento PDGFRA, PDGFRB e FGFR1; apresentando subsequentemente os diversos subtipos.^(1, 4, 21)

Na prática clínica a percentagem de blastos constitui uma importante ferramenta para a caracterização, e posterior seguimento, de neoplasias mielóides. Neste contexto, segundo a OMS, a presença de pelo menos 20% de blastos mielóides no sangue periférico ou na medula óssea, assim como a sua proliferação em localização extramedular, permitem o diagnóstico de LMA. Contudo, e em alguns casos, na presença de anomalias genéticas específicas, o diagnóstico de LMA pode dispensar a contagem de blastos no sangue periférico e na medula óssea. Esta particularidade alerta para a existência de anomalias genéticas adicionais que podem coexistir e influenciar os comportamentos biológico e clínico inerentes, nomeadamente a resposta terapêutica e a sobrevivência estimada.⁽⁴⁾

A tabela 2 apresenta os sistemas de classificação das LMAs, de acordo com o Sistema FAB e segundo as edições de 2001 e de 2008 da OMS.

Tabela 2. Sistemas de classificação das LMAs, de acordo com o Sistema FAB e os modelos propostos pela OMS

FAB, 1985	OMS, 2001	OMS, 2008
M0: LMA pouco diferenciada	Genética	Com alterações citogenéticas recorrentes
M1: LMA sem maturação	t(8;21)	t(8;21)(q22;q22)
M2: LMA com maturação	inv(16)/t(16;16)	inv(16)/t(16;16)(p13.1;q22)
M3: LPA	t(15;17)	t(15;17)(q22;q12)
M3v: Variante microgranular	t(v;11q23)	t(9;11)(p22;q23)
M4: LMMA	LMA com displasia relacionada a terapêutica	t(6;9)(p23;q34)
M4eo: LMMA com eosinófilos anormais	Etoposide	inv(3)/t(3;3)(q21;q26.2)
M5A: Leucemia Monoblástica Aguda	Citotóxicos ou Radiação	t(1;22)(p13;q13)
	Não específica	Mutação NPM1 (provisório)
M5B: Leucemia Monocítica Aguda	LMA pouco diferenciada	Mutação CEBPA (provisório)
M6: Eritroleucemia	LMA sem maturação	Com alterações relacionadas com Mielodisplasia
M7: Leucemia Megacarioblástica Aguda	LMA com maturação	História anterior de SMD
	Leucemia Mielomonocítica	Displasia de múltiplas linhagens
	Leucemia Monoblástica	SMD associado a anomalias citogenéticas
	Leucemia Monocítica	Neoplasias Mielóides relacionadas com a Terapêutica
	Eritroleucemia	t-LMA/t-SMD (t-MN)
	Tipo Eritróide Mielóide	Sem outra especificação
	Eritróide Puro	LMA pouco diferenciada
	Megacarioblástica	LMA sem maturação
		LMA com maturação
		Leucemia Mielomonocítica
		Leucemia Monoblástica
		Leucemia Monocítica
		Eritroleucemia
		Tipo Eritróide Mielóide
		Eritróide Puro
		Leucemia Megacarioblástica Aguda
		Leucemia Basofílica Aguda
		Pan-mielose aguda com mielofibrose
		Sarcoma Mielóide
		Leucemia Mielóide associada a Síndrome de Down
		Neoplasia de célula dendrítica plasmocitóide blástica

LMMA: Leucemia Mielomonocítica Aguda. [Adaptado de ⁽¹⁾]

O Sistema FAB reconhece a LPA como tipo LMA-M3. Apresenta como alterações morfológicas características a infiltração medular por promielócitos displásicos com abundante granulação e por vezes bastonetes de Auer; e reação citoquímica fortemente positiva para mieloperoxidase. Mais recentemente foi introduzida a variante microgranular (LMA-M3v) que responde por cerca de 20% dos casos de LPA. Apresenta características moleculares idênticas ao tipo hipergranular (LMA-M3) pelo que ambas manifestam sensibilidade idêntica ao tratamento convencional, em contrapartida caracteriza-se mais frequentemente por leucocitose com habitual expressão de CD2.⁽⁷⁾ Relativamente à classificação proposta pela OMS, a LPA identifica-se como um subtipo de LMA com a alteração t(15;17)(q22;q21). Apesar de existirem outras alterações citogenéticas possíveis associadas à LPM, estima-se que a translocação t(15;17) seja responsável por cerca de 98% dos casos.^(8, 17, 22)

4 Leucemia Promielocítica Aguda

A LPA é uma entidade hemato-oncológica rara que responde por cerca de 10-15% de todos os casos de LMA.^(7, 8, 11, 23) A análise de dados americanos reunidos no período de 1992 a 2007 pelo *National Cancer Institute* (NCI) - inserida no Programa SEER (*Surveillance, Epidemiology and End Results*) - estimou uma incidência anual de LPA em 0,23 por cada 100.000 pessoas. De acordo com os resultados estatísticos obtidos, a LPA apresentou maior prevalência na idade adulta com uma idade média de diagnóstico aos 44 anos; não se tendo verificado variações significativas com o sexo, a raça ou a localização geográfica.⁽²⁴⁾

A LPA consiste numa patologia caracterizada fenotipicamente pela expansão clonal de células neoplásicas imaturas descritas morfologicamente como promielócitos.^(7, 8, 11, 23) Os promielócitos são células progenitoras mielóides presentes na medula óssea que integram a produção contínua das células circulantes da linhagem granulocítica presentes no sangue periférico. A acumulação de promielócitos anormais, característica dos doentes com LPA, sugeriu desde cedo que esta patologia pudesse ser consequência de um bloqueio da diferenciação mielóide.^(18, 20, 23, 25)

4.1 Bases Genéticas e Moleculares

A identificação e o estudo dos genes envolvidos nos rearranjos cromossômicos da LPA providenciaram não só uma melhor compreensão da hematopoiese como de que forma os moduladores epigenéticos e o comprometimento de importantes fatores de transcrição promovem a transformação leucémica.⁽²⁶⁾ Neste seguimento, a LPA detém o título de primeira patologia a dispor ao seu alcance uma terapêutica diferenciada e direcionada a um alvo molecular específico, assente em alterações genéticas.⁽¹²⁾

Em 1977, Jane Rowley identificou a translocação cromossômica recíproca t(15;17) tendo sido aclamada como o cunho cariotípico característico da doença. Anos mais tarde, em 1990, descobre-se que a translocação recíproca em causa envolve a fusão entre o locus do gene para o Recetor Alfa do Ácido Retinóico (*RARA*) localizado no braço longo do cromossoma 17 (17q21) e o gene denominado de *PML* presente no braço longo do cromossoma 15 (15q22) - resultando na formação de genes quiméricos e oncoproteínas de fusão. Desde então várias translocações, todas envolvendo o gene

RARA, foram reportadas em raros casos de LPA reforçando a hipótese de que o rearranjo cromossômico envolvendo o gene *RARA* constitui a base da patogênese da LPA.⁽¹⁸⁾ Uma única exceção foi descrita até à data, em 2011, na qual o caso de LPA reportado se prevê associado ao gene de fusão *NUP98/RAR γ* .⁽²⁵⁾

A fusão dos genes *RARA* e *PML*, resultante da translocação cromossômica recíproca t(15;17), responde aproximadamente por 98% dos casos de LPA. Nas restantes situações, em alternativa ao gene *PML*, o gene *RARA* encontrar-se-á combinado com um diferente gene. Os genes parceiros melhor investigados até à data incluem o *PLZF* (*Promyelocytic Leukaemia Zinc Finger*), o *NPM* (*Nucleophosmin*), o *NUMA* (*Nuclear Mitotic Apparatus*) e o *STAT5B* (*Signal Transducer and Activator of Transcription*) - levando à formação de oncoproteínas de fusão conhecidas genericamente como X-*RARA*.^(18, 23) Estudos recentes identificaram ainda em casos pontuais o emparelhamento do gene *RARA* com outros genes, nomeadamente o *PRKARIA*, o *FIPL1*, o *BCOR* e mais recentemente o gene *OBFC2A*.⁽²²⁾ Os principais genes passíveis de se fundirem com o gene *RARA* e respetiva translocação cromossômica encontram-se sumariados na Tabela 3.

Tabela 3. Translocações cromossômicas mais frequentemente associadas à LPA

Gene	Translocação	Frequência	Função	Retinóide sensível	Qt. sensível
<i>PML</i>	(15;17)(q22,q21)	> 95%	Transcrição	Sim	Sim
<i>PLZF</i>	(11;17)(q23,q21)	< 5%	Desenvolvimento e diferenciação celular	Não	Não
<i>NPM</i>	(5;17)(q35,q21)	< 1%	Ribonucleoproteína de maturação e transporte	Sim	Sim
<i>NUMA</i>	(11;17)(q13,q21)	< 1%	Papel estrutural na mitose, apoptose e interfase da matriz nuclear	Parcial	Parcial
<i>STAT5B</i>	(17;17)(q11,q21)	< 1%	Transdução de sinal, fator de transcrição	Não	?

Qt. - quimioterapia; ? - desconhecido. [Adaptado de ⁽²⁷⁾]

4.1.1 RARA e o Ácido Retinóico

Os Retinóides, derivados naturais ou sintéticos da vitamina A, são metabolitos ativos dietéticos necessários ao organismo, sendo essenciais ao desenvolvimento, proliferação e diferenciação celulares. O ácido 9-cis-retinóico e o ATRA, ambos produtos metabólicos da vitamina A, assumem um importante papel na diferenciação mielóide ao conseguirem a estimulação da granulopoiese. O seu interesse envolve a ativação de duas classes de recetores proteicos nucleares, os recetores do ácido retinóico (RARs) e os recetores X retinóides (RXRs). A ação dos retinóides depende destes recetores intracelulares que existem em formas distintas distribuídas segundo padrões característicos em cada tecido. A isoforma RARA é a mais relevante para a granulopoiese e, na presença de concentrações fisiológicas de ATRA, consegue dimerizar com os recetores X retinóides (RXRs), formando o complexo RARA/RXR capaz de ativar ou reprimir a ativação da transcrição dos genes alvo.^(12, 18)

O RARA consiste num fator de transcrição que permite a ligação a nível nuclear do ácido retinóico, sendo ativado tanto por doses fisiológicas de Ácido Trans-Retinóico (ATRA) como pelo 9-cis-Ácido Retinóico (9-cis-RA) - contrariamente aos RXRs, apenas ativados pelo 9-cis-RA. Esta dinâmica recetor-ligando reveste-se de notável importância no estudo da LPA ao se descobrir que o ATRA, quando em doses supra-fisiológicas, apresenta a particularidade de se comportar como um gatilho capaz de reinduzir a diferenciação dos promielócitos leucémicos.^(12, 25, 28)

A interação entre o RARA e o RXR possibilita o recrutamento de complexos correpressores (CoR) e/ou coativadores (CoA) a nível da cromatina, de forma a regular a transcrição diferencial de genes alvo. Na ausência de ligando, o RARA encontra-se emparelhado a CoR; contudo, na presença de concentrações fisiológicas de Ácido Retinóico (1×10^{-9} M), os complexos nucleares CoR veem impedida a sua ligação ao complexo RARA-RXR, favorecendo o recrutamento de complexos nucleares CoA e de enzimas com atividade histonas acetiltransferase (HAT). Este processo resulta na hiperacetilação das histonas presentes nos elementos sensíveis ao Ácido Retinóico (RARE), remodelação da cromatina e ativação da transcrição de genes.⁽¹²⁾

4.1.1.1 PML-RARA

A oncoproteína de fusão clássica da LPA resulta do rearranjo cromossômico que envolve os genes *RARA* e *PML* - ambos intervenientes na hematopoiese normal - fruto da translocação recíproca t(15;17)(q22;q21).^(12, 18, 26) Esta alteração genética leva à formação de dois genes híbridos: o *PML-RARA*, localizado no derivativo do cromossoma 15 [der(15)], e o *RARA-PML*, localizado no derivativo do cromossoma 17 [der(17)]. A transcrição da fusão *PML-RARA* pode ser detetada em todos os casos com a translocação t(15;17) enquanto o gene recíproco *RARA-PML* se encontra ausente em 10 a 20% dos doentes. Paralelamente, doentes em remissão completa a longo prazo podem expressar a transcrição do gene *RARA-PML* na ausência de transcrição do gene *PML-RARA* - achados que sugerem que o gene de fusão *PML-RARA* é que possui o principal papel na leucemogénese da LPA.⁽¹⁸⁾

Os mecanismos subjacentes à translocação t(15;17) continuam ainda não totalmente esclarecidos, defendendo-se sobretudo duas hipóteses etiológicas. O primeira hipótese defende que a LPA *de novo*, cujo mecanismo é ainda pouco conhecido, resulta do dano endógeno do DNA e de erros de recombinação. A segunda hipótese, e mais provável, propõe que a LPA resulte de manipulações terapêuticas - secundária à interação fármaco-DNA, erro exógeno do DNA, compromisso da via de reparação de DNA ou união terminal não homóloga de DNA.⁽¹²⁾

O gene *PML*, previamente denominado de *MYL*, atua na supressão de crescimento celular e na regulação da apoptose.⁽²⁶⁾ A proteína supressora-tumoral codificada pelo gene *PML* potencia a função do gene supressor tumoral *p53*, desempenhando um importante papel na acetilação do *p53* perante danos do DNA ou transformação oncogénica. A acetilação do *p53* ocorre na presença de corpos nucleares (*PML-NB*), do gene *PML* e do coativador histona acetiltransferase *CBP*; resultando por sua vez na ativação da transcrição.^(23, 29) Todo este processo fisiológico pode ser antagonizado pela existência patológica da fusão génica *PML-RARA* - uma vez que para que se concretize a acetilação do *p53* é requerida a existência de *PML-NB* corretamente funcionais. Consequentemente, o bloqueio funcional do *p53* na LPA pode explicar o facto de nesta patologia hemato-oncológica este gene supressor tumoral raramente se encontrar mutado.⁽²³⁾ A figura 1 pretende elucidar melhor este mecanismo.

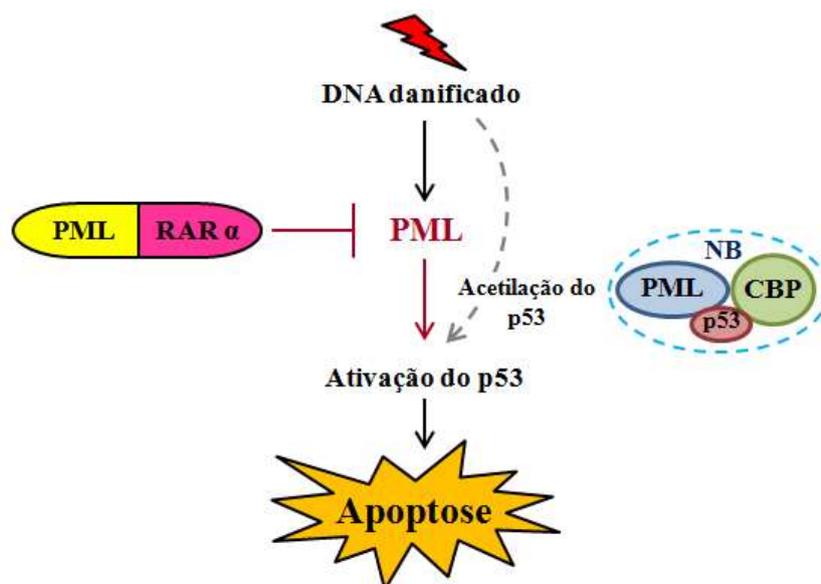


Figura 1. Papel do PML-RARA e do PML na via de ativação do gene supressor tumoral p53.

[Adaptado de ⁽²³⁾]

A proteína quimérica PML-RARA atua como uma mutação duplamente negativa que compromete simultaneamente o RARA e o PML - impedindo a ativação de genes envolvidos na diferenciação mielóide. Esta oncoproteína induz o sequestro de RXR e de cofatores de RARA resultando na inibição da função fisiológica do RARA.⁽¹⁶⁾ Paralelamente, a PML-RARA apresenta uma grande capacidade de ligação a um amplo espectro de enzimas epigenéticas como desacetilases de histonas (HDAC), DNA metiltransferases (DNMTs), histonas metiltransferases e proteínas ligadoras de domínio metil; motivando a condensação de cromatina com consequente repressão da transcrição. Verifica-se assim um recrutamento anormal de complexos CoR responsáveis pela dessensibilização da PML-RARA perante concentrações fisiológicas de ácido retinóico. O resultado final consiste no silenciamento dos genes alvo do RARA, caracterizado pelo bloqueio de diferenciação celular em estágio de promielócito.⁽²⁸⁾

No entanto, apesar do forte potencial cancerígeno desta proteína de fusão, diversos estudos em murganhos demonstraram que apesar da expressão de PML-RARA em promielócitos leucémicos apenas se verifica leucemogénese após uma fase pré-leucémica sem fenótipo evidente. Neste seguimento, os autores propõem que, apesar do

potencial leucemogénico da proteína de fusão PML-RARA, o desenvolvimento de leucemia requer a presença mútua desta oncoproteína com uma ou mais mutações genéticas adicionais - acreditando-se que apenas quando reunidas estas condições se consiga despoletar o processo de leucemogénese. Esta observação permitiu assim sugerir que esta oncoproteína é crítica mas não suficiente para o desenvolvimento de leucemia.^(23, 28)

A degradação da oncoproteína de fusão PML-RARA é induzida pelo ATRA, com atividade sob o RARA, e pelo Trióxido de Arsénio (ATO), que apresenta como alvo de atuação o PML. Desta forma, mecanismos de atuação diferentes culminam num efeito sinérgico que poderá desencadear um acréscimo da degradação da oncoproteína de fusão PML-RARA e consequente apoptose celular - pressupostos que poderão justificar os bons resultados obtidos na prática clínica.^(8, 13, 17, 25, 30, 31) Desta forma, os promielócitos leucémicos apresentam sensibilidade a ambos agentes terapêuticos - a maturação granulocítica é retomada (Figura 2) com posterior apoptose, concretizando-se a rápida resolução da coagulopatia na maioria dos casos, causa *major* de mortalidade precoce nos doentes com LPA.⁽³⁰⁾

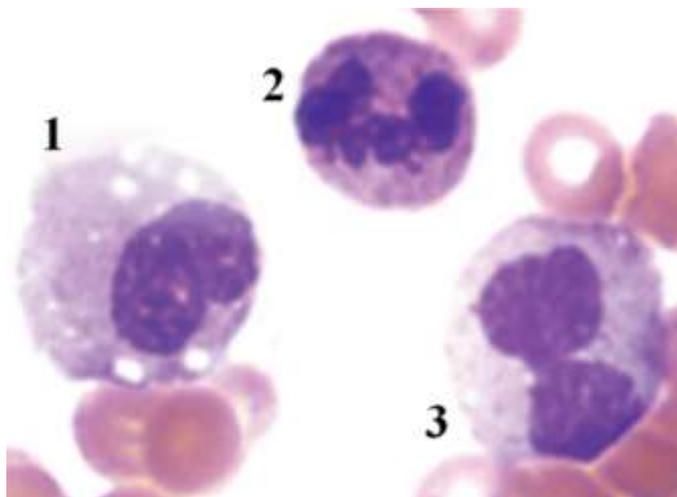


Figura 2. Morfologia dos promielócitos após o tratamento com ATRA.

Os promielócitos displásicos maturam para neutrófilos anormais (1 e 3) podendo ser identificados durante várias semanas após a conclusão do mesmo, não significando falência da terapêutica de diferenciação. O número 2 assinala um neutrófilo normal. [Adaptado de ⁽¹⁾]

Diversos mecanismos têm sido propostos para os efeitos do ATO nas células NB4 ou HL60 - células *in vitro* de linhagens promielocíticas leucémicas da LPA - e nos promielócitos leucémicos, *in vivo*. Em baixas concentrações (0,1-0,5 mmol) induz a diferenciação celular atuando sobre o *PML* da oncoproteína de fusão, desencadeando a disrupção desta proteína quimérica. Concentrações superiores de ATO (0,5-2 mmol) induzem a apoptose celular a partir da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e pela diminuição do conteúdo celular de glutatião. O ATO provoca diretamente danos no DNA e no RNA tendo propriedades anti-angiogénicas. Desta forma, o ATO consiste num potente agente terapêutico nos casos caracterizados geneticamente pela translocação entre os cromossomas 15 e 17.⁽³¹⁾

4.1.1.2 X-RARA

Em raros casos de LPA, o *RARA* pode sofrer fusão com genes alternativos ao *PML* - situações genericamente denominadas de X-*RARA*. Foram identificadas até à data várias translocações cromossómicas alternativas sendo quatro os genes melhor estudados, para além do *PML*: o gene *PLZF* no cromossoma 11q13, o gene *NPM* no cromossoma 5q35, o gene *NUMA* localizado ao cromossoma 11q13 e o gene *STAT5B* presente no cromossoma 17q11.⁽¹⁸⁾

A translocação cromossómica t(11;17)(q23;q21) é responsável por cerca de 0,8% dos casos reportados de LPA, correspondendo à segunda translocação mais frequente.⁽¹⁸⁾ Envolve os genes *RARA* e *PLZF* e apresenta carateristicamente um prognóstico desfavorável. A proteína de fusão resultante não é degradável pelo ATRA nem pelo ATO, pelo que a LPA associada a esta translocação é insensível a estes dois fármacos quando utilizados como agentes terapêuticos únicos.^(17, 18, 23, 25, 32, 33) Alguns estudos propõem uma abordagem terapêutica combinada com inibidores de histona desacetilase, nomeadamente com tricostatina (TSA) ou SAHA (do inglês, *Suberoyl Anilide Hydroxamic Acid*).⁽¹⁷⁾ A LPA associada ao gene *PLZF* apresenta algumas características que a permitem diferenciar da translocação clássica. Morfológicamente apresenta um núcleo oval mais regular muito sugestivo de uma LMA-M2; hipergranular, com projeções citoplasmáticas e corpos de Auer raros.^(27, 34) Imunofenotipicamente, apresenta expressão frequente de CD56.⁽³⁴⁾

Na LPA resultante da translocação t(5;17)(q35;q21), o gene *RARA* sofre translocação com a região cromossômica 5q35 onde se aloja o gene *NPM*.^(17, 18) O gene *NPM* codifica uma fosfoproteína nuclear que intervém no processamento do RNA ribossômico, apresenta atividade de *chaperone* e de nucleasse. O fenótipo da LPA associado com esta translocação é morfologicamente idêntico ao característico da LMA-M3.^(35, 36)

Na translocação t(11;17)(q13;q21) o gene *RARA* conjuga-se com o gene *NUMA*. A proteína NUMA parece ter um importante papel durante a mitose - intervém no núcleo interfásico, auxilia a função do fuso mitótico, atua na reorganização nuclear durante a telófase e ainda no processo apoptótico.⁽³⁵⁾

Encontra-se descrito ainda na literatura a translocação der(17) que resulta na fusão do gene *RARA* com o gene *STAT5B* localizado no braço longo do cromossoma 17, 17q21.⁽³⁶⁾ O gene *STAT5B* apresenta um importante papel na transdução de sinais e ativação da transcrição.^(36, 37)

Estudos recentes identificaram ainda em casos pontuais o emparelhamento do gene *RARA* com outros genes, sendo no entanto situações não tão bem esclarecidas. Incluem-se os genes *PRKARIA*, *FIPL1*, *BCOR* e mais recentemente o gene *OBFC2A*.⁽²²⁾

4.2 Clínica

A maioria dos sinais e sintomas gerais presentes na LPA coincidem com os observados noutros subtipos de LMA. O doente pode descrever fadiga, fraqueza e dispneia, decorrentes de anemia; contusões fáceis ou hemorragia, secundárias a trombocitopenia ou distúrbios da coagulação; febre e maior suscetibilidade a infeções, explicadas pela leucocitopenia. A maioria dos doentes apresenta pancitopenia - todavia a leucocitose encontra-se presente em cerca de 10-30% dos casos.⁽³⁸⁾

Não obstante estas semelhanças, a LPA apresenta uma característica clínica singular que a difere das restantes LMA. Desde os primeiros casos descritos de LPA que a coagulopatia potencialmente fatal constitui, desde a identificação da doença, uma das complicações mais temidas. A maioria dos doentes apresenta, ao diagnóstico, uma síndrome hemorrágica que, em casos graves, poderá envolver localizações inerentes a

um prognóstico sombrio, de que são exemplo o cérebro e os pulmões. Historicamente as anomalias hemostáticas presentes na LPA foram atribuídas a coagulação intravascular disseminada (CID) na qual a atividade pró-coagulante despoletada pela acumulação de promielócitos anómalos desempenharia o papel principal no quadro clínico característico de apresentação.^(7, 27, 39)

Apesar da intervenção terapêutica precoce com ATRA e ATO ter permitido enormes progressos no prognóstico da LPA, existem ainda muitos doentes, cerca de 5 a 10%, que não atingem a remissão da doença por morte precoce.^(9, 10, 20) Destes, a hemorragia responde por 5% dos casos de mortalidade precoce permanecendo a causa mais comum, seguindo-se a etiologia infecciosa (2,3%) e a síndrome de diferenciação associada ao ATRA (1,4%).^(8, 40)

4.2.1 Características e fisiopatogenia da coagulopatia

A patogénese da coagulopatia associada à LPA remanesce complexa, sendo ocasionada direta ou indiretamente pelas células leucémicas através da expressão de indutores da coagulação e de fibrinólise, e pelo aumento de proteases e citocinas; por outro lado, a produção comprometida de plaquetas secundária à infiltração da medula óssea, assim como o seu exacerbado consumo periférico, constituem fatores de agravamento do quadro clínico. Como resultado, a principal manifestação clínica assenta num quadro hemorrágico - no entanto eventos trombóticos podem ocorrer, quer na apresentação inicial desta patologia, como durante o seu tratamento.^(39, 41-43)

A coagulopatia presente na LPA é semelhante à decorrente da CID clássica pela combinação de dano endotelial e hipercoagulabilidade. Adicionalmente existe um terceiro mecanismo envolvido, o sistema fibrinolítico; resulta, por fim, na elevação tanto de marcadores de coagulação como de fibrinólise. Regista-se o consumo de plaquetas e fatores de coagulação, decorrentes da trombogénese; e hipoperfusão tecidual e hemorragia, secundários à coagulopatia de consumo.^(41, 44)

Os promielócitos leucémicos expressam dois procoagulantes, o fator tecidual e o procoagulante cancerígeno. O fator tecidual (FT) assume o papel de procoagulante *major* para a iniciação do processo de coagulação pela formação de um complexo com o fator VII, consequentemente ativado (complexo FT-FVIIa), e posterior ativação do fator

X. O procoagulante cancerígeno (PC) consiste numa cisteína-proteinase capaz de ativar o fator X sem a participação do fator VII. A ativação do FT é desencadeada pela exteriorização dos fosfolipídeos da membrana celular, mecanismo que poderá justificar o maior potencial trombogénico das células apoptóticas. Assim, o estado de hipercoagulabilidade é sobretudo notável perante a apoptose dos promielócitos leucémicos, nomeadamente aquando da proliferação leucémica ativa e durante o tratamento com ATRA, ATO e quimioterapia.^(44, 45)

Paralelamente à hipercoagulabilidade, a LPA apresenta hiperfibrinólise. Enquanto o estímulo da atividade fibrinolítica na CID surge como resposta à coagulação intravascular, na LPA existem fatores primários adicionais que contribuem para a hiperfibrinólise. Um dos fatores *major* reside na expressão anormal e elevada de anexina A2 (um recetor de superfície celular do plasminogénio e do tPA) e de uPA pelos promielócitos leucémicos. Simultaneamente regista-se uma expressão marcada de plasmina e do ativador do plasminogénio; acompanhada pela diminuição dos valores de A2-antiplasmina, do inibidor do ativador do plasminogénio (tipo 1) - que pode encontrar-se elevado caso o quadro tromboembólico predomine - e do inibidor de fibrinólise ativável pela trombina (TAFI). Notavelmente, a atividade do TAFI encontra-se inibida cerca de 60% em doentes com LPA.^(11, 39, 41, 44, 45) Recentemente foi descrita uma proteína de superfície celular, S100A, inibidora do recetor do plasminogénio, que se encontra sobreexpressa nos promielócitos leucémicos – esta proteína liga-se ao plasminogénio e ao tPA estimulando a ativação de plasmina.⁽⁴⁵⁾

Perante uma expressão marcada de anexina A2 nos promielócitos leucémicos, o aumento da atividade fibrinolítica é proporcional à proliferação leucémica; num doente com LPA, as complicações hemorrágicas não se correlacionam com os parâmetros hemostáticos mas sim com a contagem inaugural de leucócitos.⁽⁴¹⁾ Importa sublinhar ainda que a anexina A2 apresenta consistentemente maior expressão nas células endoteliais da microvasculatura cerebral, quando comparada com outras localizações anatómicas, facto que poderá explicar a maior incidência de hemorragia intracraniana na LPA.^(39, 41)

Com um papel menos reconhecido na coagulopatia da LPA, surgem as citocinas inflamatórias que detêm potencial procoagulante. A IL-1 tem sido isolada em células leucémicas de leucemias não-linfoblásticas agudas, incluindo a LPA. A IL-1 e o TNF- α

regulam a expressão de FT em monócitos e células endoteliais; paralelamente o TNF- α induz apoptose celular.⁽⁴⁵⁾

Proteases granulocíticas, nomeadamente a elastase, são produzidas abundantemente pelas células leucémicas da LPA. Atuam na clivagem do fibrinogénio e degradação de inibidores fibrinolíticos motivando a hiperfibrinólise. Contudo a sua contribuição para o quadro hemorrágico decorrente da LPA ainda não se encontra bem esclarecida, uma vez que apesar da melhoria da coagulopatia, após início do tratamento com ATRA, os níveis plasmáticos de elastase permanecem elevados.^(10, 11, 41)

Estudos recentes com recurso a citometria de fluxo de micropartículas (0.3 a 1.0 μ m) com o antigénio de linhagem mielóide CD33 positivo em doentes recém diagnosticados com LPA, revelaram a presença de elevados níveis de antigénios de FT, tPA, PAI-1 e anexina A2.⁽⁴⁵⁾ Uma vez que as micropartículas se encontram habitualmente associadas a tromboembolismo, poderão também ter um papel igualmente importante na patogénese da coagulopatia na LPA.⁽⁴⁶⁾

A coagulopatia que ocorre na LPA difere ainda da CID clássica pela relativa preservação dos níveis de Proteína C e Antitrombina III.⁽⁴¹⁾

O facto dos doentes com LPA poderem apresentar manifestações clínicas decorrentes tanto de quadros hemorrágicos como trombóticos, enfatiza a complexidade dos mecanismos subjacentes à coagulopatia.⁽⁴¹⁾

A figura 3 pretende esquematizar a patogénese da coagulopatia da LPA.

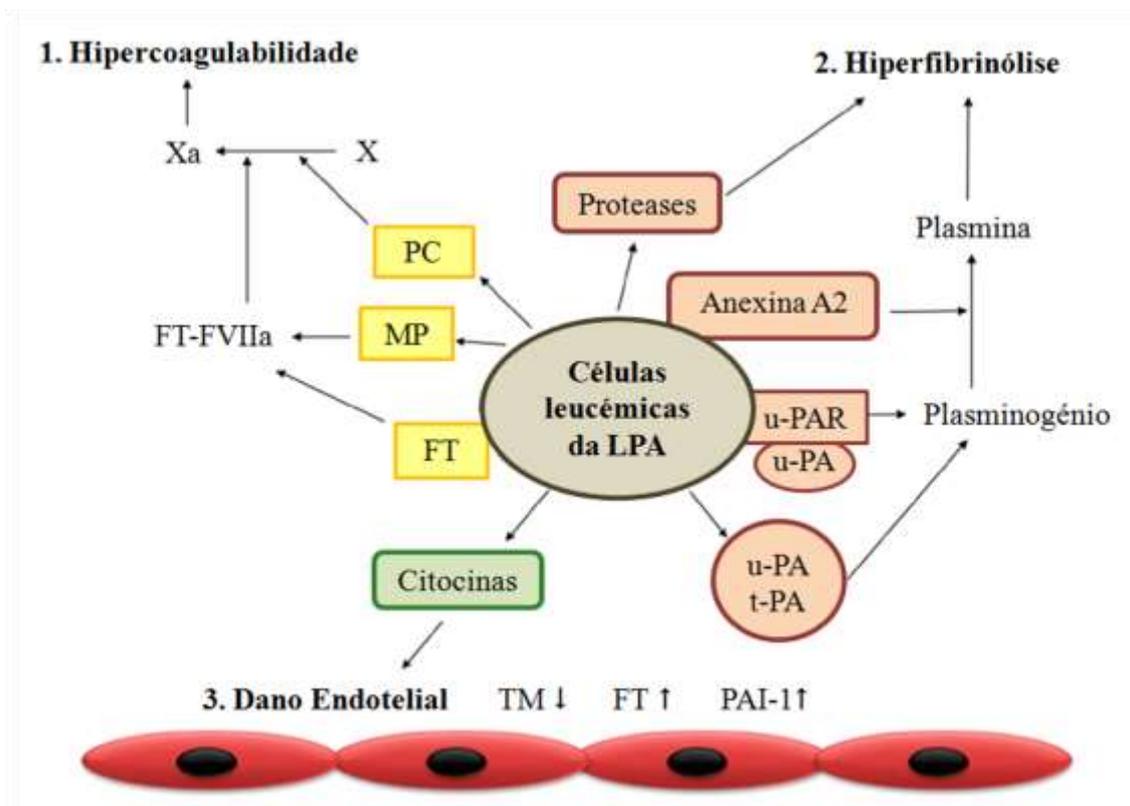


Figura 3. Patogênese da coagulopatia associada a LPA.

1. Hipercoagulabilidade: células leucêmicas da LPA expressam fator tecidual (FT), Procoagulante Cancerígeno (PC) e libertam micropartículas (MP) que ativam a cascata da coagulação. 2. Hiperfibrinólise: níveis elevados de t-PA e u-PA (que se liga ao seu recetor, u-PAR) ativam o plasminogénio; a expressão anormal de anexina A2 na superfície celular medeia a conversão de plasminogénio em plasmina; proteases produzidas nas células leucémicas quebram o fibrinogénio e degradam inibidores fibrinolíticos. 3. Dano endotelial: citocinas inflamatórias, IL-1 e TNF-A, lesam o endotélio levando a uma diminuição da trombomodulina (TM) e elevação dos níveis de FT e inibidor do ativador do plasminogénio do tipo 1 (PAI-1) na superfície celular endotelial. [Adaptado de ⁽¹¹⁾]

4.2.2 Hemorragia

Apesar do aumento da sobrevivência e da diminuição da toxicidade dos esquemas terapêuticos ao longo dos últimos anos, a mortalidade precoce que se regista durante os primeiros 30 dias após apresentação clínica ou diagnóstico, surge como uma causa *major* para a falência terapêutica, motivada na maioria dos casos por hemorragia e, menos frequentemente, infeção ou síndrome de diferenciação.^(9, 20, 47) A mortalidade

precoce reportada em 5 a 10% dos casos em estudos multicêntricos alargados, representa uma importante barreira para a cura da LPA.^(9, 10, 20) Doentes que sobrevivem aos primeiros 30 dias de doença, período no qual a coagulopatia e a síndrome de diferenciação são responsáveis por importante morbidade e mortalidade, apresentam uma elevada e extraordinária possibilidade de cura quando devidamente tratados.⁽²⁰⁾

A maioria dos doentes com LPA apresenta um quadro hemorrágico de localização intracraniana, intra-alveolar (pulmonar) e, menos frequente, gastrointestinal ou equimoses generalizadas.^(8, 20, 44, 45) Cerca de 65 a 80% das complicações hemorrágicas presentes são intracranianas (Figura 4), na maioria dos casos intraparenquimatosas, encontrando-se associadas a um prognóstico reservado pelo seu desfecho habitualmente fatal. Previamente à introdução da terapêutica de diferenciação, a hemorragia era responsável por cerca de 14% da mortalidade na LPA; atualmente, e apesar da descoberta das possibilidades terapêuticas do ATRA, o quadro hemorrágico ainda representa 7% das mortes.^(8, 44, 45)

Existem vários fatores de risco para o desenvolvimento de complicações hemorrágicas na LPA nomeadamente a contagem de leucócitos superior a $10 \times 10^9/L$, o número de blastos no sangue periférico maior que $30 \times 10^9/L$, a idade superior a 60 anos, os níveis anormais de creatinina decorrentes de função renal comprometida e a hipofibrinogénia ($<100\text{mg/dL}$) - este último refletindo um aumento da fibrinólise. A trombocitopenia grave é também considerada um fator de risco hemorrágico - contudo a contagem de plaquetas parece não se correlacionar intimamente com a incidência de hemorragia.^(8, 44, 45)

A medida interventiva mais importante, na redução da mortalidade por quadro hemorrágico na LPA, assenta na instituição precoce da terapêutica com ATRA em paralelo com o tratamento de suporte intensivo à primeira suspeita da doença, mesmo na ausência de confirmação diagnóstica por estudo citogenético ou molecular.^(10, 20, 41, 43, 48) Apesar do quadro hemorrágico resolver habitualmente em 5 a 7 dias, as alterações dos parâmetros de coagulação e perfil fibrinolítico apenas tendem a normalizar após 14 dias de tratamento.⁽⁴⁵⁾

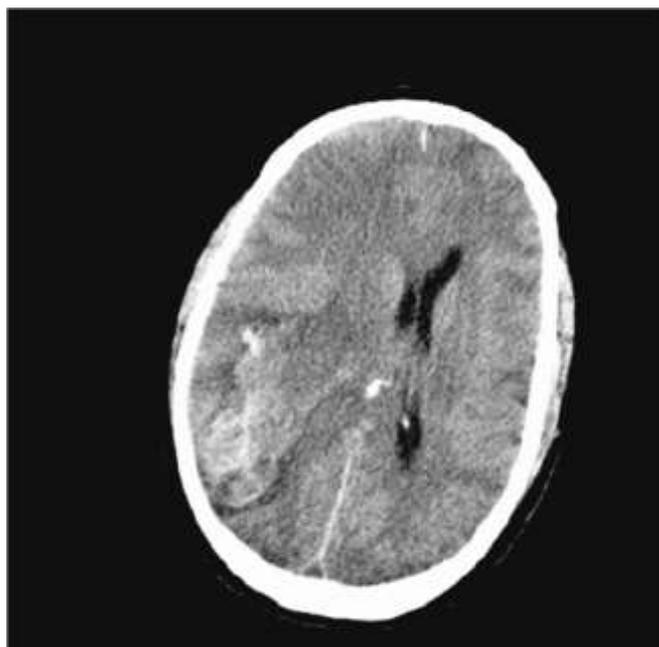


Figura 4. Corte axial de tomografia computadorizada crânioencefálica sem contraste, num doente com LPA.

Na figura observa-se hemorragia temporoparietal direita do parênquima cerebral rodeada por edema, apresentando efeito de massa com desvio esquerdo de 10 mm da linha média. Doente de 45 anos recorre ao serviço de urgência por cefaleias e visão turva; hemograma com 53.000/mL de leucócitos, 5,9g/dL de hemoglobina e contagem de plaquetas de 21000/mL. Imagem obtida 12 horas após admissão no serviço de urgência, antes de iniciar terapêutica com ATRA. [Adaptado de ⁽⁴¹⁾]

4.2.3 Trombose

Cerca de 10% dos doentes apresenta um quadro clínico trombótico. Enquanto a diátese hemorrágica surge mais comumente como quadro clínico de apresentação da LPA, os eventos trombóticos são ocasionalmente identificados e ocorrem sobretudo na fase pós-ATRA.^(39, 45) As complicações trombóticas incluem eventos arteriais e venosos, nomeadamente trombose venosa profunda, oclusão das veias porta e hepática, e enfarte agudo do miocárdio. A trombose microvascular, importante característica da CID, que se apresenta clinicamente por necrose cutânea e falência multiorgânica, é raramente descrita na LPA. A incidência de eventos trombóticos na LPA é superior ao registado noutros subtipos de leucemias mielóides e linfóides, contudo a informação disponível é reduzida, pelo que a mortalidade associada a esta complicação é ainda uma incógnita.⁽³⁹⁾

Foram identificados até à data algumas características imunofenotípicas e moleculares mais prevalentes em doentes com LPA que desenvolveram quadro trombótico, incluindo a expressão de CD3, CD5, FLT3-ITD e o tipo de *breakpoint* (BCR3).^(39, 44) Adicionalmente, a variante microgranular da LPA tem sido associada à trombose da veia porta.⁽⁴⁴⁾

A figura 5 pretende esquematizar as alterações hemostáticas presentes na LPA correlacionando-as com a apresentação clínica.

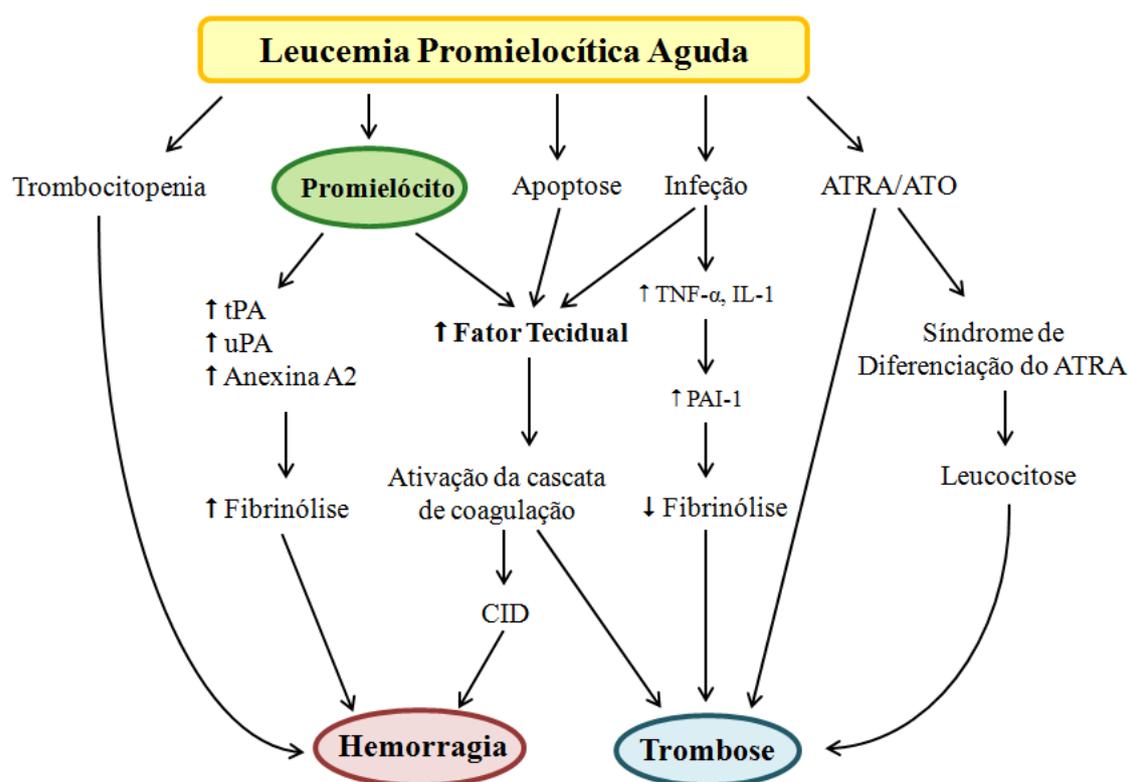


Figura 5. Alterações hemostáticas na LPA e sua relação com a apresentação clínica.

[Adaptado de ⁽⁴⁴⁾].

4.3 Diagnóstico

A LPA apresenta-se como uma patologia hemato-oncológica agressiva e potencialmente fatal na ausência de tratamento adequado, sendo considerada uma emergência médica. A suspeita clínica e o diagnóstico precoce constituem pontos críticos para o início atempado da terapêutica, imprescindível para uma redução da mortalidade associada.⁽³²⁾ Por este motivo, nunca é demais sublinhar que a hipótese diagnóstica de LPA deve ser sempre equacionada na presença de alterações morfológicas ou imunológicas compatíveis ou na existência de coagulopatia grave - em todos estes casos, a terapêutica deve ser iniciada imediatamente e continuada até que o diagnóstico se confirme, ou exclua, a nível citogenético ou molecular.⁽⁴⁹⁾

Numa primeira instância, e na ausência de um quadro de apresentação típico, a anamnese e o exame objetivo podem evidenciar sinais e sintomas de leucemia mielóide aguda decorrentes habitualmente de pancitopenia - iniciando-se assim a suspeição clínica. Os doentes poderão apresentar febre; palidez, equimoses ou petéquias; adeno, hepato e/ou esplenomegália. A existência de coagulopatia grave inaugural verifica-se na maioria dos doentes com LPA.

A avaliação laboratorial inicial deve incluir hemograma e esfregaço de sangue periférico; avaliação de parâmetros bioquímicos - ionograma, azoto ureico, creatinina, bilirrubina total, transaminases, ácido úrico, desidrogenase do lactato e provas de coagulação, nomeadamente o tempo de protrombina (TP), o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e o doseamento de fibrinogénio.⁽¹⁾ Deverá também proceder-se ao estudo de aspirado de medula óssea; a biópsia óssea é apenas considerada caso não se consiga obter o aspirado medular com qualidade e não se encontrem presentes no sangue periférico células anormais que permitam o diagnóstico morfológico e molecular.⁽⁴⁹⁾

Uma temática discutida por alguns autores nos últimos anos, prende-se em avaliar a necessidade de biópsia da medula óssea para diagnóstico perante a suspeita de LPA. A morfologia dos promielócitos leucémicos, se presentes no sangue periférico, é habitualmente distinta com presença de células de Faggot; e a presença da translocação t(15;17) na análise citogenética ou estudo molecular, confirma o diagnóstico. Frequentemente o esfregaço de sangue periférico dos doentes com LPA revela promielócitos leucémicos característicos e, estando presentes, a citogenética é

habitualmente indubitável. Para além disso, alterações citogenéticas adicionais encontram-se presentes em cerca de um terço dos doentes com LPA sem que se estejam, até à data, associadas ao prognóstico da doença - não sendo inclusive consideradas aquando da estratificação de risco. De facto, o prognóstico baseia-se apenas na contagem periférica de leucócitos e na idade, sendo a estratégia terapêutica delineada de acordo com o grupo de risco no qual o doente se insere e na sua capacidade em tolerar antraciclinas.⁽²⁰⁾

Além do referido, as alterações laboratoriais presentes nos doentes com LPA compreendem trombocitopenia, prolongamento do TP e do TTPa; D-dímeros elevados e níveis diminuídos de fibrinogénio (Tabela 4). As Proteínas C e S assim como os níveis de antitrombina habitualmente não se encontram alterados na LPA - contrastando com o que se verifica na CID associada a septicémia ou a outras neoplasias malignas. As alterações presentes nestes parâmetros laboratoriais não se encontram diretamente correlacionados com o grau de hemorragia presente.^(39, 41)

Tabela 4. Comparação de alterações esperadas nos parâmetros de coagulação entre CID, hiperfibrinólise e LPA

Marcador	CID	Hiperfibrinólise	LPA
TP	↑ (↔ infrequente)	↑ ou ↔	↑↑(↔ infrequente)
TTPa	↑ (↔ infrequente)	↑ ou ↔	↑↑(↔ infrequente)
Fibrinogénio	↓↓	↓↓↓	↓ (↓↓ se hiperfibrinólise)
PDF	↑	↑↑	↑↑
D-dímeros	↑	↑↑	↑↑
Proteína C	↓	↔	↔
Proteína S	↓	↔	↔
Antitrombina	↓	↔	↔
Plaquetas	↓↓	↓	↓

↑ - elevado; ↑↑ - elevação marcada; ↔ - sem alterações; ↓ - diminuído; ↓↓ - diminuição marcada; PDF - produtos de degradação do fibrinogénio. [Adaptado de ⁽³⁹⁾]

As *guidelines* atuais recomendam que o diagnóstico definitivo de LPA seja estabelecido por estudo morfológico de aspirado medular com confirmação citogenética ou molecular para identificação da translocação característica entre os cromossomas 15 e 17.⁽²⁰⁾

4.3.1 Morfologia e Imunofenótipo

A leucemia aguda é definida pela presença de mais de 20% de blastos no sangue ou na medula óssea aquando da apresentação clínica. Pode no entanto ser diagnosticada com percentagem blástica inferior se na presença de anomalias genético-moleculares específicas, do qual é exemplo a LPA com t(15;17)(q22;q12).⁽³⁾

A linhagem de blastos é definida pela morfologia visualizada ao microscópio e pela imunofenotipagem (citometria de fluxo) - desta forma, a origem celular mielóide ou linfóide será desvendada, assim como o estadio de diferenciação celular. O imunofenótipo mielóide típico é CD13⁺, CD33⁺, CD117⁺ e TdT⁻.⁽³⁾

Apesar de ser consensual a importância e necessidade de confirmação genética para o diagnóstico de LPA, tanto as medidas de suporte como a terapêutica de diferenciação devem ser iniciadas mesmo antes do resultado confirmatório dos testes genéticos ou moleculares disponíveis. Na maioria dos casos, as características citomorfológicas e imunofenotípicas da população leucémica permitem, em poucas horas, a correta identificação dos casos sugestivos de LPA, não sendo no entanto técnicas ideais para designação da LPA enquanto diagnóstico definitivo. A confirmação posterior por estudo citogenético ou molecular, quer por FISH (*Fluorescence in situ hybridization*) ou RT-PCR (*Reverse transcriptase polymerase chain reaction*), é impreterível para a validação da LPA enquanto diagnóstico definitivo.^(49, 50) Importa sublinhar que, apesar de raros, existem casos descritos de LPA com rearranjos crípticos de *PML-RARA* que condicionam um diagnóstico difícil. A incidência de rearranjos crípticos, associados a um resultado negativo tanto por FISH como por outras técnicas de citogenética, é marcadamente baixa com menos de 20 casos reportados até 2014.⁽⁵¹⁾

O estudo citomorfológico requer a utilização de corantes derivados de Romanowsky, de que são exemplo os corantes Wright, Wright-Giemsa ou May Grünwald-Giemsa.⁽⁴⁹⁾ Na sua forma clássica, a medula óssea apresenta-se hiperclular

(Figura 6.C) e infiltrada por promielócitos - que constituem a população maioritária - com proeminente granulação citoplasmática (Figura 6.A), núcleo dismórfico de forma e dimensão heterogêneas, desde bilobado a reniforme, e numerosos bastonetes de Auer (Figura 6.D). Os bastonetes de Auer dispõem-se no citoplasma, formando feixes, adotando os promielócitos leucémicos a designação de células de Faggot. Graças ao elevado teor de grânulos citoplasmáticos, o núcleo apresenta tonalidade escurecida e um limite por vezes mal definido.^(7, 27) Na variante microgranular (LMA-M3v) o núcleo é igualmente irregular, os grânulos citoplasmáticos são menos exuberantes (Figura 6.B) e as células podem adotar um aspeto “desfocado”. Outras formas hipergranulares típicas podem encontrar-se presentes na medula óssea. As variantes basofílica e a associada à fusão PLZF-RARA são menos comuns.⁽²⁷⁾ As características dos subtipos morfológicos mais comuns encontram-se sumariadas na tabela 6.

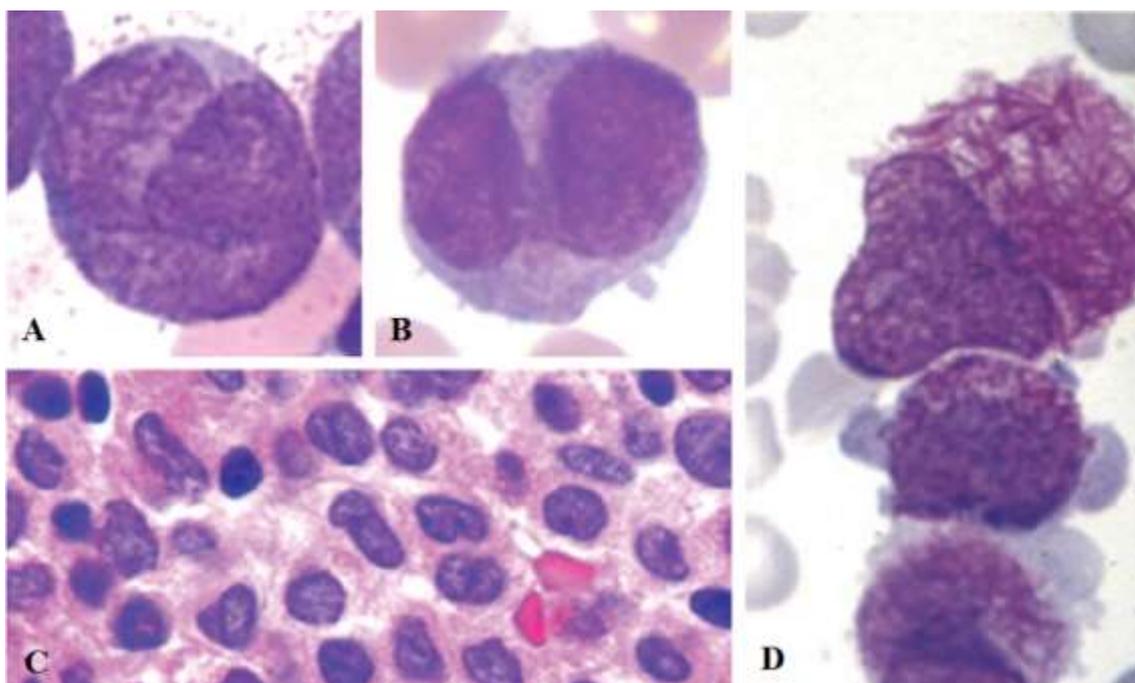


Figura 6. Alterações morfológicas visualizadas por microscopia ótica presentes na LPA.

Promielócito hipergranular (A) e hipogranular (B). Imagem obtida por biópsia de medula óssea, apresenta tipicamente hiper celularidade com citoplasma rico em grânulos (C). Blastos de LPA com múltiplos bastões de Auer. [A, B e C adaptados de ⁽¹⁾; D adaptado de ⁽³⁾]

Tabela 5. Subtipos morfológicos de LPA e respectivas características morfológicas

Subtipo	Núcleo	Citoplasma	Corpos de Auer
Hipergranular (M3)	Dismórfico, bordo mal definido.	Granulação azulofílica proeminente.	Frequentes
Microgranular (M3v)	Dismórfico	Grânulos finos e escuros	Raros
Hiperbasofílico	Relação núcleo/citoplasma aumentada	Fortemente basofílico, poucos grânulos	Ausentes
PLZF/RARA (M3r)	Regular, cromatina condensada	Menos grânulos que em M3	Raros

[Adaptado de ⁽²⁷⁾]

A análise citoquímica dos promielócitos leucêmicos revela que estes apresentam intensa positividade pela mieloperoxidase e sudão negro.^(3, 49)

Adicionalmente ao estudo morfológico e citoquímico, a imunofenotipagem apresenta igualmente um papel importante no diagnóstico de LPA. Uma vez que os promielócitos são células parcialmente diferenciadas, expressam, por isso, o marcador mielóide CD33; no entanto, apresentam habitualmente negatividade tanto para HLA-DR - presente em células mais precoces na linhagem mielóide - como CD34, um marcador positivo em células estaminais. Apesar deste perfil imunofenotípico ser característico de LPA e reforçar a sua suspeita diagnóstica - auxiliando a indicação terapêutica precoce - não é patognomônico, pelo que a citometria de fluxo não é um método adequado para diagnóstico definitivo.^(27, 52, 53)

A ausência de expressão dos marcadores CD11b e CD11c apresenta elevada sensibilidade para a LPA⁽⁵²⁾; no entanto, apesar de não se apresentar aquando do diagnóstico, a expressão de CD11b - um indicador de maturação mielóide simultaneamente com CD16 - pode ser induzida com a terapêutica de diferenciação. O marcador de linhagem mielóide CD13 é ocasionalmente observado, estando possivelmente associado ao desenvolvimento de síndrome de diferenciação. A expressão de CD56, habitualmente presente nas células NK, tem sido associado a um

pior prognóstico.^(27, 53) A expressão aberrante de CD2, antigénio de superfície de células T, encontra-se presente na variante microgranular (M3v); o marcador CD34 pode ser também positivo neste grupo.^(27, 49)

Em 2011, um estudo norte-americano procurou selecionar um painel altamente específico de marcadores para citometria de fluxo, com o intuito de permitir uma rápida identificação de casos de LPA, independentemente das anomalias citogenéticas subjacentes. Neste seguimento, concluiu-se que a presença de CD11b⁻ na população mielóide, especialmente entre as células da linhagem granulocítica, com a ausência simultânea de CD11c e HLA-DR em toda a população mieloide, apresentam elevada sensibilidade e especificidade diagnósticas. Resultados promissores independentemente do estadió de diferenciação celular, das variações morfológicas ou da complexidade cariotípica presente. Com base nesta seleção de marcadores teria sido inclusive possível reconhecer um caso de translocação críptica não identificável por FISH.⁽⁵²⁾ Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela 6.

Tabela 6. Marcadores imunofenotípicos avaliados por citometria de fluxo para diagnóstico diferencial de LPA e LMA

Marcadores	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
CD11b ⁻	100	86.9	90.4	100
CD11c ⁻	100	88.8	91.7	100
CD11b ⁻ / CD11c ⁻	100	98.1	98.5	100
HLA-DR ⁻ / CD11b ⁻ / CD11c ⁻	96.2	95.3	96.2	95.3
HLA-DR ⁻ / CD11b ⁻	96.2	90.6	92.0	95.1
HLA-DR ⁻	96.2	52.3	71.3	91.8
CD34 ⁻	73.5	45.8	62.6	58.3
CD117 ⁺	94.0	6.5	55.4	46.7
CD34 ⁻ /HLA-DR ⁻	73.5	60.7	69.8	65.0
CD34 ⁻ / CD117 ⁺ /HLA-DR ⁻	73.5	61.7	70.3	65.3

Foram avaliados 132 casos de LPA e 107 casos de LMA não-LPA. Os valores apresentados encontram-se em percentagem, %. [Adaptado de ⁽⁵²⁾]

4.3.2 Citogenética e Biologia Molecular

A confirmação genética do diagnóstico é imprescindível e deve ser concretizada, se possível, em células leucémicas obtidas a partir da medula óssea.⁽⁴⁹⁾ O diagnóstico definitivo de LPA é definido na maioria dos casos por estudo citogenético, caracterizando-se em mais de 95% dos casos pela translocação equilibrada entre os cromossomas 15 e 17.⁽²⁷⁾ A confirmação diagnóstica é obrigatória em todos os casos e deve ser conseguida por técnicas capazes de detetar a alteração genética específica da LPA, nomeadamente a translocação t(15;17) ou o gene híbrido *PML-RARA*, uma vez que a eficácia do tratamento de diferenciação - com retinóides e/ou derivados arsénicos - depende da presença deste gene de fusão nas células leucémicas. Desta forma, o diagnóstico definitivo é concretizável a partir do estudo cromossómico, da análise de DNA, de RNA ou de proteínas com recurso a técnicas como o cariótipo convencional, FISH, RT-PCR ou anticorpos monoclonais anti-PML, respetivamente.⁽⁴⁹⁾

4.3.2.1 Cariótipo convencional

O cariótipo com bandas G em metáfase, obtido a partir de amostras de medula óssea, utiliza métodos convencionais com cultura celular de 24 a 48 horas. Apesar de apresentar elevada especificidade, a análise citogenética apresenta algumas desvantagens. É uma técnica demorada que importa elevados custos, necessita de metáfases com boa qualidade de forma a permitir a visualização a translocação, e, por definição, falha na deteção de casos em que a fusão *PML-RARA* resulta de rearranjos crípticos (falsos negativos).^(27, 49) É certo que o estudo cariotípico tem a vantagem de permitir o diagnóstico de alterações citogenéticas adicionais - apesar da translocação t(15;17) ser a anomalia citogenética característica da LPA, outras alterações cromossómicas podem encontrar-se simultaneamente presentes em cerca de 30 a 40% dos casos de LPA nomeadamente trissomia 8 e isocromossoma 17.⁽²⁷⁾ Contudo estas alterações cromossómicas secundárias parecem não apresentar impacto significativo no prognóstico da doença.^(27, 49)

O estudo do cariótipo é também potencialmente útil na caracterização de casos sem a fusão *PML-RARA*, o que pode facilitar a identificação dos subtipos moleculares raros da LPA, nomeadamente aqueles com as translocações t(11;17)(q23;q21), t(11;17)(q13;q21) e t(5;17)(q35;q21), direcionando-nos respetivamente para os genes de

fusão *PLZF-RARA*, *NUMA-RARA* e *NPM1-RARA* - assim como para as restantes translocações alternativas identificadas até à data.⁽⁴⁹⁾

4.3.2.2 Hibridização *in situ* de fluorescência

A identificação da fusão *PML-RARA* a partir da técnica de FISH pode ser realizada por sondas específicas marcadas com fluorocromos comercialmente disponíveis (Figura 7). Apesar de simples amostras de sangue periférico serem adequadas para o estudo, sobretudo quando se encontra presente hiperleucocitose aquando do diagnóstico, a técnica de FISH é preferencialmente realizada em amostras de medula óssea.

Consiste numa técnica altamente específica e sensível, menos demorada e com menores custos económicos que a cariotipagem. Embora seja um técnica importante para a caracterização de translocações variantes, útil na investigação de rearranjos alternativos do *RARA* e identificação do seu parceiro de fusão, poderá não ser a mais adequada para o estudo da maioria dos doentes com o rearranjo *PML-RARA* - devido à ocorrência de inserções que podem passar despercebidas quando utilizadas bandas muito extensas. O tamanho do segmento cromossómico que sofre rearranjo - der(15) e, não tão relevante, der(17) - é geralmente muito reduzido para ser detetado por FISH; por este motivo, em alguns casos, é apropriado utilizar sondas de cosmídeos específicas para a fusão *PML-RARA* que se apresentem suficientemente pequenas, uma vez que o rearranjo poderá não ser detetado se tiver origem numa inserção minúscula. A caracterização de fusões crípticas de *PML-RARA* pode ser conseguida com sondas locus-específicas que circunscrevam todo o rearranjo cromossómico.^(49, 54)

A técnica de FISH, apesar de apresentar uma menor sensibilidade que a RT-PCR, é, por outro lado, altamente específica.^(27, 54)

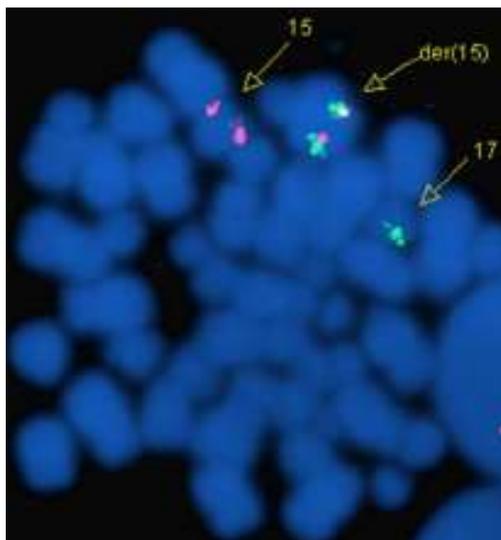


Figura 7. Resultado da transcrição da fusão entre o *PML* e o *RARA* na translocação t(15:17) detetada por FISH.

A técnica foi concretizada com sondas transcrição de *PML-RARA* de dupla cor e dupla fusão. [Adaptado de ⁽¹⁷⁾]

4.3.2.3 Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa

A realização de RT-PCR para identificação do gene de fusão *PML-RARA* deve ser preferencialmente efetuada em RNA extraído de amostras de medula óssea - apesar da transcrição da fusão ser habitualmente detetável em sangue periférico, mesmo na presença de leucopenia.

A RT-PCR providencia a abordagem *gold standart* na confirmação do diagnóstico de LPA. Adicionalmente à sua elevada especificidade e sensibilidade, é essencial na localização do *breakpoint* e indispensável na monitorização da doença residual mínima. No entanto, a pequena quantidade de RNA (falsos negativos) e a presença de contaminação e/ou artefactos (falsos positivos) são as principais desvantagens desta metodologia. Para além disso, é aconselhável que as amostras de diagnóstico e monitorização sejam analisadas em laboratórios de referência por técnicos bem treinados, com experiência considerável em RT-PCR para pesquisa da fusão *PML-RARA*.⁽⁴⁹⁾

4.3.2.4 Imunohistoquímica com anticorpos monoclonais anti-PML

A imunohistoquímica com anticorpos monoclonais anti-PML em amostras de medula óssea ou sangue periférico - nos casos que apresentem promielócitos circulantes - revela-se útil para a concretização de um diagnóstico rápido de LPA. O anticorpo PML liga-se à proteína PML que se situa em estruturas denominadas por *nuclear bodies* (PML-NB), sendo capaz de se combinar tanto com a proteína do gene de fusão PML-RARA, com elevada especificidade, assim como com a proteína PML normal. Nos doentes portadores do rearranjo génico, a PML encontra-se redistribuída e observa-se, à microscopia, um padrão de coloração microparticulado (>30 pontos nucleares) no núcleo das células leucémicas (Figura 8). O teste será igualmente positivo em casos raros cujo *breakpoint* de localização atípica ocorram dentro do locus do PML - situação que poderia passar potencialmente despercebida pelos *primers* utilizados na PCR.

Em células saudáveis e em blastos de outros subtipos de leucemias, incluindo variantes moleculares de LPA como PLZF-RARA e NPM1-RARA, um padrão de coloração íntegro (*wild-type* PML) é observado com pontos nucleares discretos (tipicamente, <20 por núcleo) que se relacionam com os organelos subnucleares conhecidos por PML-NB (Figura 7).

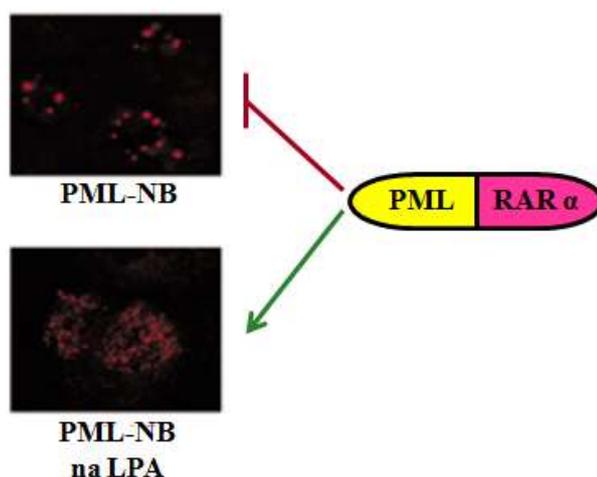


Figura 8. Comparação entre o padrão de coloração em doentes saudáveis com PML-NB íntegros e o obtido em doentes com a oncoproteína de fusão PML-RARA, por imunohistoquímica com anticorpos monoclonais anti-PML.

O padrão de coloração microparticulado encontra-se associado ao gene de fusão *PML-RARA* presente na LPA clássica. [Adaptado de ⁽²³⁾]

Tanto a imunofluorescência indireta como a imunohistoquímica podem ser utilizados. Os resultados do ensaio de imunofluorescência podem ser obtidos em apenas 2 horas. À luz da sua relação custo-benefício muito atrativa, o ensaio é altamente recomendado para a confirmação rápida do diagnóstico de LPA e identificação eficaz dos doentes com a fusão *PML-RARA*, prevendo-se assim os casos favoráveis à terapêutica de diferenciação com ATRA ou ATO.

Este método é particularmente interessante em pequenos centros que não têm acesso a um laboratório de diagnóstico molecular, assim como nos casos em que o RNA não está disponível para confirmar um diagnóstico.⁽⁴⁹⁾

Todas as opções acima mencionadas são específicas mas não igualmente fiáveis enquanto métodos de confirmação diagnóstica da LPA. A citogenética é o método menos eficiente; em termos de rapidez, sensibilidade e especificidade, as técnicas de FISH e imunohistoquímica com anticorpos mononucleares anti-PML são altamente eficientes na confirmação do diagnóstico de LPA. No entanto, estas técnicas não devem substituir a RT-PCR que permite a identificação do tipo de *breakpoint* de *PML-RARA* e a posterior monitorização da doença residual mínima.⁽⁴⁹⁾

No que concerne à identificação de alterações crípticas têm sido propostas técnicas moleculares adicionais, incluindo sequenciação genómica, *microarrays* de DNA e hibridização genómica comparativa baseada em *microarrays*. Apesar da sequenciação genómica permitir a deteção de múltiplas aberrações crípticas possíveis, apresenta um elevado custo e atualmente não pode ser concluído em tempo clínico útil. A técnica baseada em *microarrays* de DNA pode permitir prontamente a obtenção de resultados, contudo a sua interpretação pode ser complexa e requer um método adicional, habitualmente PCR ou sequenciação, para confirmação. Embora a RT-PCR apresente algumas limitações quando utilizado isoladamente para diagnóstico de LPA - sobretudo ao não detetar as translocações associadas aos *X-RARA* - é simples, rápida, não requer testes confirmatórios adicionais e tem ainda a vantagem de ser altamente sensível com capacidade para detetar transcrições de fusão até 1 em 100.000 células. A identificação inicial do gene de fusão *PML-RARA* por RT-PCR facilita a sua utilidade para a monitorização da doença residual mínima e avaliação da eficácia terapêutica. A

identificação precoce de um rearranjo críptico de t(15;17) é importante, uma vez que estes doentes respondem à terapêutica de diferenciação e, se adequadamente tratados, apresentam um prognóstico igualmente favorável ao verificado no rearranjo clássico da LPA não críptico.

Os rearranjos crípticos de *PML-RARA*, detetáveis apenas por PCR, alertam para as limitações das modalidades diagnósticas existentes e a importância em recorrer a outros métodos complementares de diagnóstico se perante forte suspeita clínica. Segundo alguns autores, a utilização por rotina de RT-PCR combinado com FISH no estudo da LPA, consiste na estratégia diagnóstica mais sensível e específica.⁽⁵¹⁾

4.4 Fatores de Prognóstico

A mortalidade precoce constitui uma importante barreira à cura da LPA. O desenvolvimento de um quadro hemorrágico grave, sobretudo se de localização intracraniana ou pulmonar, constitui a principal causa de mortalidade nos primeiros 30 dias de doença. Por este motivo, a presença de potenciais fatores de risco para complicações hemorrágicas em doentes com LPA condiciona drasticamente o prognóstico expectável. Estudos apontam que a diátese hemorrágica, potencialmente fatal, se encontra do ponto de vista clínico intimamente relacionada com contagens elevadas de leucócitos e com o atraso do diagnóstico - condicionante que compromete a instituição precoce do tratamento dirigido. Fatores como idade superior a 60 anos, comprometimento da função renal identificada por alterações nos valores da creatinina - e alteração dos parâmetros da coagulação, encontram-se igualmente aceites na literatura médica enquanto potenciais fatores de prognóstico na LPA. A percentagem de blastos no sangue periférico constitui um importante fator preditivo independente de mortalidade precoce por hemorragia.^(40, 42, 43)

Um estudo apresentado em 2010 reuniu estatisticamente algumas características clínicas e laboratoriais de 105 doentes com LPA *de novo* (casos consecutivos, de Março de 1993 a Outubro de 2008), com o intuito de avaliar o seu potencial impacto no prognóstico a curto prazo nesta patologia hemato-oncológica (Tabela 7).⁽⁴³⁾

Os resultados obtidos reforçaram, indiscutivelmente, a contagem leucocitária como um importante fator prognóstico. Simultaneamente, a presença do tipo de *breakpoint* BCR3 do *PML-RARA* reforçou-se enquanto fator de mau prognóstico na LPA, assim como a presença de febre, valores elevados de LDH e a existência de alterações nos parâmetros de coagulação. Neste seguimento, os autores defenderam ainda que a expressão fenotípica de CD2 pelas células leucémicas surge igualmente associada a um prognóstico reservado. A deteção deste antigénio de superfície encontra-se habitualmente associada a hiperleucocitose, à presença do tipo de *breakpoint* BCR3 e à variante M3v; circunstâncias que podem justificar o seu impacto negativo no curso da doença. Paralelamente, acredita-se que desempenhe ainda um importante papel na promoção de eventos trombóticos, com possível interferência na leucoaglutinação, contribuindo para o dano tecidual e oclusão microvascular.

Os autores reforçaram mais uma vez a importância incontestável da instituição precoce das medidas terapêuticas, dirigida e de suporte, à primeira suspeita de LPA - mesmo na ausência de confirmação genética do diagnóstico. Esta atuação de primeira linha surge como um verdadeiro desafio na prática clínica como medida indispensável para a diminuição da mortalidade precoce, perante as implicações potencialmente devastadoras e bem conhecidas de um diagnóstico tardio.⁽⁴³⁾

Tabela 7. Comparação de características clínicas e biológicas na apresentação, entre os doentes que registaram mortalidade precoce por hemorragia fatal e o grupo de doentes que sobreviveram aos primeiros 30 dias de doença

Características	Casos de MP	Dts. Sobreviventes
Sexo (M/F)	4/1	49/51
Idade	49.9	37
FAB M3/M3v	3/5 (60%)	23/100 (23%)
Leucócitos (x10 ⁹ /L)	18	2.8
Hb (g/dL)	10	9.1
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	33	28
<i>Score Sanz</i>		
Baixo risco	1	26
Médio risco	3	46
Alto risco	3	28
<i>Breakpoint de PML-RARA</i>		
BCR1	-	49
BCR3	5	48
CD34+	2/5 (40%)	38/100 (38%)
CD2+	2/5 (40%)	19/100 (19%)
% Blastos (sangue periférico)	84	70
Febre (sim/não)	3/5 (60%)	10/100 (10%)
Creatinina (mg/dL)	1.3	0.8
LDH (U/L)	722	250
Alt. de parâmetros da coagulação (sim/não)	5/5 (100%)	35/100 (35%)
Tempo médio de admissão hospitalar (dias)	7	1.5

MP - morte precoce; Dts. - doentes; Hb - Hemoglobina; Alt. - alteração. [Adaptado de ⁽⁴³⁾]

Uma vez instituído o tratamento dirigido, a doença residual mínima constitui o fator prognóstico mais importante da LPA. Neste seguimento, após a conclusão do tratamento de consolidação, os protocolos terapêuticos atuais objetivam a remissão molecular completa.⁽³¹⁾ A detecção por técnicas de PCR da doença residual mínima apresenta-se indispensável na monitorização clínica, ao permitir prever recidivas e, conseqüentemente, adaptar preventivamente a terapêutica do doente.^(31, 32, 48, 55) Desta forma, a detecção de PML-RARA, pela técnica de RT-PCR, condiciona um prognóstico reservado pelo elevado risco de recidiva - comportando-se, por este motivo, como um fator de mau prognóstico.^(31, 32, 48)

Atualmente, a avaliação *standard* do risco de recidiva de doença é concretizada, na apresentação, pelo *score* Sanz. A análise combinada da contagem leucocitária com o número de plaquetas permite um escalonamento dos doentes, segundo três grupos de risco, apresentando-se na prática clínica como um guia de adequação de tratamento. Em Maio de 2015, um grupo de estudo propôs uma estratégia complementar de estratificação de risco ao recomendar a inclusão de parâmetros moleculares. O painel sugerido inclui genes como o *BAALC* (*Brain and Acute Leukemia, Cytoplasmic*), *ERG* (*ETS-related gene*) e *WT1* (*Wilms tumor 1*), cujos níveis de expressão poderão ser potenciais preditores na estratificação de risco de recidiva dos doentes com LPA - acreditando-se que, na sua presença, ocorra um agravamento prognóstico. Desta forma, os seus autores propõem a estratificação de risco molecular como uma abordagem promissora na monitorização dos doentes com LPA e respetiva orientação terapêutica, num futuro próximo.⁽⁵⁶⁾

4.5 Abordagem Terapêutica

As últimas três décadas testemunharam importantes progressos no que concerne à evolução clínica da LPA - historicamente distinta pela sua progressão rápida característica e potencialmente fatal, converteu-se num dos subtipos mais curáveis de LMA. O revolucionário progresso no prognóstico desta patologia hemato-oncológica foi atribuído, sobretudo, aos avanços notáveis de que foi palco a sua abordagem terapêutica. A introdução de novos aliados terapêuticos com ação direta na lesão molecular, de que são exemplo o ATRA e o ATO, catapultou a LPA como o primeiro exemplo de sucesso de terapêutica dirigida ao alvo molecular fruto da indução da diferenciação e apoptose.^(7-9, 22, 30)

A LPA surge na literatura médica como uma doença potencialmente fatal a curto prazo, reconhecida desde a sua identificação por Hillestad como o subtipo mais maligno de leucemia aguda. Num período pré-ATRA, desde 1957 a 1985, a quimioterapia era o tratamento *standard* da LPA.⁽¹⁷⁾ Desde 1973 que é conhecida a particular sensibilidade dos promielócitos displásicos da LPA a ciclos de quimioterapia com daunorrubicina, confirmando-se um espetro terapêutico alargado às restantes antraciclinas em 1980.^(8, 17, 32) O uso de antraciclinas (daunorrubicina, idarrubicina) e citarabina possibilitou a remissão completa da doença em 75 a 80% dos doentes com LPA *de novo*. No entanto os ciclos de quimioterapia ofereciam uma duração média de remissão entre os 11 e os 25 meses, permitindo a cura em apenas 35 a 45% dos doentes - permanecendo elevada a mortalidade precoce, uma vez que a atuação dos agentes citotóxicos potencia a coagulopatia.^(8, 9, 17)

Com o estudo cada vez mais aprofundado das propriedades biológicas celulares, tornou-se claro que as células leucémicas, para além da proliferação anárquica, poderiam resultar de um bloqueio de maturação, desregulação da apoptose e/ou pela capacidade de disseminação. A infiltração característica de promielócitos anormais na medula óssea nos doentes com LPA sugeriu desde cedo estar fortemente relacionada com um bloqueio da diferenciação granulocítica. A questão levantou-se perante a possibilidade de existirem alternativas terapêuticas à morte celular, induzida pela quimioterapia, tendo-se iniciado a procura de abordagens terapêuticas alternativas que pudessem induzir a diferenciação celular.⁽¹⁷⁾

Entre 1985 e meados dos anos 90, os estudos intensificaram-se e descobriram-se as potencialidades do ATRA na terapêutica de diferenciação da LPA, após ensaios clínicos multicêntricos realizados na China.^(17, 20) A monoterapia com ATRA possibilitava a remissão completa na maioria dos casos de LPA *de novo*, com valores descritos superiores a 90%, no entanto a longo prazo ocorriam frequentemente recidivas – fator que motivou a sua combinação com a quimioterapia.^(8, 9) A remissão completa após terapêutica combinada atingiu valores de 80 a 95% com sobrevivência livre de doença aos 5 anos em torno dos 70%.^(8, 9, 13, 17, 20, 30, 32) Simultaneamente, a utilização conjunta destes dois aliados terapêuticos diminuiu as possíveis complicações verificadas quando utilizados individualmente em monoterapia.⁽³²⁾ O plano terapêutico apresentou-se mais eficaz aos previamente existentes oferecendo como vantagens, por um lado, a redução do risco de síndrome de diferenciação associada ao ATRA e por outro permitiu a diminuição da CID, hiperfibrinólise e da mortalidade precoce por infecção secundária à supressão medular induzida por quimioterapia.^(8, 9) A combinação de ATRA com ciclos de quimioterapia revolucionou o prognóstico dos doentes com LPA, convertendo esta patologia hemato-oncológica numa das leucemias agudas mais potencialmente curáveis.^(17, 20)

É importante sublinhar que avanços significativos foram conseguidos à custa de mudanças estratégicas subtis na abordagem terapêutica com estes dois aliados terapêuticos. Numa primeira instância a administração simultânea de ATRA combinado com quimioterapia, em detrimento da utilização sequencial, providenciou uma maior eficácia e melhores resultados a longo prazo.^(9, 13, 32, 48) Por outro lado, a adição de ATRA para além da terapêutica de indução, nomeadamente durante a consolidação terapêutica, beneficiou os índices de recidiva de doença. Já a criação de protocolos adaptados ao risco permitiram manter uma eficácia anti-leucémica ótima em paralelo com a minimização de efeitos adversos e de morbimortalidade - enquanto a intensificação de quimioterapia apenas em doentes com elevado risco de recidiva evitou uma toxicidade excessiva para os restantes doentes.^(13, 48)

No final da década de 90, o ATO em monoterapia demonstrou desempenhar um importante papel terapêutico nas recidivas e nos casos de LPA refratária, obtendo respostas significativas após dois ciclos de tratamento em cerca de 85% dos casos. Posteriormente, as suas potencialidades terapêuticas foram alargadas ao mostrar-se igualmente eficaz quando aplicado em doentes com LPA *de novo*, registando-se a

remissão completa em 85% dos doentes.^(8, 9) Com a introdução do ATO nos regimes terapêuticos registou-se um menor número de casos refratários à terapêutica assim como de recidivas em doentes com LPA *de novo* - conquistas consolidadas pela sua posterior combinação com o ATRA, com o qual possui efeitos sinérgicos.⁽¹⁷⁾

O ATO constitui o fármaco em monoterapia mais eficaz no tratamento da LPA apresentando duplo efeito (dose dependente) nos promielócitos displásicos - doses elevadas induzem apoptose enquanto doses inferiores promovem a diferenciação celular.^(8, 13) Ainda assim, os resultados obtidos com a administração de ATO em monoterapia para indução e consolidação terapêuticas mostram não ser suficiente para produzir uma sobrevivência global tão atrativa como a verificada nos doentes tratados com ATRA e quimioterapia. No entanto, a sua combinação com ATRA, com ou sem quimioterapia, para controlo da contagem leucocitária, revelou-se muito promissora.⁽²⁰⁾ Doentes com hiperleucocitose ($>50 \times 10^9/L$) à apresentação poderão apresentar um prognóstico inferior quando utilizado o ATO como agente terapêutico único em detrimento do ATRA combinado com quimioterapia, apresentando sobrevivência livre de doença diminuída, com um decréscimo de 3 anos e aumento da mortalidade precoce.⁽⁹⁾

Estudos comparativos dos índices de remissão completa após a indução terapêutica com ATRA + quimioterapia e ATRA + ATO não apresentaram diferenças significativas, 100% e 95% respetivamente.⁽¹³⁾ A administração combinada de ATRA + ATO apresenta-se como uma alternativa terapêutica ao tratamento *standard* com ATRA + quimioterapia para doentes com LPA *de novo* de baixo-médio risco assim como para doentes sem condições para realização de quimioterapia convencional.^(9, 13)

Com base no grupo de risco da LPA a optimização terapêutica enfatiza o papel do ATO na indução, consolidação e manutenção do tratamento enquanto substituto da quimioterapia em doentes de baixo e médio riscos sem que com isso ocorra deterioração do prognóstico.^(8, 9, 13)

Contudo, apesar de todos os progressos terapêuticos já conquistados, a mortalidade precoce e as recidivas permanecem os maiores obstáculos à melhoria das estatísticas de remissão e sobrevivência a longo prazo.⁽⁸⁾ Por este motivo, perante o risco elevado de mortalidade precoce, perante uma suspeita de LPA existem três requisitos que devem ser cumpridos o mais rapidamente possível: iniciar medidas de suporte para

controle da coagulopatia, instituição do tratamento precoce dirigido com ATRA e confirmação genética do diagnóstico.⁽⁴⁸⁾

4.5.1 Tratamento de suporte

Apesar de estudos multicêntricos reportarem a mortalidade precoce na LPA em aproximadamente 5 a 10% dos casos, acredita-se que apresente uma ocorrência estatística maior, uma vez que muitos doentes podem morrer antes ou numa fase muito precoce do processo de hospitalização ou inclusão num ensaio clínico, previamente à suspeita clínica de LPA.^(9, 30) O estudo recentemente conduzido pelo SEER apresentou a mortalidade precoce como estando associada a 18 a 21% dos casos, valor substancialmente maior ao reportado pelos ensaios clínicos.⁽⁹⁾

A mortalidade precoce parece não ter mudado substancialmente desde a introdução do ATRA nos esquemas terapêuticos para a LPA, o que pode resultar de diagnósticos tardios, administração diferida de ATRA perante suspeita de LPA e/ou cuidados de suporte inadequados.

Quase todos os casos de hemorragia fatal ocorrem no primeiro mês de tratamento de LPA - aproximadamente 55% ocorre na primeira semana, sendo o período das primeiras 24 horas bastante crítico.^(8, 9) A LPA deve ser encarada como uma emergência médica, com necessidade de medidas de suporte face à coagulopatia de apresentação e de tratamento dirigido com ATRA à primeira suspeita diagnóstica. A confirmação diagnóstica após um resultado positivo de esfregaço de sangue é recomendada, no entanto as terapêuticas de suporte e dirigida não devem ser diferidas.^(8, 9, 32, 48)

As medidas de suporte *standard* incluem fibrinogénio e plaquetas, com o intuito de se assegurarem valores de fibrinogénio superiores a 100-150mg/dL e contagem de plaquetas superior a 50.000/ μ L. O tratamento de suporte deve persistir ao longo da indução terapêutica até que os sinais clínicos e as alterações laboratoriais inerentes à coagulopatia resolvam. Plasma fresco congelado encontra-se recomendado na presença de tempo de protrombina e/ou tempo de tromboplastina parcial ativada prolongados.^(9-11, 41, 44, 48)

A administração de heparina, ou outro anticoagulante, ou de agentes antifibrinolíticos como o ácido tranexâmico, enquanto medidas de suporte da

coagulopatia nos doentes com LPA não se encontra recomendada, uma vez que o seu papel na redução do risco hemorrágico é questionável.^(11, 32, 41, 49) Importa ainda alertar para o risco trombotico decorrente do uso de antifibrinolíticos pelo que a justificar-se o seu uso este deve ser cuidadoso.^(32, 44, 49)

Recentemente um agente antitrombótico, a trombomodulina recombinante (rTM), apresentou benefícios em doentes com coagulopatia severa e quadro hemorrágico grave.⁽⁴⁴⁾ Desde 2008 que a utilização de rTM se tem provado eficaz e segura em estudos com doentes que apresentam coagulopatia associada a LPA. Alguns estudos sugerem a rTM enquanto agente promissor no controlo da coagulopatia em doentes com LPA, no entanto as amostras utilizadas são extremamente pequenas pelo que a extrapolação de resultados é ainda discutível.⁽¹¹⁾

É importante educar os clínicos para a rápida administração de ATRA à primeira suspeita de LPA, uma vez que o ATRA tem-se mostrado na maioria dos casos capaz de reverter rapidamente os sinais de coagulopatia, reduzindo a gravidade da hemorragia. Por outro lado, a iatrogenia é mínima ou nula se o ATRA é administrado num falso diagnóstico de LPA; apresentando em contrapartida potencial benefício se o diagnóstico se confirmar.^(9, 20, 32) Desta forma, a administração atempada de ATRA, relevante quer na estabilização da coagulopatia como na terapêutica de diferenciação, apresenta-se útil na contenção da mortalidade precoce na LPA. O impacto do ATO na mortalidade precoce é ainda desconhecido.⁽⁹⁾

Procedimentos invasivos como cateterização venosa central, punção lombar e broncoscopia devem ser evitados antes e durante a indução terapêutica, devido ao risco de complicações hemorrágicas.^(32, 42, 49) A leucocitafereze não se encontra igualmente recomendada em doentes com LPA, dada a mortalidade descrita durante o procedimento.⁽³⁰⁾ Contudo, poderá ser cuidadosamente ponderada em casos de risco de vida com leucostase sem resposta a outras modalidades terapêuticas. O uso de fatores de crescimento mielóide não deve ser empregue durante a indução terapêutica podendo, no entanto, ser eventualmente ponderado durante a consolidação terapêutica em casos selecionados, nomeadamente perante um processo infeccioso grave potencialmente fatal e na presença de sinais ou sintomas de sépsis. O seu uso profilático durante a consolidação terapêutica ainda não se encontra avaliado.⁽⁵⁵⁾

4.5.2 Terapêutica dirigida de acordo com o risco

Os efeitos secundários da quimioterapia utilizada na LPA – citopenias, neutropenia febril e toxicidade cardíaca tardia – são significativos. Por este motivo, uma das maiores aspirações no âmbito da terapêutica oncológica é conseguir a remissão e cura de doenças neoplásicas sem recurso a quimioterapia com citotóxicos. Na LPA esta ambição terapêutica poderá a curto prazo ser alcançada.^(20, 25)

Depois de duas décadas em que o ATRA e as antraciclinas combinados - com a inclusão de citarabina em doentes com hiperleucocitose para a consolidação terapêutica - permaneciam o esquema *standard* de tratamento da LPA; os progressos terapêuticos conseguidos pelo ATO motivaram estudos alargados cujos resultados obtidos desafiaram os pilares do tratamento convencional da LPA.^(9, 48) De acordo com estudos recentes, pelo menos os doentes incluídos na categoria de baixo e médio risco poderão atingir a cura sem recurso a quimioterapia utilizando apenas combinações de ATO e ATRA, conseguindo-se ainda diminuir potencialmente a toxicidade terapêutica inerente à quimioterapia no grupo de alto risco.^(8, 9, 48)

Em 2000 foi criado o *score Sanz* - segundo o qual se estratificam os doentes aquando do diagnóstico de LPA em baixo, médio e alto risco de recidiva - que ofereceu suporte para o planeamento dos modernos regimes terapêuticos adaptados ao risco da LPA.⁽¹³⁾ Com o intuito de otimizar os protocolos terapêuticos na LPA desenvolveram-se assim estratégias risco-adaptadas que permitiram a redução da morbimortalidade decorrente do recurso à quimioterapia mantendo-se, ainda assim, o efeito anti-leucémico. Dois fatores *major* são considerados para a abordagem terapêutica adaptada ao risco, a idade e a contagem de leucócitos à apresentação do quadro clínico. O primeiro fator prima por se encontrar intimamente associado ao risco de toxicidade farmacológica e de mortalidade; a contagem de leucócitos apresenta relação com o risco de recidiva da doença.⁽⁴⁸⁾

A maioria dos grupos de estudo internacionais propõe desta forma uma redução da intensidade da dose de quimioterapia aplicada a doentes idosos - com o *cut-off* variável entre 60 ou 70 anos - dada a sua vulnerabilidade à toxicidade dos agentes citotóxicos utilizados.⁽⁴⁸⁾ A LPA é relativamente incomum em doentes de idade superior a 60 anos, representado apenas 15 a 20% dos doentes diagnosticados. Contudo, este grupo de doentes apresenta habitualmente mais comorbilidades que as faixas etárias

mais jovens, condicionando um maior risco de mortalidade precoce. Um estudo desenvolvido pela *Sweedish Leukemia* mostrou que a mortalidade precoce geral é de 29%, em que cerca de 50% desses casos ocorreu em doentes com idade superior a 60 anos. Paralelamente e de acordo com o estudo conduzido pela SEER, a mortalidade precoce registou-se em 24% nos doentes com idade superior a 55 anos.⁽³⁰⁾

Cerca de 20 a 25% dos doentes com LPA apresentam contagens de leucócitos superiores a $10 \times 10^9/L$, valores que se encontram correlacionados com maior risco de morte aquando da indução terapêutica, assim como de risco de recidiva - sendo aceitável a adoção de um regime de tratamento mais agressivo nestes doentes.^(30, 48) Cerca de 5% de todos dos doentes apresentam contagens de leucócitos superiores a $50 \times 10^9/L$. A mortalidade precoce neste grupo de risco, mesmo após a aplicação do ATRA enquanto medida terapêutica, tem sido reportada entre 5 a 20%.⁽³⁰⁾

As *guidelines* atuais, baseadas em consensos internacionais alargados, defendem consequentemente que o tratamento da LPA *de novo* requer a distinção à apresentação do grupo de risco no qual o doente se insere. Doentes com contagem de leucócitos igual ou inferior a $10 \times 10^9/L$ inserem-se no grupo de baixo e médio risco, definindo-se por valores superiores o grupo de alto risco.^(8, 9, 30, 32, 55)

A LPA distingue-se dos restantes subtipos de LMA uma vez que a sua abordagem terapêutica não sofre modificações na presença de doentes com anomalias citogenéticas adicionais nem com o tipo de *breakpoint* presente, na LPA relacionada com a terapêutica, na variante microgranular (M3v) ou na presença de mutação do *FLT3-ITD* (frequentemente presente na LPA).⁽²⁰⁾

A abordagem terapêutica combinada com ATRA e ATO deve ser selecionada em doentes com baixo-médio risco não candidatos a quimioterapia e poderá representar a terapêutica de 1ª linha em casos de LPA relacionada com a terapêutica em doentes previamente expostos a doses substanciais de quimioterapia.⁽¹³⁾

4.5.2.1 Doentes de baixo-médio risco

A distinção laboratorial entre os doentes de baixo e de médio risco assenta na contagem de plaquetas, apresentando o grupo de baixo risco valores de plaquetas superiores a $40 \times 10^9/L$, enquanto o grupo de médio risco detém valor igual ou inferior.^(8, 9, 32, 57) No entanto, diversos ensaios clínicos multicêntricos abordaram a terapêutica combinada da LPA com ATRA e ATO não tendo demonstrado diferenças na resposta terapêutica entre os ambos os grupos de risco, pelo que atualmente se encontram agrupados recebendo tratamento idêntico.^(9, 20, 55)

Perante o tremendo progresso de que foi palco o tratamento da LPA, algumas questões permanecem ainda controversas, especialmente no que respeita ao uso de ATO e agentes citotóxicos. A otimização do tratamento da LPA enfatiza uma terapêutica personalizada que se ajuste às características clínicas individuais, objetivando-se a melhor resposta terapêutica com os fármacos não apenas mais eficientes e económicos, mas também com o mínimo de efeitos adversos inerentes.⁽⁸⁾

Em doentes com alterações clínicas e laboratoriais sugestivas de LPA, é imprescindível iniciar a terapêutica com ATRA à primeira suspeição diagnóstica, mesmo na ausência de confirmação genética de LPA. O início precoce de ATRA surge como uma regra de ouro potencialmente capaz de prevenir complicações letais decorrentes da diátese hemorrágica. Se os estudos citogenético e/ou molecular não confirmarem o diagnóstico de LPA, o ATRA deve ser descontinuado e outras hipóteses diagnósticas deverão ser consideradas - redirecionando o seu tratamento enquanto LMA.^(20, 32, 55)

A terapêutica de indução *standard* atual consiste na combinação de ATRA e quimioterapia com antraciclinas, exceto em doentes incapazes de tolerar quimioterapia, na qual a indução com ATRA e ATO combinados é então recomendada.^(8, 32) Existem, no entanto, estudos que recomendam a combinação de ATRA e ATO como terapêutica de 1ª linha para a LPA *de novo* uma vez que, apesar de ambas as abordagens permitirem elevados índices de remissão completa da doença, a utilização de ATO em detrimento de quimioterapia parece ser mais vantajosa aquando do *follow-up* a longo prazo, comportando menor toxicidade hematológica e menor suscetibilidade a infeções.⁽⁸⁾

A terapêutica de indução permite, de uma forma geral, a remissão hematológica completa em 90% de todos os doentes com LPA *de novo*. No entanto, com o intuito de se evitar a recidiva em todos os doentes, terapêutica citotóxica adicional de consolidação é necessária. O papel da terapêutica de consolidação consiste em eliminar as células leucémicas que sobreviveram à indução terapêutica e que não são detetáveis por testes de pesquisa convencionais. Desta forma, o tratamento de consolidação permite aos doentes com remissão morfológica e citogenética completa após a indução terapêutica, obter uma remissão molecular duradoura e eventualmente a cura da doença. Diversos estudos concluíram uma significativa correlação entre a condição molecular dos doentes no final do tratamento de consolidação e o subsequente prognóstico. Por estes motivos, as *guidelines* atuais estabelecem a remissão molecular como um objetivo terapêutico.⁽³²⁾

Conseguida a recuperação da contagem leucocitária, a terapêutica de consolidação da LPA poderá envolver ATRA e quimioterapia com antraciclinas, citarabina (Ara-C) e ainda ATO.^(8, 30, 55) A eficácia do ATO enquanto terapêutica de consolidação permanece ainda discutível segundo alguns autores.^(8, 30)

A avaliação morfológica e molecular na medula óssea se precoce, até 10 a 14 dias, pode ser enganosa (Figura 9); noutras formas de LMA, um *nadir* de medula óssea aos 14 dias é realizado contrariamente ao recomendado para a LPA – uma vez que são necessárias mais de duas semanas para que os promielócitos leucémicos se diferenciem.^(20, 55) Os doentes habitualmente permanecem molecularmente positivos no final da terapêutica de indução, mesmo quando a medula óssea apresenta remissão morfológica. A primeira avaliação da remissão molecular deve ser realizada após a terapêutica de consolidação.⁽⁵⁵⁾

Dias após o início da administração oral de ATRA:

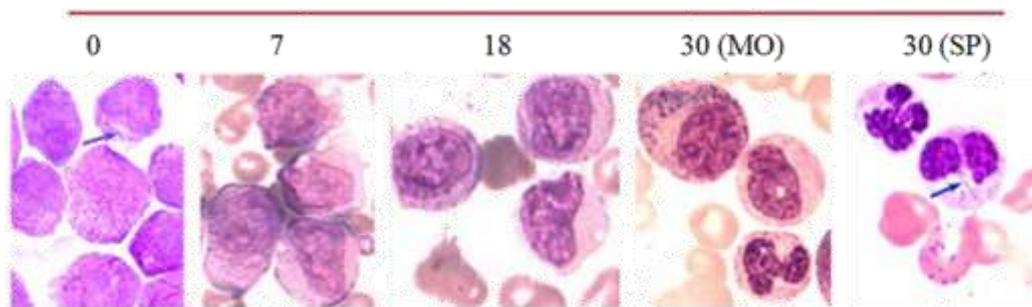


Figura 9. A terapêutica com ATRA induz a diferenciação gradual dos promielócitos leucêmicos *in vivo* quer na medula óssea (MO) como no sangue periférico (SP).

Ao 30º dia de tratamento, os corpos de Auer (setas) encontram-se presentes nos neutrófilos circulantes do sangue periférico, indicando que derivam de promielócitos leucêmicos. [Adaptado de ⁽¹⁷⁾]

Os esquemas terapêuticos de indução e consolidação propostos para o grupo de baixo-médio risco da LPA segundo as atuais recomendações do NCCN encontram-se sumariadas na tabela 8.

Tabela 8. Terapêutica de indução e consolidação da LPA em doentes de baixo-médio risco

Indução	Consolidação
<p>ATRA 45mg/m²/dia em doses fracionadas até remissão clínica + ATO 0,15mg/kg/dia IV até remissão medular</p>	<p>ATO 0,15mg/kg/dia IV em 5 dias/semana durante 8 semanas num total de 4 ciclos + ATRA 45mg/m²/dia por 2 semanas a cada 4 semanas num total de 7 ciclos</p>
ou	
<p>ATRA 45mg/m²/dia em doses fracionadas até remissão clínica + Daunorobicina 50 mg/m² durante 4 dias + Citarabina 200mg/m² durante 7 dias</p>	<p>ATO 0,15mg/kg/dia IV em 5 dias durante 5 semanas por 2 ciclos; seguido de ATRA 45mg/m²/dia durante 7 dias + Daunorobicina 50 mg/m² durante 3 dias por 2 ciclos</p>
ou	
<p>ATRA 45mg/m²/dia em doses fracionadas até remissão clínica + Daunorobicina 60 mg/m² durante 3 dias + Citarabina 200mg/m² durante 7 dias</p>	<p>Daunorobicina 60 mg/m² durante 3 dias + Citarabina 200mg/m² por 7 dias; seguido de Citarabina 1g/m² 12h/12h durante 4 dias + Daunorobicina 45 mg/m² durante 3 dias</p>
ou	
<p>ATRA 45mg/m²/dia em doses fracionadas até remissão clínica + Idarubicina 12 mg/m² durante 3 dias + Citarabina nos dias 2, 4, 6 e 8</p>	<p>ATRA 45mg/m²/dia durante 15 dias + Idarubicina 5mg/m² por 4 dias; seguido de ATRA durante 15 dias + Mitoxantrone 10mg/m²/dia durante 5 dias; seguido de ATRA durante 15 dias + Idarubicina 12mg/m² (dose única)</p>
ou	
<p>Ensaio Clínico</p>	

Em doentes jovens, até que se concretize a remissão clínica, diferentes estudos sugerem doses mais baixas de ATRA nomeadamente 25mg/m². O NCCN recomenda a inserção de doentes oncológicos sempre que possível em ensaios clínicos. [Adaptado de ⁽⁵⁵⁾]

As linhas terapêuticas acima descritas surgiram ao longo dos últimos anos, propostas por diversos grupos de estudo cujos ensaios clínicos obtiveram excelentes resultados. No entanto, é importante salvaguardar que, para se alcançarem os resultados esperados é necessário seguir o regime terapêutico proposto consistentemente ao longo de todas as etapas recomendadas, não estando indicado combinar diferentes etapas entre os diferentes estudos. Desta forma, para se alcançar os resultados previstos, não se deve seguir a abordagem de indução terapêutica aconselhada por determinado autor e completar a consolidação de acordo com outro grupo de estudo. ⁽⁵⁵⁾

Durante a terapêutica de indução, os clínicos deverão estar alerta para o surgimento de síndrome de diferenciação ou de agravamento da coagulopatia. Para além disso, importa ainda sublinhar que todos os esquemas terapêuticos incluem altas doses cumulativas de agentes cardiotoxicos, pelo que a função cardíaca deve ser sempre avaliada previamente à inserção do doente num esquema de tratamento com antraciclinas e mitoxantrone. ⁽⁵⁵⁾

O regime *standard* de consolidação pode induzir SMD secundário, LMA ou patologia miocárdica associada ao uso de antraciclinas em doentes com LPA. Neste seguimento, complicações importantes podem surgir especialmente em doentes de baixo-médio risco que de outra forma permaneceriam em completa remissão a longo prazo. Por este motivo, múltiplos estudos têm sido realizados com o intuito de se incluir o ATO na terapêutica de consolidação procurando-se diminuir, ou até suspender, o uso de agentes citotóxicos no futuro. ^(8, 13, 30)

As respostas de sucesso obtidas com a utilização de ATO na terapêutica de indução e/ou consolidação desprovidas de quimioterápicos providenciaram um futuro brilhante para a terapêutica de diferenciação sem recurso a qualquer quimioterapia convencional. Estes resultados permitiram ambicionar a possibilidade de remover a quimioterapia do plano terapêutico da LPA, pelo menos nos doentes de baixo-médio risco, sem que com isso se comprometa o prognóstico a longo prazo. ^(8, 13, 57)

A utilização de Ara-C deve ser evitada em doentes de baixo-médio risco com o intuito de se minimizarem os efeitos citotóxicos adversos; contudo, quando utilizada em doentes de alto risco, com contagens leucocitárias superiores a $10 \times 10^9/L$, conduz ao aumento da sobrevivência e reduz o risco de recidiva. ^(8, 13, 30, 48)

Enquanto os promielócitos leucêmicos apresentam elevada sensibilidade à terapêutica com antraciclina, o papel da citarabina no tratamento da LPA permanece pouco claro - sobretudo na era do tratamento com ATRA. A citarabina pode ser omitida com sucesso dos regimes de indução terapêutica sem conduzir a um impacto negativo na resposta esperada independentemente da contagem leucocitária, sobretudo se a terapêutica de indução e de consolidação incluir ATRA e a antraciclina de eleição for a daunorrubicina. Por outro lado, com a descoberta das potencialidades terapêuticas do ATO na LPA, a citarabina e em alguns casos até as antraciclina poderão deixar de ser necessárias para obter a cura dos doentes.⁽⁹⁾

Para a terapêutica de manutenção, a abordagem atual consiste na administração sequencial durante 1-2 anos de ATRA com ou sem recurso a quimioterapia de baixa intensidade - habitualmente 6-mercaptopurina e metotrexato - sendo de primordial importância a monitorização com hemograma para avaliação da contagem celular sobretudo em doentes idosos.^(9, 20, 25, 30) Alguns autores defendem a inclusão de ATO em cada ciclo de quimioterapia de forma a garantir a remissão a longo prazo, considerando o ATO um aliado terapêutico especialmente importante em doentes de baixo-médio risco não sujeitos a quimioterapia - contudo é uma recomendação pouco consensual.⁽⁸⁾

Diversos estudos defendem que o cumprimento de terapêutica de manutenção permite a redução da incidência de recidivas em doentes de alto risco. No entanto, em doentes de baixo-médio risco que já obtiveram remissão médica da doença, a terapêutica de manutenção permanece ainda discutível, uma vez que se acredita que poderá não trazer benefícios adicionais significativos.^(8, 9, 13, 20, 32)

O papel da terapêutica de manutenção na LPA encontra-se, desta forma, ainda em discussão. É importante sublinhar que, para além dos benefícios que poderá trazer sobretudo em doentes de alto risco, trata-se de uma intervenção terapêutica que implica alguns riscos, podendo provocar potenciais danos em doentes que se encontram já potencialmente curados. Os benefícios da terapêutica de manutenção na LPA poderão desta forma depender do tipo, intensidade e duração do tratamento de indução e consolidação prévio assim como do *status* da doença residual mínima. A introdução do ATO nas estratégias de indução e consolidação terapêuticas de primeira linha parece ter diminuído a necessidade de tratamento de manutenção em doentes de baixo-médio risco.⁽⁹⁾

4.5.2.2 Doentes de alto risco

Em doentes do grupo de alto risco, as recomendações do NCCN apoiam-se em três combinações terapêuticas principais: ATRA combinado com Daunorrubicina e Citarabina; ATRA e Idarrubicina; e, por último, ATRA com Idarrubicina e ATO. Para os doentes que não toleram antraciclinas, a combinação de ATRA e ATO encontra-se aconselhada. A inserção dos doentes de alto risco em ensaios clínicos é fortemente recomendada pelo NCCN.⁽⁵⁵⁾

Os esquemas terapêuticos de indução e consolidação propostos para o grupo de alto risco na LPA, segundo as atuais recomendações do NCCN, encontram-se sumariados nas tabelas 9 e 10.

Tabela 9. Terapêutica de indução e consolidação da LPA em doentes de alto risco que toleram antraciclina

Indução	Consolidação
<p>ATRA 45mg/m²/dia em doses fracionadas até remissão clínica + Daunorubicina 50 mg/m² durante 4 dias + Citarabina 200mg/m² durante 7 dias</p>	<p>ATO 0,15mg/kg/dia IV em 5 dias/semana durante 5 semanas num total de 2 ciclos; seguido de ATRA 45mg/m²/dia por 7 dias + Daunorubicina 50 mg/m² durante 3 dias por 2 ciclos</p>
ou	
<p>ATRA 45mg/m²/dia em doses fracionadas até remissão clínica + Daunorubicina 60 mg/m² durante 3 dias + Citarabina 200mg/m² durante 7 dias</p>	<p>Daunorubicina 60 mg/m² durante 3 dias + Citarabina 200mg/m² por 7 dias; seguido de Citarabina 2g/m² (idade <50 anos) ou 1,5g/m² (idade 50-60 anos) 12/12h durante 5 dias + Daunorubicina 45 mg/m² durante 3 dias + 5 sessões de quimioterapia intratecal</p>
ou	
<p>ATRA 45mg/m²/dia em doses fracionadas até remissão clínica + Idarubicina 12 mg/m² nos dias 2, 5, 6 e 8</p>	<p>ATRA 45mg/m²/dia durante 15 dias + Idarubicina 5mg/m² e Citarabina 1g/m² por 4 dias; seguido de ATRA durante 15 dias + Mitoxantrone 10mg/m²/dia durante 5 dias; seguido de ATRA durante 15 dias + Idarubicina 12 mg/m² (dose única) + Citarabina 150mg/m²/8h durante 4 dias</p>
ou	
<p>ATRA 45mg/m²/dia em doses fracionadas desde o dia 1 ao 36 + Idarubicina 6-12 mg/m² em dose ajustada à idade + ATO 0,15mg/kg/dia IV infusão de 2h nos dias 9 a 36</p>	<p>ATRA 45mg/m²/dia durante 28 dias + ATO 0,15mg/kg/dia durante 28 dias; seguido de ATRA 45mg/m²/dia durante 7 dias a cada 2 semanas em 3 ciclos + ATO 0,15mg/kg/dia durante 5 dias a cada 5 semanas num único ciclo</p>
ou	
<p>Ensaio Clínico</p>	

Em doentes jovens, até se concretizar a remissão clínica, diferentes estudos sugerem doses mais baixas de ATRA nomeadamente $25\text{mg}/\text{m}^2$. A quimioterapia intratecal deve ser considerada enquanto opção profilática do SNC. O NCCN recomenda a inserção de doentes oncológicos sempre que possível em ensaios clínicos. [Adaptado de ⁽⁵⁵⁾]

Tabela 10. Terapêutica de indução e consolidação da LPA em doentes de alto risco que não toleram antraciclina

Indução	Consolidação
<p>ATRA $45\text{mg}/\text{m}^2/\text{dia}$ em 2 doses diárias + ATO $0,15\text{mg}/\text{kg}/\text{dia}$ IV até se concretizar a remissão medular</p>	<p>ATO $0,15\text{mg}/\text{kg}/\text{dia}$ durante 5 dias por semana durante 4 semanas a cada 8 semanas num total de 4 ciclos + ATRA $45\text{mg}/\text{m}^2/\text{dia}$ durante 28 dias +; seguido de ATRA $45\text{mg}/\text{m}^2/\text{dia}$ <i>per os</i> durante 2 semanas a cada 4 semanas num total de 7 ciclos</p>

ou

Ensaio Clínico

Em doentes jovens, até se concretizar a remissão clínica, diferentes estudos sugerem doses mais baixas de ATRA nomeadamente $25\text{mg}/\text{m}^2$. O NCCN recomenda a inserção de doentes oncológicos sempre que possível em ensaios clínicos. [Adaptado de ⁽⁵⁵⁾]

Apesar do regime original incluir a citarabina em altas doses, apenas enquanto terapêutica de segunda consolidação, alguns autores recomendam o seu uso na profilaxia do SNC - sobretudo em doentes que não se encontram a realizar quimioterapia intratecal. Em doentes idosos ou com insuficiência renal, a dose de citarabina poderá necessitar de ser ajustada. ⁽⁵⁵⁾

Contrariamente ao defendido para o grupo de baixo-médio risco, a maioria dos ensaios clínicos defende benefícios na terapêutica de manutenção em doentes de alto risco - no entanto estes estudos precedem o uso de ATRA, ATO e/ou citarabina enquanto agentes terapêuticos na consolidação da LPA, pelo que o papel do tratamento de manutenção permanece ainda incerto. ⁽⁵⁵⁾ De uma forma geral, a maioria dos autores

defende que os doentes inseridos no grupo de alto risco aquando do diagnóstico ou com elevação da contagem leucocitária durante o tratamento são potenciais candidatos à terapêutica de manutenção.⁽²⁰⁾

O grupo de estudo LPA99 apresentou resultados que questionam a eficácia da atual terapêutica de manutenção. A recidiva cumulativa aos 5 anos registou-se em valores de 3%, 8% e 25% nos doentes dos grupos de baixo, médio e alto risco respetivamente; valores que fizeram duvidar do atual esquema de manutenção com ATRA, metotrexato e 6-mercaptopurina, especialmente no grupo de doentes de alto risco. Perante estes resultados, realizou-se um estudo retrospectivo num único centro experimental, a partir do qual os seus autores apoiaram um potencial aliado terapêutico, de origem natural e utilizado na medicina tradicional chinesa, o Realgar-Índigo (RIF). A terapêutica em estudo consistiu na administração combinada de RIF, ATRA e quimioterapia que pareceu providenciar melhores resultados, sobretudo nos doentes de alto risco, apresentando maior eficácia e menor toxicidade. A recidiva em doentes de alto risco submetidos a este novo regime terapêutico de manutenção registou valores inferiores aos previamente obtidos, rondando os 5,9%. No entanto, os autores reconhecem a necessidade em desenvolver mais estudos a longo prazo de forma a explorar melhor o efeito curativo desta nova abordagem enquanto terapêutica de manutenção.⁽⁵⁸⁾

4.5.3 Monitorização da doença residual mínima

A doença residual mínima é o fator prognóstico mais importante da LPA, segundo os diferentes protocolos de tratamento. Por este motivo, a abordagem terapêutica da LPA objetiva a remissão molecular completa quando concluído o tratamento de consolidação.⁽³¹⁾ Uma vez recuperados os valores de contagem de plaquetas e de leucócitos, o doente deve realizar punção de medula óssea para obtenção de mielograma.

A remissão molecular completa define-se pela ausência de transcrição do gene de fusão *PML-RARA* utilizando métodos de PCR num doente com resultado previamente positivo. A sua importância assenta na capacidade de prever recidivas e permitir dessa forma redirecionar preventivamente para a terapêutica.^(9, 13, 32, 48, 55) Quando a doença

residual mínima é negativa pela técnica de RT-PCR, o risco de recidiva é muito baixo; por outro lado, perante a deteção de *PML-RARA* o risco de recidiva aumenta dramaticamente.⁽³¹⁾

Recentemente o *Medical Research Council* concluiu que a intervenção médica precoce na doença residual mínima pode prevenir a sua progressão para a recidiva franca. Neste estudo, a instituição de ATO em monoterapia em doentes com doença residual mínima molecularmente positiva mas com morfologia negativa permitiu um registo de apenas 5% de recidivas, sendo o grupo de alto risco aquele que aparentemente regista maior benefício.⁽⁹⁾ A técnica de RT-PCR deve ser efetuada a partir de uma amostra de medula óssea após o tratamento de consolidação para documentar a remissão molecular da doença.^(32, 55) A subsequente monitorização por RT-PCR pode ser efetuada com amostras de sangue periférico apesar das amostras de medula óssea oferecerem maior sensibilidade, podendo desta forma oferecer sinais mais precoces de recidiva.⁽⁵⁵⁾ Em doentes de alto risco alguns autores recomendam que toda a monitorização se realize com amostras de medula óssea.⁽⁹⁾

Uma vez atingida a remissão molecular completa, as *guidelines* do NCCN recomendam a monitorização dos doentes com RT-PCR a cada 3 meses durante os primeiros 2-3 anos e a cada 6 meses por mais dois anos adicionais. Caso a remissão molecular se perca, o doente deve ser submetido a avaliação de medula óssea para confirmação num período de até 2 semanas, de forma a se proceder à terapêutica de recidiva de doença.^(32, 49) Atualmente para os doentes de alto risco este procedimento é altamente recomendado - nomeadamente doentes com idade superior a 60 anos, doentes que tiverem longos períodos de interrupção terapêutica aquando da consolidação ou em doentes incluídos em regimes terapêuticos com tratamento de manutenção e que não se encontram aptos a tolerar esse mesmo tratamento. Paralelamente alguns autores defendem a monitorização mais apertada com intervalos de apenas 3 meses durante 36 meses, em detrimento do intervalo de 6 meses recomendado pela NCCN durante o terceiro ano de monitorização. A experiência clínica indica que o risco de recidiva em doentes de baixo-médio risco que se encontram em remissão molecular aquando da conclusão do tratamento de consolidação é muito baixo e a monitorização poderá não ser necessária fora do contexto de ensaio clínico. A monitorização a realizar-se neste

grupo de risco poderá ser efetuada, em amostras de sangue periférico, a cada 3 ou 6 meses durante um período de 3 anos.^(9, 48, 55)

Cerca de 1% dos doentes, segundo o mais recente estudo do PETHEMA, apresentam RT-PCR positiva após a conclusão do tratamento de consolidação.⁽⁴⁸⁾ A confirmação de um resultado positivo por RT-PCR é realizada numa segunda amostra de medula óssea num prazo de 2 a 4 semanas por um laboratório fidedigno. Se a recidiva molecular se confirmar por um segundo teste de RT-PCR positivo deve-se proceder ao tratamento enquanto primeira recidiva da doença. Caso o segundo teste de RT-PCR seja negativo, a monitorização frequente (a cada 3 meses durante 2 anos) é fortemente recomendada de forma a confirmar se o doente permanece molecularmente negativo. O laboratório deve indicar o nível de sensibilidade do teste de RT-PCR para positividade, apresentando tipicamente um nível de sensibilidade capaz de detetar uma célula leucémica por cada 10^4 células hematopoiéticas normais, devendo o segundo teste ser repetido no mesmo laboratório de forma a manter o nível de sensibilidade.^(32, 55)

Estes doentes apresentam um prognóstico reservado e necessitam de uma abordagem terapêutica mais intensa, incluindo transplante de medula óssea.⁽⁴⁸⁾ O transplante alogénico de medula óssea (alo-TMO) é recomendado em doentes com um dador HLA-compatível disponível, enquanto o transplante autólogo de medula óssea (auto-TMO) se considera uma alternativa válida em doentes não elegíveis para alo-TMO. A negativização da RT-PCR é prioritária ao auto-TMO sendo um requisito obrigatório.^(32, 48)

Uma técnica mais recente de PCR, a qPCR (PCR em tempo real), tem-se apresentado mais sensível comparativamente à RT-PCR. No entanto consiste num procedimento laboratorial mais dispendioso pelo que é necessário avaliar a sua aplicabilidade na prática clínica, averiguar o custo-benefício enquanto técnica laboratorial *standard* e contrabalançar a existência de potenciais benefícios pra uma terapêutica mais personalizada fora do contexto de ensaio clínico.^(9, 31, 48)

4.5.4 Recidiva

Com o tratamento *standard* atual cerca de 5 a 30% dos doentes apresentam recidiva morfológica ou molecular. Na maioria dos casos ocorre num prazo de 3 anos após a conclusão do tratamento, incidindo preferencialmente em doentes do grupo de alto risco. Fatores de risco para recidiva incluem tempo prolongado na obtenção da primeira remissão completa, contagem de leucócitos elevada, recidivas prévias e *PML-RARA* persistentemente positivo após consolidação.^(8, 30)

Ao longo das últimas duas décadas o ATO tornou-se no agente *standard* para tratamento de primeira linha da recidiva de LPA.^(9, 31) A maioria dos estudos propõe um tratamento de resgate que incluiu habitualmente ATO em monoterapia ou em combinação com outros agentes terapêuticos, nomeadamente ATRA e idarrubicina; transplante de medula óssea e gentuzumab ozogamicina poderão também ser necessários.^(8, 30)

São múltiplos os estudos que confirmam a atividade e os benefícios terapêuticos do ATO na recidiva de LPA, com índices de remissão completa de aproximadamente 80-90% e sobrevivência global de 50-70% em 1-3 anos. No entanto, com o advento do seu uso na abordagem terapêutica de primeira linha na LPA *de novo*, permanece incerto se a sua eficácia enquanto aliado terapêutico na recidiva da doença se mantém. Já a combinação de ATRA ao ATO na abordagem terapêutica em casos de recidiva permanece pouco clara, tendo um ensaio clínico francês concluído que a combinação destes dois aliados terapêuticos na recidiva de LPA não apresenta benefícios - sublinhando que muitos dos doentes são inclusive resistentes ao ATRA na apresentação de recidiva da doença.⁽⁹⁾

A terapêutica de resgate convencional, aplicada aos casos de recidiva ou aos raros casos refratários, consistia tradicionalmente em altas doses de quimioterapia e consequente transplante autólogo ou alogénico de medula óssea - que se fazia acompanhar indubitavelmente por um alto risco de morte precoce, assim como de efeitos citotóxicos adversos. Neste contexto, o ATO surge perante a necessidade de investigar novos agentes terapêuticos que conseguissem um melhor prognóstico e comportassem menor toxicidade.^(25, 31)

O ATO, enquanto agente terapêutico em monoterapia ou em combinação com o ATRA e quimioterapia para uma segunda remissão em doentes com LPA, tem-se mostrado promissor.^(30, 31) Apesar de apresentar uma taxa de segunda remissão completa de aproximadamente 86% em monoterapia, uma segunda recidiva não é rara encontrando-se associada a uma sobrevivência livre de doença insatisfatória. Desta forma, o tratamento de pós-remissão é essencial para assegurar uma maior sobrevivência, variando desde o ATO em monoterapia, ATRA combinado com quimioterapia e/ou ATO e ainda transplante de medula óssea.⁽³⁰⁾

Uma vez conseguida a segunda remissão completa da doença (RC2), o auto-TMO é provavelmente a melhor abordagem terapêutica em doentes candidatos, nomeadamente doentes jovens.^(9, 57) Alguns autores recomendam ciclos repetidos de ATO com ou sem quimioterapia, contudo a transplantação providencia maior probabilidade de cura - o auto-TMO consegue oferecer 5 anos de sobrevivência livre de doença em cerca de 50-70% dos casos.⁽⁹⁾

Entre o auto-TMO e o alo-TMO a escolha pode ser difícil sendo condicionada por diversos fatores como a idade do doente, a existência de dadores compatíveis para alo-TMO e a extensão da doença residual mínima.⁽⁹⁾ O auto-TMO encontra-se associado a menor mortalidade transplante-relacionada, no entanto apresenta uma maior incidência de recidiva. Os estudos sugerem que em doentes com recidiva de LPA e uma vez conseguida a segunda remissão da doença, o auto-TMO encontra-se preferencialmente recomendado por oferecer um excelente prognóstico, melhor tolerabilidade e pela ausência de doença excerto contra hospedeiro. Por outro lado, o alo-TMO é fortemente recomendado em doentes que permanecem molecularmente positivos.^(9, 30)

Em doentes sem condições para TMO, ciclos repetidos de ATO podem oferecer a cura com estudos a relatar valores de 66%. Importa ainda frisar que em doentes com múltiplas recidivas ou com LPA refratária ao tratamento, o anticorpo monoclonal anti-CD33 conjugado gemtuzumab ozogamicina é altamente ativo na LPA pelo que poderá oferecer resposta terapêutica.⁽⁹⁾

Para além da recidiva hematológica, a recidiva extramedular ocorre em cerca de 1% dos casos de LPA ocorrendo habitualmente em doentes com múltiplas recidivas.^(8, 49) A recidiva extramedular tornou-se mais comum após a introdução de ATRA e ATO nos regimes terapêuticos.^(31, 47)

Diversas localizações de recidiva extramedular encontram-se descritas na literatura, sendo o SNC o local mais frequentemente acometido, seguindo-se a pele. Outras localizações, menos comuns, incluem o ouvido interno, nasofaringe, testículo, gânglios linfáticos, timo, mediastino, pulmão, pleura, coração, pericárdio, mama, pélvis, coluna vertebral, mandíbula, gengiva, músculos e locais de acesso vascular.⁽⁵⁹⁾ Cerca de 10% das recidivas de LPA apresentam envolvimento do SNC.⁽⁴⁹⁾

A recidiva no SNC é usualmente observada com envolvimento meníngeo, apresentando PML-RARA positivo no líquido cefalorraquidiano (LCR). Apesar da terapêutica sistêmica com ATO, a positividade molecular do LCR permanece, pelo que alguns autores recomendam fortalecer o tratamento com a adição de quimioterapia intratecal. O papel da radioterapia perante a detecção de doença residual mínima no LCR e no sangue periférico ou na medula óssea são questões que necessitam ainda de ser discutidas nos casos de recidiva de doença. A aplicação de quimioterapia intratecal profilática em doentes com LPA permanece com resultados ainda pouco claros, no entanto em doentes de alto risco a profilaxia do SNC parece ser benéfica.

A recidiva cutânea apresenta-se como lesões maculopapulares com descoloração roxa a acastanhada. As lesões são habitualmente resistentes à monoterapia com ATO e necessitam de quimioterapia com ou sem ATRA, assim como de ATO até resolução da doença. A recidiva cutânea pode ser isolada sem comprometimento da medula óssea, no entanto o PML-RARA é usualmente positivo.⁽³¹⁾

A contagem inicial de leucócitos elevada ($>10 \times 10^9/L$) é o fator de risco independente para recidiva no SNC mais consensualmente aceite, na qual a recorrência pode exceder os 5%.^(8, 49) Outros fatores de risco incluem idade jovem, tipo de *breakpoint* (BCR3) do *PML-RARA* e hemorragia do SNC aquando da terapêutica de indução.^(8, 49) A terapêutica intratecal com metotrexato (10-15 mg), Ara-C (40-50 mg) e dexametasona (5 mg) é recomendada em doentes com recidiva da doença no SNC. Simultaneamente, ATRA e ATO são administrados em combinação enquanto terapêutica sistêmica em detrimento da quimioterapia, não utilizada numa fase precoce de forma a evitar o aumento do risco hemorrágico aquando da punção lombar. Para a quimioterapia sistêmica subsequente no decorrer da intervenção intratecal, doses elevadas de Ara-C são recomendadas dada a sua elevada penetração no SNC.

Adicionalmente, auto ou alo-TMO e radioterapia cranioespinhal devem ser equacionadas uma vez conseguida a remissão.⁽⁸⁾

A inclusão da profilaxia do SNC nas medidas terapêuticas de primeira linha da LPA permanece controversa. Uma vez que a maioria das recidivas no SNC ocorre em doentes com hiperleucocitose, alguns autores têm sugerido a profilaxia do SNC em doentes de alto risco. Contudo, dado o elevado risco hemorrágico, encontra-se fortemente recomendado que a punção lombar para a profilaxia do SNC apenas se realize após a remissão completa da doença. Por outro lado os benefícios da profilaxia do SNC não se encontram atualmente bem estabelecidos. Para doentes de baixo-médio risco, cujo risco de recidiva no SNC é extremamente baixo, existe um consenso geral para a evicção da profilaxia do SNC.^(13, 32)

O esquema terapêutico proposto pelo NCCN perante casos de recidiva de LPA encontra-se esquematizado na figura 10.

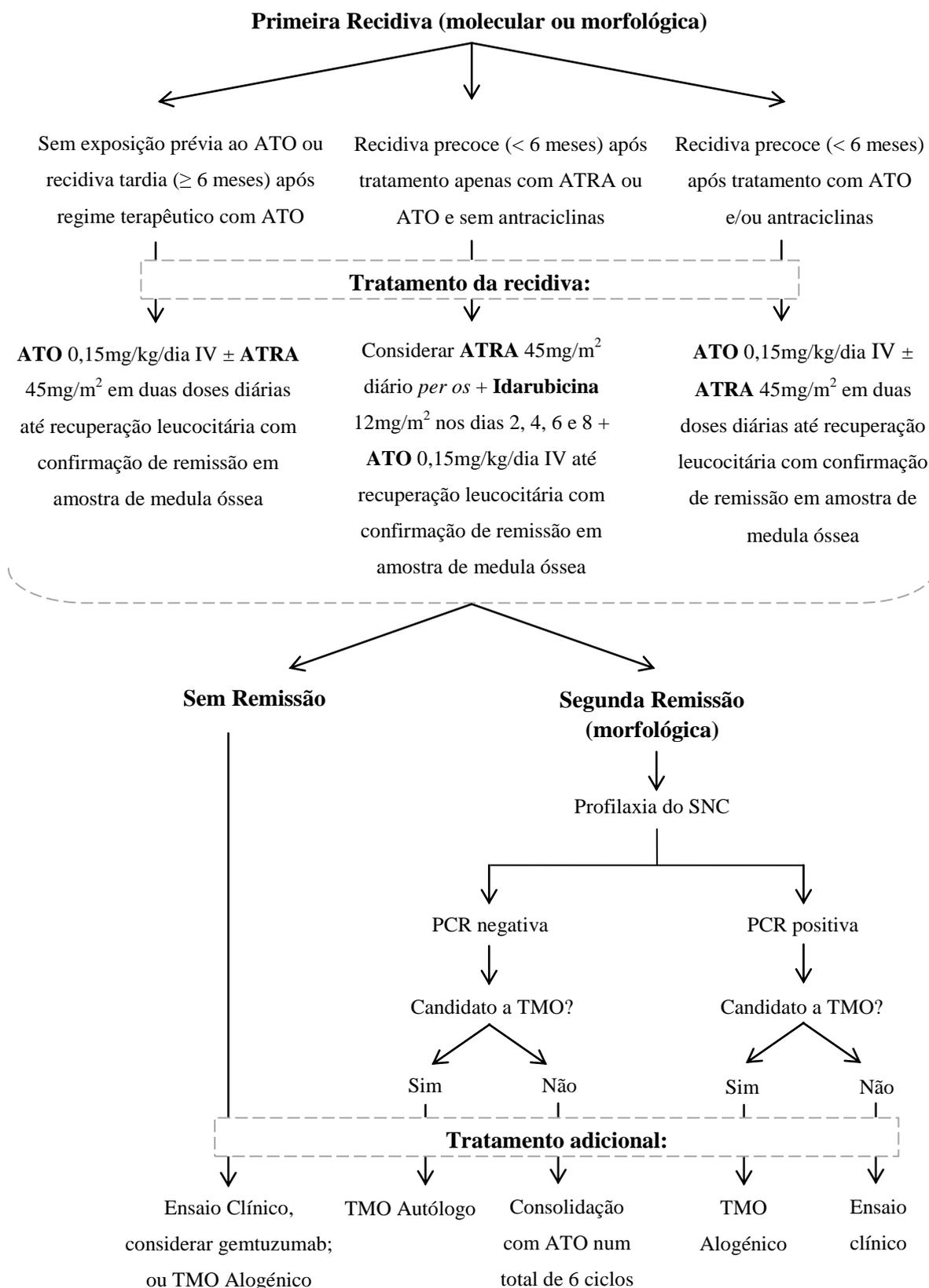


Figura 10. Abordagem terapêutica de primeira recidiva e tratamento adicional segundo as recomendações do NCCN.

[Adaptado de ⁽⁵⁵⁾]

Após o primeiro ciclo de consolidação com ATO, se o doente ainda não se encontrar em remissão molecular, confirmada por PCR quantitativa em amostra de medula óssea, é recomendado considerar um irmão compatível ou dador alternativo para TMO ou inserir o doente em ensaio clínico. A realização de RT-PCR é recomendada pelo menos 2 a 3 semanas após a conclusão do tratamento com ATO de forma a evitar falsos positivos.⁽⁵⁵⁾

Relativamente à combinação de ATO com ATRA existe um pequeno ensaio clínico que concluiu que adição de ATRA não confere benefício adicional. No entanto perante um doente que não tolere antraciclinas, a combinação ATRA + ATO encontra-se então recomendada.⁽⁵⁵⁾

4.5.5 Situações Especiais

Alguns casos de LPA como em mulheres grávidas, LPA relacionada com a terapêutica, na presença de variantes genéticas de LPA e em doentes pediátricos ou idosos requerem considerações especiais na abordagem terapêutica.⁽³²⁾

4.5.5.1 Gravidez

A incidência de LPA no decurso de uma gravidez não se encontra bem estabelecida. Doentes diagnosticadas com LPA no curso de uma gravidez são casos verdadeiramente desafiantes, que requerem acompanhamento por uma equipa multidisciplinar com hematologista, obstetra e neonatologista. A abordagem terapêutica depende fortemente do trimestre de gravidez em que a LPA é diagnosticada.^(32, 49)

No decorrer do primeiro trimestre o ATRA e o ATO são considerados altamente teratogénicos, encontrando-se contraindicados neste período gestacional.⁽³²⁾ A quimioterapia, apesar de ser habitualmente segura, encontra-se associada a malformações fetais, risco acrescido de aborto e baixo peso à nascença. Para além disso é importante relembrar que o uso isolado de quimioterapia se encontra associado a um risco hemorrágico acrescido dada a libertação de procoagulantes e ativadores do plasminogénio pelos promielócitos leucémicos.⁽⁴⁹⁾

A decisão crucial numa grávida diagnosticada com LPA no primeiro trimestre discute-se entre duas possibilidades: continuação da gravidez e inicia-se tratamento com antraciclina, ou procede-se à interrupção médica da gravidez assim que a doente permaneça hemodinamicamente estável - após a qual o tratamento com ATRA e quimioterapia deve ser instituído imediatamente. Caso a interrupção médica da gravidez seja recusada, a quimioterapia será a única opção razoável a ser oferecida neste período gestacional. Entre as antraciclina, a daunorubicina deve ser a primeira escolha na gravidez pela longa experiência do seu uso durante o período gestacional.^(32, 49) Existem algumas evidências de que a idarubicina, mais lipofílica que as restantes antraciclina, apresenta uma maior facilidade de passagem pela placenta pelo que poderá comportar maior toxicidade fetal.⁽⁴⁹⁾ Se a remissão for conseguida com a quimioterapia e a gravidez continuar a evoluir sem intercorrências, o ATRA pode ser adicionado durante o segundo e o terceiro trimestres gestacionais.

Caso o diagnóstico de LPA se concretize no segundo ou no terceiro semestre de gravidez, duas opções terapêuticas encontram-se disponíveis. A indução de remissão por ser conseguida com ATRA em monoterapia adiando-se a quimioterapia para o período após o parto; ou pela administração simultânea de ATRA e quimioterapia, alternativa que oferece a melhor possibilidade de cura.^(32, 49) A remissão completa esperada em ambas as alternativas terapêuticas não diverge significativamente, no entanto o tratamento com ATRA em monoterapia encontra-se associado a um impacto não tão favorável no risco de recidiva. Alguns autores defendem que durante este período gestacional a quimioterapia não causa malformações congénitas, podendo, no entanto, aumentar o risco de aborto, prematuridade, baixo peso à nascença, neutropenia neonatal e sépsis. Por estas razões existem autores relutantes perante o seu uso antes do parto. Por outro lado, a utilização de ATRA durante a gravidez, excluindo-se o primeiro trimestre, é considerada relativamente segura tanto para o feto como para a mãe. Existem descritos casos de arritmia fetal reversíveis e complicações cardíacas ao nascimento, pelo que perante a utilização de ATRA - em monoterapia ou em combinação com antraciclina - é aconselhada a monitorização cardíaca. Para além disso, também na gravidez, a utilização não combinada de ATRA encontra-se associada a um aumento do risco de síndrome de diferenciação, aproximadamente 25%.⁽⁴⁹⁾

O parto eutócico é habitualmente recomendado em detrimento da abordagem cesariana, uma vez que se faz acompanhar por um menor risco hemorrágico. Após o

parto, a amamentação encontra-se contraindicada enquanto a puérpera se encontrar a realizar quimioterapia ou ATO.^(32, 49)

Todas as doentes com LPA que se encontram a realizar terapêutica com ATRA e ATO devem por rotina ser aconselhadas a evitar a gravidez.

O ATO não poderá ser recomendado em nenhum período gestacional pelo seu elevado potencial teratogénico.⁽⁴⁹⁾

4.5.5.2 LPA relacionada com a terapêutica

Doentes com LPA relacionada com a terapêutica (t-LPA) apresentam prognóstico idêntico à LPA *de novo* e beneficiam da mesma abordagem terapêutica, podendo alcançar igualmente a cura.^(9, 32, 55) Como fatores de risco incluem-se a exposição prévia a quimioterapia com citotóxicos, apresentando maior ênfase os inibidores da topoisomerase II - nomeadamente a epirubicina e a mitoxantrona -, ou a radioterapia (incluindo iodo radioativo) para tratamento de neoplasia prévia.^(9, 49) O carcinoma da mama é de longe a neoplasia primária mais frequente, seguindo-se o linfoma - com maior frequência a variante não Hodgkin.⁽⁴⁹⁾

O intervalo de latência entre a exposição terapêutica e o aparecimento de t-ALP é relativamente curto, inferior a 3 anos, e ocorre tipicamente sem ser precedido por uma fase mielodisplásica. Os achados hematológicos não diferem dos observados na LPA *de novo*.⁽⁴⁹⁾

Em doentes com antecedentes de exposição a antraciclina ou com compromisso da função cardíaca que limite a capacidade para receber tratamento adicional com antraciclina, existem regimes terapêuticos alternativos - como a combinação de ATRA e ATO - que podem ser utilizados com excelentes índices de cura.^(20, 32, 49)

4.5.5.3 Variantes genéticas de LPA

Mais de 90% dos doentes com LPA caracterizam-se geneticamente pela translocação t(15;17)(q22;q12) da qual resulta o gene de fusão *PML-RARA*. Contudo têm sido descritos genes de fusão alternativos, resultando em LMA com translocações

RARA variantes, as quais apresentam diferentes sensibilidades ao tratamento com ATRA.

De uma forma geral, os doentes com genes de fusão alternativos sensíveis a ATRA seguem a abordagem terapêutica acima descrita. Doentes com variantes conhecidas por serem resistentes ao ATRA são submetidas à abordagem terapêutica de indução genérica da LMA. Os genes de fusão alternativos sensíveis ao ATRA são o *NUMA-RARA*, *NPM1-RARA* e *FIP1L1-RARA*.^(32, 49) As variantes resistentes incluem o *STAT5B-RARA* e o *PLZF-RARA*.^(32, 49, 60)

Na presença de anomalias citogenéticas adicionais, nomeadamente a trissomia 8, ou de anomalias moleculares específicas, como a presença de mutações no gene *FLT3*, não se altera o prognóstico nem a estratégia terapêutica.⁽³²⁾

4.5.5.4 Idosos

Diversos grupos de estudo cooperativos demonstraram recentemente que os índices de remissão completa da LPA em doentes mais velhos é igualmente elevada quando comparada com a que se regista nos doentes mais jovens, apresentando-se em torno dos 85%. A recidiva da doença regista-se em 10 a 20% dos casos e a mortalidade precoce ronda os 15%.⁽²⁰⁾ A necessidade de vigilância adicional em faixas etárias mais avançadas assenta no possível risco acrescido de toxicidade decorrente da terapêutica, pelo que os doentes com idade superior a 60 anos devem incorporar regimes de tratamento menos agressivos.^(32, 49)

Apesar da abordagem terapêutica atual apresentar relativamente baixa toxicidade, a taxa de mortalidade em remissão completa varia de menos de 1% em doentes com idade inferior a 60 anos, a 19% em doentes com idade superior a 70 anos. Portanto é razoável projetar estratégias terapêuticas com o objetivo de reduzir a morbimortalidade decorrente da quimioterapia neste grupo de doentes e sobretudo se na presença de importantes comorbilidades que impossibilitem uma terapêutica mais intensiva. Para os doentes mais debilitados que não se encontrem aptos para o tratamento convencional, a gentuzumab ozogamicina poderá ser uma alternativa terapêutica aceitável.⁽⁴⁹⁾

4.5.5.5 Crianças e adolescentes

Os casos pediátricos de LPA apresentam habitualmente fatores de alto risco como contagem leucocitária elevada e variante microgranular (M3v) registrando, pelo contrário, valores de mortalidade precoce inferior aos verificados na população adulta. Já os índices de remissão completa, sobrevivência global e sobrevivência livre de doença são semelhantes aos que se registam nas idades adultas quando sujeitos a tratamento idêntico - exceto em crianças muito novas que podem apresentar maior risco de recidiva.⁽⁶¹⁾

Nas faixas etárias pediátricas o regime terapêutico mais estudado consiste na utilização combinada de ATRA com quimioterapia. Comparativamente à doença na idade adulta, a LPA diagnosticada em idades jovens apresenta mais frequentemente hiperleucocitose. Excluindo este fator, o prognóstico apresenta-se similar. Com o intuito de diminuir o risco de pseudotumor cerebral, a dose de ATRA neste grupo tem sido reduzida para 25 mg/m²/dia sem compromisso dos resultados terapêuticos.^(32, 49, 61)

4.5.6 Considerações importantes

É certo que os protocolos terapêuticos atuais implicam muito menor toxicidade que a decorrente dos regimes de tratamento tradicionais. No entanto, os aliados terapêuticos de que a LPA dispõe atualmente, apesar de altamente eficazes, não são isentos de efeitos adversos. Por este motivo, os clínicos devem estar sensibilizados para a identificação de possíveis complicações decorrentes do tratamento e encontrar-se simultaneamente aptos para uma intervenção adequada.

4.5.6.1 Síndrome de Diferenciação

A síndrome de diferenciação consiste numa importante complicação precoce do tratamento da LPA com ATRA, podendo também ser observada aquando do tratamento com ATO, registando-se em 10 a 25% dos casos de LPA.^(8, 20, 32, 62, 63) Caracteriza-se por edema pulmonar não cardiogénico e consequente falência respiratória com necessidade de entubação e ventilação mecânica.⁽²⁰⁾

Cerca de 50% dos casos de LPA medicados com ATRA desenvolverão síndrome de diferenciação.⁽⁹⁾ O mecanismo subjacente não se encontra ainda bem compreendido mas acredita-se estar relacionado com a libertação de citocinas vasoativas e quimiotáticos pelos promielócitos, à medida que ocorre a rápida diferenciação para neutrófilos. Neste seguimento ocorre uma resposta inflamatória sistémica com síndrome de extravasamento capilar sistémico.^(9, 20, 63)

Habitualmente ocorre nas duas primeiras semanas de indução terapêutica, sobretudo em doentes com contagens iniciais de leucócitos elevadas ($>10 \times 10^9/L$) caracterizando-se por patologia pulmonar com dispneia, infiltrados intersticiais pulmonares, febre inexplicada, edema periférico, ganho ponderal, derrames pleural e/ou pericárdico, hipotensão e falência renal aguda.^(8, 9, 30, 32, 62)

Perante a suspeita de síndrome de diferenciação o uso imediato de quimioterapia e de altas doses de dexametasona podem diminuir o risco de mortalidade para valores inferiores a 1%.⁽⁸⁾ O atraso no início da corticoterapia encontra-se associado a um agravamento do prognóstico, devendo a terapêutica com dexametasona ser iniciada mesmo antes da confirmação diagnóstica.^(9, 20, 62) Para os regimes de ATRA+ATO, a profilaxia com prednisolona a 0.5mg/kg/dia desde o início do tratamento até conclusão da indução terapêutica poderá encontrar-se recomendada. Se o doente desenvolver síndrome de diferenciação, a prednisolona deve ser substituída por dexametasona numa posologia diária de 10 mg 12/12h até à sua resolução, retomando após o tratamento a dose prévia de prednisolona.^(55, 62, 63) A profilaxia é especialmente importante em doentes de alto risco e na presença de coagulopatia.⁽⁸⁾

De acordo com a sintomatologia presente, a terapêutica com ATRA ou ATO deve ser temporariamente descontinuada até à resolução do quadro clínico.^(30, 32, 63) A interrupção do tratamento com ATRA ou ATO encontra-se indicada em doentes com condições clínicas muito precárias ou com grave disfunção pulmonar ou renal, situações que poderão motivar admissão em unidade de cuidados intensivos.⁽⁶²⁾ Uma vez comprometida gravemente a função respiratória, a interrupção do ATRA ou ATO, a leucaferese ou a instituição rápida de quimioterapia não se têm apresentado eficazes.⁽³²⁾

4.5.6.2 Monitorização da terapêutica com ATO

Os efeitos adversos agudos mais comuns aquando da terapêutica com ATO incluem síndrome de diferenciação (7-35%), leucocitose (32-73%), alterações no traçado eletrocardiográfico e toxicidade hepática.^(8, 13) Outros efeitos secundários observados incluem neuropatia periférica leve, alterações gastrointestinais, hipocaliémia, hiperglicemia, neutropenia, trombocitopenia, febre, cefaleias e *rash* cutâneo.

A Síndrome de Diferenciação é o efeito adverso mais grave decorrente da administração de ATO - não aumentando a sua incidência com o uso combinado de ATRA e ATO. A leucocitose secundária à terapêutica com ATO, que se acompanha pelo aumento do risco hemorrágico, ocorre habitualmente em doentes com contagem inicial de leucócitos elevada. Ensaios clínicos recentes recomendam consistentemente a realização de quimioterapia com antraciclina ou hidroxiureia em doentes com leucocitose induzida por ATO, com o intuito de melhorar a coagulopatia e prevenir a síndrome de diferenciação.^(8, 9)

Anomalias no eletrocardiograma (ECG) podem estar presentes. São exemplo o intervalo QT alargado (>450 ms) com potencial risco de disritmias cardíacas, alterações da onda T, taquicardia supraventricular paroxística e taquicardia ventricular tipo *torsade de pointes* potencialmente fatal. As alterações cardíacas podem resultar de alterações hidroeletrólíticas decorrentes do tratamento com ATO, nomeadamente hipocaliémia e hipomagnesémia.⁽⁸⁾

A hepatotoxicidade é frequentemente observada na maioria dos ensaios clínicos com uma incidência de 33 a 75%, sendo significativamente mais elevada nos regimes de tratamento com ATRA e ATO do que nos grupos tratados com ATRA e quimioterapia. A elevação de enzimas hepáticas é relativamente frequente (75%) apresentando-se na maioria dos casos ligeira e reversível - a função hepática é habitualmente restaurada a partir da segunda administração de ATO.⁽⁸⁾

Previamente ao início da terapêutica com ATO é recomendada a realização de um ECG para avaliação de prolongamento do intervalo QT e doseamento de eletrólitos - com especial ênfase Ca^{2+} , K^+ e Mg^{2+} - e de creatinina.⁽⁵⁵⁾

Durante a terapêutica com ATO deve evitar-se a administração concomitante de fármacos que possam prolongar o intervalo QT no ECG pelo risco aumentado de disritmias cardíacas, nomeadamente fluoroquinolonas e azóis.^(9, 55) É importante preservar concentrações de potássio acima de 4 mEq/dL e de magnésio superiores a 1.8 mg/dL; e reavaliar doentes com intervalo QT superior a 450 ou 500 milissegundos – semanalmente durante a indução terapêutica e previamente a cada ciclo de tratamento na fase de pós-remissão.^(9, 55) A monitorização regular do ECG e a manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico são assim requeridas durante o tratamento.⁽⁸⁾

Apesar da monitorização que a terapêutica com ATO requer, o seu perfil de toxicidade tem sido reportado como intermédio e relativamente manejável. Contrariamente ao tratamento com quimioterapia, o ATO parece não se encontrar associado a supressão severa da medula óssea e consequentemente infeções potencialmente fatais.⁽¹³⁾

4.5.6.3 Leucostase

A elevação marcada da contagem leucocitária, devido à rápida diferenciação de um número elevado de células leucémicas induzida pelo ATRA, pode resultar em leucostase, cuja abordagem terapêutica é controversa. Contudo, uma vez que a maioria dos atuais regimes terapêuticos de indução combinam o ATRA com quimioterapia citotóxica, a frequência de hiperleucocitose tem vindo a diminuir.

Os doentes com contagem leucocitária elevada apresentam índices de remissão completa semelhantes aos obtidos por doentes com valores de leucócitos normais ou reduzidos. No entanto, por outro lado, apresentam maior risco de recidiva e encontram-se mais propensos a desenvolver síndrome de diferenciação.⁽³²⁾

4.5.6.4 Pseudotumor cerebral

A hipertensão intracraniana idiopática pode complicar o tratamento da LPA com ATRA. É mais frequente em crianças e adolescentes tratados com ATRA, tendo a sua incidência diminuído nesta população com o uso de doses mais baixas deste composto farmacológico - 25mg/m²/dia. O diagnóstico é sugerido por cefaleias, papiledema e/ou

perda de visão. A avaliação inclui exame físico com visualização do fundo ocular, punção lombar e exames imagiológicos como TC ou RM.

O diagnóstico de pseudotumor cerebral é confirmado pelo aumento da pressão intracraniana, líquido cefalorraquidiano normal e exames de imagem cerebral negativos. Se os sintomas persistirem, as opções terapêuticas incluem descontinuação do tratamento ou redução da dose de ATRA, analgesia e/ou administração de esteróides e acetazolamida.⁽³²⁾

4.5.7 Novos fármacos

A atual abordagem terapêutica da LPA com o ATRA, ATO e antraciclina tem-se provado altamente eficaz ao oferecer à maioria dos doentes um prognóstico favorável, com elevados índices de sobrevivência e com diminuição dos casos de recidiva da doença. Ainda assim, o estudo de novos agentes terapêuticos tem-se continuado até aos dias de hoje, incluindo desde o estudo de novos fármacos, a outras formas ou vias de administração de arsénicos.^(8, 20)

Para a maioria dos doentes que evitam complicações hemorrágicas do quadro clínico inaugural, o impacto da abordagem terapêutica na vida do doente - incluindo dor, dias de hospitalização e sequelas tardias decorrente do uso de citotóxicos - emergiu como um importante impulso para o aperfeiçoamento dos esquemas terapêuticos já existentes.⁽²⁰⁾

No entanto é importante sublinhar que qualquer mudança no tratamento de uma doença que apresenta taxas de cura tão altas como as obtidas pelo esquema terapêutico atual da LPA deve ser muito bem ponderada e abraçada com prudência. As novas propostas terapêuticas devem ficar reservadas para estudos clínicos no âmbito da investigação bem como para doentes não candidatos ou que apresentam resistência aos regimes terapêuticos convencionais.

4.5.7.1 Arsénio via oral

A introdução de formulações orais de arsénio na prática clínica segue a tendência geral que se procura nas áreas da hematologia e oncologia médica em substituir as formulações endovenosas.

Um estudo recente comparou a terapêutica combinada de ATRA com a administração endovenosa de ATO e de ATRA com uma nova formulação para terapêutica via oral de tetrassulfido arsénico (As₄S₄) - os resultados apresentaram-se idênticos com índices de remissão completa, sobrevivência a longo prazo e efeitos adversos semelhantes.^(8, 13, 30, 57)

A formulação oral apresenta diversas vantagens incluindo a eficácia idêntica à formulação endovenosa, maior adesão ao tratamento por se apresentar mais conveniente para os doentes e redução da necessidade de acessos venosos a longo prazo - diminuindo o risco de infeção e de trombose venosa superficial e profunda. Paralelamente, os custos tendem a reduzir ao não necessitar de administração especializada em ambiente hospitalar, antibióticos endovenosos e terapêutica anticoagulante.^(8, 13, 20, 57) No entanto alguns autores defendem que os efeitos adversos da administração *per os*, especialmente a toxicidade gastrointestinal, devem ser melhor considerados e avaliados apropriadamente em detrimento de outros grupos de estudo que consideram ambos os perfis de toxicidade intermédios e idênticos.^(8, 13)

4.5.7.2 Anticorpo monoclonal anti-CD33

Os promielócitos leucémicos apresentam elevada expressão do antigénio CD33 à superfície da membrana celular.^(17, 57) O gemtuzumab ozogamicina, um anticorpo monoclonal anti-CD33, foi aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration*) nos Estados Unidos para o tratamento de doentes com recidiva de LPA. Alguns estudos apresentaram benefícios quando aplicado como agente terapêutico único em doentes com recidiva molecular, assim como na presença de doença avançada; por outro lado, a sua utilização em esquemas combinados com ATRA e ATO provou-se eficaz e segura num estudo piloto realizado em 2009, sugerindo o gemtuzumab como um agente terapêutico de substituição alternativo para os regimes contendo quimioterapia.⁽⁸⁾

Quando aplicado em monoterapia em doentes com recidiva de LPA, estudos relatam uma remissão molecular após a administração de duas doses de cerca de 80%, atingindo os 100% após a terceira dose.⁽¹⁷⁾ O gentuzumab pode ser assim utilizado enquanto agente terapêutico único para doentes com recidiva, com resistência ao ATO e/ou tolerância à quimioterapia devido a doença avançada.⁽⁸⁾

4.5.7.3 Inibidores do FLT3

Os inibidores do FLT3 poderão integrar estratégias terapêuticas futuras na LPA, nomeadamente na terapêutica de manutenção pós-transplante ou mesmo evitar a necessidade de auto-TMO.⁽⁸⁾ No entanto existe ainda a necessidade da sua inclusão em ensaios clínicos de forma a permitir uma melhor avaliação das suas potencialidades terapêuticas na LPA.⁽¹⁷⁾

4.5.7.4 ATRA Lipossomal

O lipo-ATRA foi inicialmente estudado com o intuito de eliminar a quimioterapia do plano terapêutico da LPA. Um estudo realizado em 1997 apresentou um índice de remissão completa de 92% no grupo de baixo-médio risco, contudo no grupo de alto risco a remissão completa registou-se em apenas 38% - muito aquém das restantes alternativas terapêuticas disponíveis. No *follow-up*, 13 anos depois, os autores reportaram 65% de sobrevivência, não se tendo registado neoplasias secundárias ao tratamento. O Lipo-ATRA não é utilizado por rotina, nem se encontra facilmente disponível para aquisição, no entanto pode ser relevante em situações onde o ATRA por via oral não é concretizável.⁽³⁰⁾

4.5.7.5 Tamibaroteno

O tamibaroteno foi desenvolvido e aprovado no Japão previamente à introdução do ATO no plano terapêutico da LPA, para o tratamento de recidivas ou formas refratárias à terapêutica de LPA.⁽³⁰⁾ Trata-se de um retinóide sintético que induz a diferenciação *in vitro* de células de linhagem celular da LPA - NB4 e HL60 - com uma

potência 10 vezes superior à atividade *in vitro* apresentada pelo ATRA. Foram realizados ensaios clínicos com ATRA e tamibaroteno enquanto terapêutica de manutenção combinada em doentes com LPA *de novo*, contudo não demonstraram diferenças estatísticas significativas da sobrevivência livre de doença conseguida com a administração de ATRA. Por outro lado, um estudo mais detalhado dos resultados obtidos, concluiu que nos doentes de alto risco a administração de tamibaroteno permitiu um índice de sobrevivência livre de doença de 87% comparativamente aos 58% alcançados pelo ATRA. Assim, a utilidade deste agente terapêutico permanece com significado indeterminado, podendo apresentar possivelmente um papel terapêutico de manutenção em doentes de alto risco. Necessita de estudos mais aprofundados e alargados.⁽⁵⁷⁾

5 Conclusão

Ao longo dos últimos anos a LPA converteu-se num verdadeiro modelo de aplicação clínica dos conhecimentos moleculares fisiopatológicos. Caracterizada por alterações genéticas recorrentes que comprometem a diferenciação mielóide, apresenta como cunho cariotípico a translocação t(15;17), que condiciona a fusão entre os genes *RARA* e *PML*. Da translocação cromossômica característica resulta uma oncoproteína de fusão com menor sensibilidade aos derivados retinóides, que se traduz fenotipicamente pela infiltração de promielócitos displásicos na medula óssea.

O princípio fundamental do sucesso terapêutico da LPA assenta na descoberta de que doses suprafisiológicas de ATRA permitem superar o bloqueio maturativo e retomar a diferenciação granulocítica - possibilitando uma sobrevivência livre de doença de 80 a 95% quando adequadamente tratada. A introdução do ATRA nos regimes terapêuticos da LPA constituiu inegavelmente um admirável avanço terapêutico para estes doentes. A sua identificação enquanto aliado terapêutico na LPA, ofereceu a longo prazo resultados muito promissores, claramente potenciados após a sua combinação com antraciclinas ou, mais recentemente, com o ATO.

Por outro lado, a atuação do ATO no gene *PML* como alvo terapêutico, culmina na degradação amplificada da oncoproteína de fusão - pelo efeito terapêutico sinérgico com o ATRA - com posterior apoptose, o que poderá consistir numa justificação plausível para os bons resultados terapêuticos obtidos na prática clínica.

Graças a uma melhor compreensão de todos estes mecanismos fisiopatológicos, notáveis progressos terapêuticos converteram a LPA, outrora altamente fatal, numa patologia hemato-oncológica potencialmente curável. A LPA apresenta, hoje, dos melhores prognósticos entre as leucemias mielóides agudas na população adulta, tornando-a numa das histórias de sucesso mais excitantes da medicina moderna.

A diátese hemorrágica à apresentação constitui uma importante barreira à cura da doença. Perante o elevado risco de mortalidade precoce, a LPA deve ser encarada como uma emergência médica. A correta suspeita diagnóstica, suportada pela clínica e por critérios citológicos, e a pronta instituição dos tratamentos de suporte e de diferenciação, constituem orientações chave para o sucesso terapêutico. A confirmação

genética do diagnóstico é imprescindível, contudo nunca deve diferir a intervenção terapêutica dirigida.

O tratamento atual da LPA apresenta caracteristicamente, além da atuação direta no alvo molecular, uma baixa toxicidade, comparativamente aos protocolos terapêuticos aplicados às restantes LMA. Doentes de baixo-médio risco poderão atingir a remissão completa sem recurso a quimioterapia, com esquemas terapêuticos combinados de ATRA e ATO, conseguindo-se diminuir a toxicidade terapêutica sem que com isso se comprometa a eficácia anti-leucémica. Os doentes de alto risco dispõem de regimes terapêuticos personalizados com resultados promissores pela combinação de ATRA, ATO e idarrubicina; contudo neste grupo de risco a abordagem terapêutica encontra-se ainda a ser discutida com o intuito de se diminuir a exposição à quimioterapia - prevenendo-se o seu aperfeiçoamento nos próximos anos.

A monitorização clínica apertada é recomendada dado o risco de complicações decorrentes da terapêutica, nomeadamente a síndrome de diferenciação e possíveis efeitos cardíacos adversos possíveis decorrentes da administração de ATO e de antraciclina.

Hoje, os estudos que se debruçam sobre a abordagem terapêutica da LPA - outrora em busca da remissão completa da doença e cura dos doentes - ambicionam o aperfeiçoamento dos protocolos terapêuticos, não só com o intuito curativo como também de forma a proporcionar uma melhoria da qualidade de vida aos doentes que sobrevivem a esta patologia hemato-oncológica. Desta forma, aspiram a diminuição da toxicidade farmacológica, investem na pesquisa de novos aliados terapêuticos que se mostrem promissores em casos de recidiva ou refratários ao tratamento de primeira linha, e desenvolvem formulações de administração alternativa com o intuito não só de melhorar a *compliance* ao tratamento como também de diminuir as complicações decorrentes da administração endovenosa.

Sabemos que o tratamento da LPA sofreu avanços notórios e incontestáveis, quando a atual abordagem terapêutica, para além da remissão completa da patologia, ambiciona preservar a qualidade de vida dos doentes no período pós-doença - visão que há algumas décadas atrás seria aceite como insensata.

Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Bela Sarmiento, minha orientadora, e ao Dr. José Pedro Carda, meu co-orientador, agradeço pela amizade e disponibilidade que desde logo demonstraram e pelo seu inestimável contributo científico para este trabalho. Grata pela confiança que depositaram em mim e por me motivarem a ser mais e melhor.

À minha família, pela motivação que sempre me souberam dar. Em especial à minha mãe e ao meu pai, que me têm apoiado em todos os passos da minha jornada académica e têm sido o meu pilar nestes anos de curso. Obrigada por acreditarem e investirem em mim.

Por último, mas não menos importante, aos meus melhores amigos, que de tanto tempo abdicaram na minha companhia para que pudesse levar este projeto a bom porto. Fica a vontade de retribuir de alguma forma toda a compreensão e carinho. Ao João Rosa e ao Marco Almeida, por terem sido meus companheiros nesta saga; obrigada pela amizade, constante partilha e apoio incondicional.

Referências Bibliográficas

1. Hoffman R. Hematology : basic principles and practice. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2013. xxxi, 2343 p. p.
2. Porter RS, Kaplan JL. The Merck manual of diagnosis and therapy. 19th ed. Whitehouse Station, N.J.: Merck Sharp & Dohme; 2011. xxxii, 3754 p., 16 p. of plates p.
3. Hoffbrand AV, Moss PAH, Pettit JE. Essential haematology. 6th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2011. xi, 454 p. p.
4. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937-51.
5. Altucci L, Clarke N, Nebbioso A, Scognamiglio A, Gronemeyer H. Acute myeloid leukemia: therapeutic impact of epigenetic drugs. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2005;37(9):1752-62.
6. Wujcik D. Molecular biology of leukemia. *Seminars in oncology nursing*. 2003;19(2):83-9.
7. Lo-Coco F, Cicconi L. History of acute promyelocytic leukemia: a tale of endless revolution. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2011;3(1):e2011067.
8. Li J, Zhu H, Hu J, Mi J, Chen S, Chen Z, et al. Progress in the treatment of acute promyelocytic leukemia: optimization and obstruction. *International journal of hematology*. 2014;100(1):38-50.
9. Watts JM, Tallman MS. Acute promyelocytic leukemia: what is the new standard of care? *Blood reviews*. 2014;28(5):205-12.
10. Breccia M, Lo Coco F. Thrombo-hemorrhagic deaths in acute promyelocytic leukemia. *Thrombosis research*. 2014;133 Suppl 2:S112-6.

11. Ikezoe T. Pathogenesis of disseminated intravascular coagulation in patients with acute promyelocytic leukemia, and its treatment using recombinant human soluble thrombomodulin. *International journal of hematology*. 2014;100(1):27-37.
12. Lo-Coco F, Hasan SK. Understanding the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Best practice & research Clinical haematology*. 2014;27(1):3-9.
13. Lo-Coco F, Cicconi L. What is the standard regimen for patients with acute promyelocytic leukemia? *Current hematologic malignancy reports*. 2014;9(2):138-43.
14. Kampen KR. The discovery and early understanding of leukemia. *Leukemia research*. 2012;36(1):6-13.
15. Greaves MF. *Cancer : the evolutionary legacy*. Oxford: Oxford University Press; 2000. x, 276 p. p.
16. Zhou GB, Zhao WL, Wang ZY, Chen SJ, Chen Z. Retinoic acid and arsenic for treating acute promyelocytic leukemia. *PLoS medicine*. 2005;2(1):e12.
17. Wang ZY, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. *Blood*. 2008;111(5):2505-15.
18. Sirulnik A, Melnick A, Zelent A, Licht JD. Molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukaemia and APL variants. *Best practice & research Clinical haematology*. 2003;16(3):387-408.
19. Degos L. The history of acute promyelocytic leukaemia. *British journal of haematology*. 2003;122(4):539-53.
20. Stein EM, Tallman MS. Provocative pearls in diagnosing and treating acute promyelocytic leukemia. *Oncology*. 2012;26(7):636-41.
21. Yin CC, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE. Recent advances in the diagnosis and classification of myeloid neoplasms--comments on the 2008 WHO classification. *International journal of laboratory hematology*. 2010;32(5):461-76.
22. Rice KL, de The H. The acute promyelocytic leukaemia success story: curing leukaemia through targeted therapies. *Journal of internal medicine*. 2014;276(1):61-70.

23. Pandolfi PP. Oncogenes and tumor suppressors in the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Human molecular genetics*. 2001;10(7):769-75.
24. Park JH, Qiao B, Panageas KS, Schymura MJ, Jurcic JG, Rosenblat TL, et al. Early death rate in acute promyelocytic leukemia remains high despite all-trans retinoic acid. *Blood*. 2011;118(5):1248-54.
25. Nichol JN, Garnier N, Miller WH, Jr. Triple A therapy: the molecular underpinnings of the unique sensitivity of leukemic promyelocytes to anthracyclines, all-trans-retinoic acid and arsenic trioxide. *Best practice & research Clinical haematology*. 2014;27(1):19-31.
26. Joannides M, Mays AN, Mistry AR, Hasan SK, Reiter A, Wiemels JL, et al. Molecular pathogenesis of secondary acute promyelocytic leukemia. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2011;3(1):e2011045.
27. Jurcic JG, Soignet SL, Maslak AP. Diagnosis and treatment of acute promyelocytic leukemia. *Current oncology reports*. 2007;9(5):337-44.
28. Mehdipour P, Santoro F, Minucci S. Epigenetic alterations in acute myeloid leukemias. *The FEBS journal*. 2014.
29. Bernardi R, Scaglioni PP, Bergmann S, Horn HF, Vousden KH, Pandolfi PP. PML regulates p53 stability by sequestering Mdm2 to the nucleolus. *Nature cell biology*. 2004;6(7):665-72.
30. Cull EH, Altman JK. Contemporary treatment of APL. *Current hematologic malignancy reports*. 2014;9(2):193-201.
31. Alimoghaddam K. A review of arsenic trioxide and acute promyelocytic leukemia. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*. 2014;8(3):44-54.
32. Avvisati G. Newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2011;3(1):e2011064.
33. Grimwade D, Biondi A, Mozziconacci MJ, Hagemeijer A, Berger R, Neat M, et al. Characterization of acute promyelocytic leukemia cases lacking the classic t(15;17): results of the European Working Party. *Groupe Francais de Cytogenetique*

Hematologique, Groupe de Francais d'Hematologie Cellulaire, UK Cancer Cytogenetics Group and BIOMED 1 European Community-Concerted Action "Molecular Cytogenetic Diagnosis in Haematological Malignancies". *Blood*. 2000;96(4):1297-308.

34. Sainty D, Liso V, Cantu-Rajnoldi A, Head D, Mozziconacci MJ, Arnoulet C, et al. A new morphologic classification system for acute promyelocytic leukemia distinguishes cases with underlying PLZF/RARA gene rearrangements. *Blood*. 2000;96(4):1287-96.

35. Melnick A, Licht JD. Deconstructing a disease: RARalpha, its fusion partners, and their roles in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 1999;93(10):3167-215.

36. Redner RL. Variations on a theme: the alternate translocations in APL. *Leukemia*. 2002;16(10):1927-32.

37. Slack JL, Waxman S, Tricot G, Tallman MS, Bloomfield CD. Advances in the management of acute promyelocytic leukemia and other hematologic malignancies with arsenic trioxide. *The oncologist*. 2002;7 Suppl 1:1-13.

38. DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer : principles & practice of oncology. 9th ed. Philadelphia, Pa. ; London: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. xlvii, 269 p. p.

39. Breen KA, Grimwade D, Hunt BJ. The pathogenesis and management of the coagulopathy of acute promyelocytic leukaemia. *British journal of haematology*. 2012;156(1):24-36.

40. de la Serna J, Montesinos P, Vellenga E, Rayon C, Parody R, Leon A, et al. Causes and prognostic factors of remission induction failure in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and idarubicin. *Blood*. 2008;111(7):3395-402.

41. Stein E, McMahon B, Kwaan H, Altman JK, Frankfurt O, Tallman MS. The coagulopathy of acute promyelocytic leukaemia revisited. *Best practice & research Clinical haematology*. 2009;22(1):153-63.

42. Sanz MA, Montesinos P. Open issues on bleeding and thrombosis in acute promyelocytic leukemia. *Thrombosis research*. 2010;125 Suppl 2:S51-4.
43. Breccia M, Latagliata R, Cannella L, Minotti C, Meloni G, Lo-Coco F. Early hemorrhagic death before starting therapy in acute promyelocytic leukemia: association with high WBC count, late diagnosis and delayed treatment initiation. *Haematologica*. 2010;95(5):853-4.
44. Kwaan HC. The unique hemostatic dysfunction in acute promyelocytic leukemia. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2014;40(3):332-6.
45. Kwaan HC, Cull EH. The coagulopathy in acute promyelocytic leukaemia--what have we learned in the past twenty years. *Best practice & research Clinical haematology*. 2014;27(1):11-8.
46. Ma G, Liu F, Lv L, Gao Y, Su Y. Increased promyelocytic-derived microparticles: a novel potential factor for coagulopathy in acute promyelocytic leukemia. *Annals of hematology*. 2013;92(5):645-52.
47. Tallman MS. Acute promyelocytic leukemia. *Best practice & research Clinical haematology*. 2014;27(1):1.
48. Sanz MA, Iacoboni G, Montesinos P. Conventional induction and post-remission therapy in APL: have we arrived? *Best practice & research Clinical haematology*. 2014;27(1):33-8.
49. Sanz MA, Grimwade D, Tallman MS, Lowenberg B, Fenaux P, Estey EH, et al. Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2009;113(9):1875-91.
50. Gorczyca W. Acute promyelocytic leukemia: four distinct patterns by flow cytometry immunophenotyping. *Polish journal of pathology : official journal of the Polish Society of Pathologists*. 2012;63(1):8-17.
51. Blanco EM, Curry CV, Lu XY, Sarabia SF, Redell MS, Lopez-Terrada DH, et al. Cytogenetically cryptic and FISH-negative PML/RARA rearrangement in acute promyelocytic leukemia detected only by PCR: an exceedingly rare phenomenon. *Cancer genetics*. 2014;207(1-2):48-9.

52. Dong HY, Kung JX, Bhardwaj V, McGill J. Flow cytometry rapidly identifies all acute promyelocytic leukemias with high specificity independent of underlying cytogenetic abnormalities. *American journal of clinical pathology*. 2011;135(1):76-84.
53. Di Noto R, Mirabelli P, Del Vecchio L. Flow cytometry analysis of acute promyelocytic leukemia: the power of 'surface hematology'. *Leukemia*. 2007;21(1):4-8.
54. Grimwade D, Lo Coco F. Acute promyelocytic leukemia: a model for the role of molecular diagnosis and residual disease monitoring in directing treatment approach in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2002;16(10):1959-73.
55. Acute Myeloid Leukemia: Version 1.2015. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: National Comprehensive Cancer Network.
56. Hecht A, Nowak D, Nowak V, Hanfstein B, Buchner T, Spiekermann K, et al. A molecular risk score integrating BAALC, ERG and WT1 expression levels for risk stratification in acute promyelocytic leukemia. *Leukemia research*. 2015.
57. Coombs CC, Tavakkoli M, Tallman MS. Acute promyelocytic leukemia: where did we start, where are we now, and the future. *Blood cancer journal*. 2015;5:e304.
58. Xiang-Xin L, Lu-Qun W, Hao L, Xiao-Peng H, Fang-Lin L, Ling-Ling W, et al. Clinical study on prospective efficacy of all-trans Acid, realgar-indigo naturalis formula combined with chemotherapy as maintenance treatment of acute promyelocytic leukemia. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*. 2014;2014:987560.
59. Ganzel C, Douer D. Extramedullary disease in APL: a real phenomenon to contend with or not? *Best practice & research Clinical haematology*. 2014;27(1):63-8.
60. Adams J, Nassiri M. Acute Promyelocytic Leukemia: A Review and Discussion of Variant Translocations. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2015;139(10):1308-13.
61. Kutny MA, Gregory J, Jr., Feusner JH. Treatment of paediatric APL: how does the therapeutic approach differ from adults? *Best practice & research Clinical haematology*. 2014;27(1):69-78.

62. Sanz MA, Montesinos P. How we prevent and treat differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 2014;123(18):2777-82.
63. Rego EM, De Santis GC. Differentiation syndrome in promyelocytic leukemia: clinical presentation, pathogenesis and treatment. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2011;3(1):e2011048.