

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Recidiva de Leucemia Promielocítica Aguda

Manuel Fernandes de Castro

M

2018



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA
CASO CLÍNICO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR, UNIVERSIDADE DO PORTO

Recidiva de Leucemia Promielocítica Aguda

Manuel Fernandes de Castro
manuel_cfernandes@live.com.pt

Orientadora: Dr^a Maria Alexandra dos Santos Mota da Silva,
Assistente Graduada de Hematologia do Centro Hospitalar do
Porto

MAIO 2018

Autor: Manuel Fernandes de Castro

Manuel Castro

Orientadora: Dr^a Maria Alexandra dos Santos Mota da Silva

Maria Alexandra dos Santos Mota da Silva

Data: Maio de 2018

Agradecimentos

*À Dr^a. Alexandra Mota por todo o apoio e disponibilidade,
fundamentais à elaboração deste trabalho.*

Resumo

A leucemia promielocítica aguda (LPA) corresponde a um subtipo de leucemia mielóide aguda em que ocorre uma translocação entre os cromossomas 15 e 17 [t(15;17)], que resulta na fusão do gene PML com o gene RARA. A implementação de um esquema terapêutico que integra ácido retinóico e trióxido de arsénio permitiu reduzir drasticamente a taxa de mortalidade na indução de remissão na LPA, convertendo-a numa doença potencialmente curável. Contudo, aproximadamente 10% dos casos recidiva.

Neste artigo é descrito um caso clínico de uma mulher de 31 anos com história de LPA em 2011, que concluiu tratamento em 2013 e se mantém em vigilância no serviço de Hematologia Clínica no Centro Hospitalar do Porto. A doente foi observada em contexto de urgência por sintomatologia hemorrágica grave (gengivorragias e hematomas dispersos pelos membros superiores e inferiores) com 48 horas de evolução e analiticamente com pancitopenia (neutropenia de $1,02 \times 10^3/\mu\text{L}$, anemia ligeira de 11,2 g/dL e trombocitopenia de $40 \times 10^3/\mu\text{L}$). O esfregaço de sangue periférico revelou presença de 10% de células blásticas sem características morfológicas sugestivas de promielócitos, sendo que o mielograma demonstrou a presença de células de origem mielóide com características de imaturidade. O estudo imunofenotípico descreve uma leucemia bifenotípica, no entanto, a avaliação genética detectou a presença de t(15;17), o que permitiu concluir tratar-se de uma recidiva da LPA previamente diagnosticada.

O tratamento e prognóstico de uma leucemia aguda de linhagem mielóide ou linfóide é completamente diferente, contudo, há situações em que o seu diagnóstico é difícil e complexo, como neste caso. Deste modo, o presente artigo tem como principais objetivos compreender a importância do reconhecimento precoce de recidiva de LPA e o papel da integração dos aspectos morfológicos, citogenéticos e imunofenotípicos no seu diagnóstico e na sua abordagem terapêutica.

A elaboração deste artigo é realizada com recurso ao registo clínico disponível no processo da doente no Centro Hospitalar do Porto, e com apoio bibliográfico no motor de busca *PubMed*, sendo avaliados artigos em Português e em Inglês.

Palavras-Chave: Leucemia Promielocítica Aguda; Recidiva; Ácido Retinóico; Recetor Alfa do Ácido Retinóico; Trióxido de Arsénio

Abstract

Acute promyelocytic leukemia is a subtype of acute myeloid leukemia in which a translocation occurs between chromosomes 15 and 17 [t(15;17)], leading to fusion of the PML gene with the RARA gene. With the advent of treatment regimens that include all-trans retinoic acid and trioxide arsenic the mortality rate during induction reduced substantially, therefore converting it in a potentially curable disease. However, about 10% of patients relapse.

This article describes a clinical case of a 31 year old female with an history of acute promyelocytic leukemia in 2011, that concluded treatment in 2013 and was monitored in the Haematology department of Centro Hospitalar do Porto. The patient was seen in the emergency department with a two day history of haemorrhagic symptoms (gum bleeding and scattered haematomas in the upper and lower limbs) and a pancytopenia (neutropenia of $1,02 \times 10^3/\mu\text{L}$, anemia of 11,2 g/dL and trombocytopenia of $40 \times 10^3/\mu\text{L}$). The smear of periferical blood revealed 10% of blast cells without any morphological evidence of promyelocytes and the myelogram revealed immature myeloid cells. Immunophenotyping described a biphenotypic leukemia, however, cytogenetic evaluation was able to identify the presence of t(15;17), which led to the conclusion that it was a relapse of the previously diagnosed leukemia.

Treatment and prognosis of an acute leukemia from a myeloid lineage or from a lymphoid lineage is different, however, in some cases such as this one, diagnosis can be difficult and complex. Therefore, the present article's primary objectives are to understand the importance of early recognition of acute promyelocytic leukemia, as well as the importance of detailed study of morphology, cytogenetics and immunophenotyping in it's diagnosis and treatment.

This article was written using the information available in the patient's clinical record available at Centro Hospitalar do Porto, and with bibliographic support in Portuguese and English using the search engine Pubmed.

Key Words: Acute Promyelocytic Leukemia; Relapse; all-trans-Retinoic acid; Retinoic Acid Receptor alpha; Arsenicals

Lista de Abreviaturas

AIDA: Ácido Retinóico *all-trans* e Idarrubicina
ATO: Trióxido de Arsénio
ATRA: Ácido Retinóico *all-trans*
CHP: Centro Hospitalar do Porto
CID: Coagulação Intravascular Disseminada
Del(7q): Deleção do braço longo do cromossoma 7
Del(20q): Deleção do braço longo do cromossoma 20
FAB: Sistema de Classificação Francês-Americano-Britânico
FISH: Hibridação *in situ* por Imunofluorescência
FLT3: Tirosina cinase 3 do tipo FMS
FLT3-ITD: Tirosina cinase 3 do tipo FMS com duplicação *in tandem*
FLT3-TKD: Tirosina cinase 3 do tipo FMS com mutação do domínio da tirosina cinase
GIMEMA: *Gruppo Italiano per la Malarrie EMatologiche dell'Adulto*
HDAC: Histona Deacetilase
IDA: Idarrubicina
IV: Intravenoso
LPA: Leucemia Promielocítica Aguda
LMA: Leucemia Mielóide Aguda
M3: Variante hipergranular de acordo com o sistema de classificação FAB
M3v: Variante microgranular de acordo com o sistema de classificação FAB
MTX: Metotrexato
OMS: Organização Mundial de Saúde
PO: Per os
PETHEMA: *Programa Espanol para el Tratamiento de las HEmopantias Malignas del Adulto*
PML: Gene e proteína promielocítica
PML-RARA: Gene e oncoproteína que resultam da translocação entre os cromossomas 15 e 17
RARA: Recetor Alfa do Ácido Retinóico
RT-PCR: *Polymerase Chain Reaction* por transcriptase reversa
RXR: Recetor Retinóide X
SD: Síndrome de Diferenciação
t(15;17): Translocação entre os cromossomas 15 e 17
6-MP: 6- Mercaptopurina

Índice	
1. Introdução	1
2. Descrição do Caso Clínico	1
3. Epidemiologia	3
4. Etiopatogenia	4
5. Apresentação clínica e laboratorial	4
6. Diagnóstico	5
6.1. <i>Morfologia</i>	5
6.2. <i>Imunofenotipagem</i>	6
6.3. <i>Citogenética e Biologia Molecular</i>	7
7. Tratamento	7
7.1. <i>Abordagem inicial</i>	7
7.2. <i>Antraciclinas, Ácido Retinóico e Trióxido de Arsénio</i>	7
7.3. <i>Efeitos adversos</i>	9
8. Recidivas	9
9. Prognóstico	10
10. Discussão	11
11. Conclusões	13
Apêndices	14
<i>Tabela I - Estratificação de risco na LPA</i>	14
<i>Tabela II - Recomendações para a abordagem inicial de LPA</i>	15
<i>Tabela III - Esquemas de tratamento estratificado por categoria de risco</i>	16
<i>Figura 1 - Fisiopatologia da oncoproteína PML-RARA</i>	17
Bibliografia	18

1. Introdução

A implementação de esquemas de tratamento tendo por base ácido retinóico *all-trans* (ATRA) e mais recentemente a inclusão de trióxido de arsénio (ATO), permitiu reduzir drasticamente a taxa de mortalidade na leucemia promielocítica aguda (LPA), convertendo-a numa doença potencialmente curável.⁽¹⁾ Contudo, as principais causas de falência terapêutica são a morte precoce e a recidiva, sendo fundamental o seu reconhecimento de forma a prevenir complicações hemorrágicas e garantir uma abordagem terapêutica adequada.⁽²⁾

No presente artigo é descrito um caso clínico de uma recidiva de LPA com morfologia atípica, o que representou dificuldades diagnósticas, com necessidade de integração dos diferentes aspetos morfológicos, imunofenotípicos e citogenéticos no seu estudo.

2. Descrição do Caso Clínico

Doente do sexo feminino de 31 anos, caucasiana, a quem em Maio de 2011 foi diagnosticada leucemia promielocítica aguda variante microgranular, com mielograma a evidenciar 77% de promielócitos de morfologia atípica (hipogranulados, núcleos irregulares e bilobados). A doente foi submetida a tratamento segundo o protocolo PETHEMA (Indução: idarrubicina e ATRA; Consolidação: idarrubicina, ATRA e mitoxantrona; Manutenção: ATRA, metotrexato e 6-Mercaptopurina), tendo terminado a manutenção em Setembro de 2013 com remissão molecular. Manteve-se em vigilância clínica e laboratorial no serviço de Hematologia Clínica no Centro Hospitalar do Porto (CHP).

Em Novembro de 2015 e Abril de 2017 teve dois partos eutócicos cujas gestações decorreram sem intercorrências.

Em 22/08/2017 é observada no serviço de urgência do CHP por queixas hemorrágicas graves (gengivorragias e hematomas dispersos pelos membros superiores e inferiores) com 48 horas de evolução, sem outras queixas associadas, nomeadamente astenia, anorexia, perda ponderal, sudorese noturna ou febre.

Ao exame físico, apresentava-se consciente e orientada, hemodinamicamente estável, sem sinais de dificuldade respiratória e sem alterações ao exame físico abdominal, não havendo outra sintomatologia hemorrágica para além da referida, nomeadamente bolhas hemorrágicas na cavidade oral, epistaxis, hematemeses ou hematúria. Analiticamente, apresentava hemograma com pancitopenia (leucopenia de

1,67×10³/μL com neutropenia de 1,02×10³/μL, anemia ligeira de 11,2 g/dL e trombocitopenia de 40×10³/μL), função renal preservada (creatinina de 0,66mg/dL e ureia 32 mg/dL), PCR de 4,14 mg/L e estudo da coagulação normal (tempo de tromboplastina parcial ativada de 26,9s, N=26,9s, tempo de protrombina de 12,4s, N=11,4s, INR de 1,11 e fibrinogénio de 3,8 g/L).

No estudo do sangue periférico destaca-se a presença de 10% de células blásticas, mieloperoxidase positivas, sem características morfológicas sugestivas de promielócitos. Em face das alterações encontradas e perante a suspeita de uma recidiva de LPA, leucemia secundária ao tratamento ou de síndrome mielodisplásico, a doente é admitida para internamento no serviço de Hematologia Clínica para estudo complementar, onde permaneceu internada no período de 23/08/2017 a 18/09/2017.

O estudo morfológico da medula óssea revelou a presença de 41% de células blásticas, com citoplasma basofílico, sem evidência de grânulos ou de bastonetes de Auer, núcleos de contornos irregulares e positividade para mieloperoxidases, pelo que foi proposto o diagnóstico de Leucemia Mielóide Aguda (LMA) do tipo M2. O estudo imunofenotípico demonstrou blastos a expressar CD13 incerto; CD15, CD45, CD65 e HLA-DR negativos; nTDT fracamente positivo; CD33, CD117, mieloperoxidase positivos e uma expressão aberrante de CD2 e CD56, aspetos compatíveis com o diagnóstico de leucemia aguda bifenotípica. O cariótipo de medula óssea obtido por técnicas de bandas G foi normal (46,XX).

Atendendo à disparidade entre os dados da morfologia e imunofenotipagem e à ausência de alterações cromossómicas específicas por citogenética convencional, foi pedida a pesquisa de t(15,17) por técnicas de FISH (hibridação *in situ* por imunofluorescência), cujo resultado foi positivo para a referida translocação e identificou alterações citogenéticas adicionais com deleção do braço longo dos cromossomas 7 e 20 [del(7q) e del(20q)], o que permitiu concluir tratar-se de uma recidiva da LPA previamente diagnosticada.

Durante o internamento verifica-se um agravamento progressivo dos parâmetros hematológicos com aumento da percentagem de blastos (45% de blastos, neutropenia de 0,59×10³/μL, anemia de 8,3g/dL e trombocitopenia de 26×10³/μL), com necessidade de suporte transfusional de glóbulos vermelhos e de plaquetas, no entanto sem agravamento clínico, sem outra sintomatologia hemorrágica para além da referida anteriormente, sem agravamento da função renal e do estudo da coagulação (tempo de tromboplastina parcial ativada de 27,7s, N=27,6s, tempo de protrombina de 11,3s, N=11,0s, INR de 1,03 e fibrinogénio de 3,77 g/L).

A dificuldade no diagnóstico levou a que o tratamento apenas se iniciasse nove dias após o internamento, tendo iniciado ATO por via intravenosa a 01/09/2017. O

tratamento decorreu sem efeitos adversos, nomeadamente sem síndrome de diferenciação.

Nos primeiros dez dias de tratamento verificou-se uma melhoria progressiva da clínica hemorrágica e uma ligeira melhoria dos parâmetros hematológicos (leucócitos de $5,24 \times 10^3/\mu\text{L}$ com neutropenia de $0,31 \times 10^3/\mu\text{L}$, anemia de 7,7g/dL e trombocitopenia de $44 \times 10^3/\mu\text{L}$), acompanhado de diferenciação dos promielócitos com redução dos mesmos (28%) e de blastos (27%) no sangue periférico.

Ao quarto dia de tratamento (estando ainda neutropénica) a doente desenvolve um quadro de infeção do catéter venoso central com bacteriémia por *S. aureus*, pelo que inicia antibioterapia intravenosa com piperacilina e tazobactan durante dois dias seguido de vancomicina.

Considerando a evolução clínica favorável sem outras intercorrências, com desaparecimento da clínica hemorrágica e tendo em conta o bom apoio familiar, o impacto emocional do diagnóstico de uma recidiva de LPA quatro meses após o nascimento do segundo filho e a proximidade de residência ao hospital, optou-se por continuar o tratamento com administração de ATO em hospital de dia. Analiticamente à data de alta apresenta um aumento gradualmente lento de leucócitos ($7,43 \times 10^3/\mu\text{L}$) e plaquetas ($68 \times 10^3/\mu\text{L}$), com diminuição de promielócitos (19%) e blastos (10%) no sangue periférico. Como medicação a fazer no domicílio, alprazolam 0,5 mg administrado duas vezes por dia, lorazepam 1 mg uma vez por dia antes de deitar e paracetamol 1000 mg se apresentar queixas de dor ou de febre.

O tratamento com ATO decorre sem intercorrências alcançando remissão morfológica em Outubro de 2017, tendo iniciado tratamento de consolidação com ATO e ATRA que terminou em Novembro de 2017, com remissão molecular documentada em Dezembro do mesmo ano. Em Março de 2018 é submetida a transplante autólogo de células progenitoras hematopoiéticas, o qual decorreu sem complicações.

3. Epidemiologia

A Leucemia Promielocítica Aguda é uma doença rara, correspondendo a cerca de 5-10% dos casos de LMA e com uma incidência anual estimada de 0,1/100 000 no Ocidente.⁽³⁾ Afeta predominantemente adultos entre os 20 e os 59 anos de idade e não existem diferenças na distribuição por sexo. Em algumas regiões como a América Central e do Sul a sua incidência é maior, contudo, a hipótese de contribuição genética na distribuição geográfica da LPA é controversa.^(4, 5)

4. Etiopatogenia

Caracteriza-se pela translocação recíproca entre os cromossomas 15 e 17 [t(15;17)(q22;q12)], da qual resulta a fusão do gene PML com o gene RARA (Recetor Alfa do Ácido Retinóico).^(3, 6) Esta translocação está presente em cerca de 90% dos casos de LPA⁽⁶⁾, contudo, outras translocações cromossómicas que envolvem o gene RARA devem ser consideradas, tais como PZLF-RARA^(6, 7), NPM-RARA^(6, 7), NuMA-RARA^(6, 7), STAT5b-RARA⁽⁶⁾ e BCOR-RARA⁽⁶⁾. Estas translocações têm importância clínica por permitirem prever a resposta ao tratamento com ATRA, uma vez que PZLF-RARA e STAT5b-RARA são resistentes ao tratamento, e NPM-RARA, NuMA-RARA, BCOR-RARA são sensíveis ao tratamento, sendo a última alteração associada a uma maior taxa de recidiva.^(6, 8)

A oncoproteína PML-RARA que resulta da t(15;17) é responsável pelo bloqueio na diferenciação da linhagem mielóide no estadio dos promielócitos (**figura 1**).⁽⁸⁾ O gene PML é essencial em várias vias da apoptose e está implicado no controlo da estabilidade do genoma. No núcleo, a proteína PML encontra-se sob a forma de corpos nucleares que interagem com outras proteínas, tais como a p53. Na LPA ocorre uma quebra neste gene em três pontos distintos: no intrão 6, no exão 6 no intrão 3, e a sua inativação é responsável pelo aumento da resistência à apoptose, aumento do crescimento celular e desregulação da senescência celular.⁽⁴⁾

O RARA é maioritariamente expresso nas células hematopoiéticas e tem um papel importante na regulação da expressão génica.⁽⁵⁾ Estruturalmente este recetor é composto por seis domínios funcionais, dos quais cinco são preservados na t(15;17).⁽⁴⁾ Na ausência de ATRA, o RARA forma heterodímeros com o recetor retinóide X (RXR) permitindo a ligação ao seu fator co-repressor nuclear com conseqüente recrutamento do complexo co-repressor.^(4, 5) Este processo culmina na condensação da cromatina por ligação do complexo às histonas deacetilases (HDACs) e conseqüente repressão da transcrição. Na LPA, o RARA liga-se fortemente ao fator co-repressor nuclear e às HDACs, pelo que níveis fisiológicos de ATRA não são suficientes para permitir a ativação dos genes. Na presença de ATRA em níveis terapêuticos, os genes são ativados garantindo a diferenciação dos promielócitos.⁽⁵⁾

5. Apresentação clínica e laboratorial

Clinicamente manifesta-se com sintomas constitucionais, tais como febre, fadiga, perda de apetite e perda ponderal.⁽⁴⁾ Caracteristicamente, associa-se a um estado de coagulação intravascular disseminada (CID), que varia desde hemorragias mucocutâneas

ligeiras a hemorragias pulmonares e intracranianas severas com risco para a vida do doente e, mais raramente, pode levar a fenómenos trombóticos.⁽³⁾

São conhecidos pelo menos três fatores envolvidos no aumento da atividade fibrinolítica na LPA.^(5, 8) A expressão de fator tecidual, que forma complexo com o fator VII que por sua vez promove a ativação dos fatores IX e X favorecendo um estado de pro-coagulação,⁽⁸⁾ a expressão do fator pró coagulante neoplásico que promove ativação do fator X, e o aumento da expressão do receptor da anexina II, que se liga ao plasminogénio, promovendo a sua conversão em plasmina.⁽⁵⁾

Comparativamente com outros tipos de LMA, a evidência de hepatoesplenomegalia nestes doentes é pouco comum e o envolvimento do sistema nervoso central é raro.⁽⁵⁾ Um hemograma completo geralmente revela pancitopenia, que traduz uma insuficiência do sistema hematopoiético, e que pode corresponder à primeira forma de apresentação da doença. A maioria dos doentes apresenta alteração no estudo da coagulação, com aumento do tempo de protrombina, do tempo de tromboplastina parcial ativada e do tempo de trombina.^(4, 9)

A CID é responsável por 10 a 20% dos casos de morte precoce na LPA, sendo que o risco de hemorragia é maior em doentes com variante microgranular. Deste modo, o tratamento com ATRA associado a tratamento de suporte antes de confirmação citogenética ou molecular definitiva é importante de forma a garantir uma melhoria rápida da sintomatologia e prevenir complicações.⁽⁵⁾

6. Diagnóstico

O diagnóstico não só requer uma história clínica completa e detalhada, bem como um exame físico completo e o recurso a métodos complementares de diagnóstico.

A contagem de plaquetas ($< \text{ou} > 40 \times 10^9/\text{L}$) e de leucócitos ($> 10 \times 10^9/\text{L}$) no momento do diagnóstico permite classificar a LPA de acordo com a sua gravidade em baixo/intermédio risco ou alto risco (**tabela I**). Contudo, não é claro se uma classificação de alto risco representa uma fase mais avançada da doença ou um subgrupo da doença biologicamente distinto.⁽¹⁰⁾

6.1. Morfologia

De acordo com a classificação mais recente da Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2016, o diagnóstico inicial de uma neoplasia mielóide deve-se basear no estudo do sangue periférico e de medula óssea. Deve-se recorrer ao estudo morfológico,

imunofenotípico e citogenético para estabelecer a linhagem de células afetadas e determinar o seu grau de maturação. A evidência da presença de 20% ou mais de blastos no estudo de sangue periférico ou de medula óssea deve ser classificada como uma leucemia mielóide aguda. Este valor de referência não é mandatório, pelo que todas as decisões terapêuticas devem-se basear na situação clínica do doente. Em alguns casos, tal como na LPA, estão associadas alterações cromossómicas específicas e o seu diagnóstico pode ser feito independentemente das contagens de blastos. De acordo com a OMS, a LPA é classificada como leucemia promielocítica aguda com PML-RARA.^(11, 12)

Por sua vez, de acordo com o sistema de classificação Francês-Americano-Britânico (FAB) as leucemias mielóides agudas são classificadas em 8 tipos diferentes, sendo a LPA classificada como LMA-M3 com base nas suas características morfológicas, percentagem e maturação de mieloblastos.⁽¹³⁾ São reconhecidos por este sistema de classificação dois subtipos morfológicos principais. O tipo hipergranular (M3) corresponde a cerca de 70-80% dos casos e caracteriza-se pela presença de promielócitos com evidência de grânulos azurófilos citoplasmáticos e expressão proeminente de bastonetes de Auer. A variante microgranular (M3v) corresponde a cerca de 20-30% dos casos de LPA e caracteriza-se morfológicamente por apresentar menos grânulos citoplasmáticos do que a variante M3 e a presença de bastonetes de Auer é incomum, pelo que o seu diagnóstico pode ser difícil dada a inespecificidade da sua morfologia.^(5, 7, 13)

6.2. Imunofenotipagem

Num indivíduo saudável os mieloblastos expressam os marcadores hematopoiéticos CD34, HLA-DR, CD117, CD38, CD13 e CD33. Comparativamente com outros tipos de LMA, os promielócitos na LPA geralmente apresentam uma expressão baixa ou ausente de CD34, ausência de HLA-DR e expressão de CD117, acompanhado da expressão de marcadores de linhagem mielóide, tais como a mieloperoxidase, CD13 e CD33. Outros marcadores podem apresentar-se com expressão reduzida, tais como CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD45RO, CD105 e CD133.^(14, 15)

A expressão dos marcadores CD34 (antígeno presente nas células progenitoras), CD56 (molécula de adesão neuronal) e de CD2 (antígeno de células T) parece estar associado a pior prognóstico e a maior risco de recidiva na LPA, estando a sua expressão associada a um aumento na contagem de leucócitos.⁽¹⁶⁾

6.3. Citogenética e Biologia Molecular

Atualmente os métodos para deteção de t(15;17) incluem a citogenética convencional, técnicas de FISH e RT-PCR (*polimerase chain reaction* por transcriptase reversa). O estudo citogenético convencional para obter o cariótipo com base nas bandas G permite identificar subtipos raros tais como t(5;17) e t(11;17), contudo a técnica exige uma boa qualidade de metafases e geralmente está associada a maior número de falsos negativos. A técnica de FISH é altamente específica e mais rápida que a citogenética convencional, contudo não fornece informação precisa acerca da isoforma detectada de PML-RARA. A técnica RT-PCR para estudo molecular é considerada *gold standard* por permitir o diagnóstico exacto da isoforma de PML-RARA, avaliar a resposta ao tratamento e monitorização da doença mínima residual. ^(3, 5)

7. Tratamento

7.1. Abordagem inicial

Apesar dos avanços no tratamento da LPA, a morte precoce permanece como principal causa de falência terapêutica, mais frequentemente devida a complicações hemorrágicas, infeção ou Síndrome de Diferenciação (SD). Desta forma, perante um elevado grau de suspeição de LPA, a abordagem inicial requer o início do tratamento com ATRA e/ou ATO de forma a garantir uma reversão eficaz dos sinais de coagulopatia de consumo e diminuição da gravidade das hemorragias. Também se deve proceder à monitorização e reposição dos elementos do sangue, como fibrinogénio e plaquetas, de forma a corrigir a coagulopatia. O uso de agentes anti-coagulantes e anti-fibrinolíticos deve ser limitado numa primeira abordagem. ^(17, 18)

As recomendações para a abordagem inicial a um doente com LPA podem ser consultadas com melhor detalhe na **tabela II**. ⁽³⁾

7.2. Antraciclinas, Ácido Retinóico e Trióxido de Arsénio

Inicialmente apenas 6 a 14% dos casos atingiam remissão, pelo que a vasta maioria dos doentes morria ao fim de quatro semanas. O primeiro grande avanço na abordagem da LPA verificou-se com a introdução de quimioterapia à base de antraciclinas. A sua eficácia é dose dependente e permitiu alcançar taxas de remissão entre os 55 e os 88%, com 35 a 45% dos doentes a alcançar remissão prolongada. ⁽¹⁹⁾

O conceito de terapia de diferenciação surge de uma compreensão mais profunda dos mecanismos etiológicos da doença, nos quais se destaca a função da oncoproteína

PML-RARA, que promove o bloqueio da transcrição dos genes envolvidos na diferenciação mielóide.⁽¹⁹⁾ O recurso ao tratamento com ATRA em doses farmacológicas permite ligação à porção RARA da oncoproteína, degradando-a e garantindo a diferenciação celular.^(20, 21) A eficácia do tratamento permitiu alcançar taxas de remissão em mais de 90% dos casos, no entanto, o seu uso em monoterapia não é eficaz na indução de remissão prolongada, com elevadas taxas de recidiva ao fim de 6 meses.⁽¹⁹⁾ De acordo com este facto, os regimes de indução para novos doentes passaram a incluir ATRA e uma antraciclina (com ou sem citarabina), sendo as antraciclinas mais usadas a idarrubicina (IDA) e a daunorrubicina. Mais recentemente, a citarabina foi removida dos regimes de indução, sem um impacto negativo no tratamento.⁽¹⁸⁾

O *Gruppo Italiano per la Malarrie EMatologiche dell'Adulto* (GIMEMA) e o *Programa Espanol para el Tratamiento de las HEmopatias Malignas del Adulto* (PETHEMA) realizaram ensaios clínicos com regimes de indução com AIDA (ATRA e IDA), com taxas de remissão completa superiores a 90% e menor taxa de recidiva.⁽²²⁾ De facto, o tratamento com ATRA em regime combinado com antraciclinas é extremamente eficaz e permitiu alcançar taxas de remissão até 95%, com remissão prolongada superior a 80%.⁽²³⁾ Contudo, acarreta elevada toxicidade, incluindo mielossupressão, e leva a recidiva em cerca de 20% dos casos.⁽²¹⁾ O uso de ATRA durante o tratamento de consolidação é recomendado uma vez que visa alcançar a remissão molecular e deste modo, reduzir as recidivas.⁽²²⁾

A introdução recente de ATO revolucionou o tratamento da LPA, com taxas de remissão prolongada superiores a 90% em doentes em recidiva após tratamento com ATRA e quimioterapia.⁽¹⁹⁾ O ATO liga-se à porção PML da oncoproteína PML-RARA, degradando-a. Este fenómeno promove a diferenciação parcial dos promielócitos em doses mais baixas ou a sua apoptose em doses mais elevadas.^(21, 23) O uso de ATO demonstrou ser eficaz e sinérgico ao uso de ATRA em doentes com diagnóstico de novo e em recidivas, e foi associado a menor toxicidade hematológica, em particular a mielossupressão e o risco de leucemia secundária. Deste modo, o seu uso é considerado uma alternativa eficaz ao tratamento com regimes que englobam quimioterapia.^(20, 22, 23) De facto, um estudo que compara a eficácia entre o uso de ATRA combinado com ATO e o uso de ATRA combinado com quimioterapia durante a indução e a consolidação, demonstrou que a primeira combinação não é inferior, e possivelmente será superior ao tratamento com ATRA e quimioterapia em doentes de baixo/intermédio risco. Deste modo, a combinação entre ATO e ATRA é atualmente considerada o melhor regime de tratamento nestes doentes.^(20, 21, 23) O tratamento com ATO em doentes de alto risco demonstrou piores resultados comparativamente ao uso de ATRA em associação com antraciclinas, pelo que a otimização terapêutica e a prevenção de morte precoce nestes

doentes continua a representar um desafio.⁽¹⁸⁾ A prevenção de hiperleucocitose durante o tratamento deve ser feita através da administração de hidroxiureia oral quando o valor de leucócitos for superior ou igual a $10 \times 10^9 /L$.⁽²⁴⁾

Alguns exemplos de regimes de tratamento estratificado de acordo com o risco podem ser consultados na **tabela III**.⁽¹⁹⁾

7.3. Efeitos adversos

Cerca de 20% dos doentes desenvolve uma síndrome clínica em consequência ao tratamento com ATRA conhecida como SD, que advém da diferenciação mielóide e de um estado inflamatório geral. Mais recentemente, o uso de ATO também foi implicado no desenvolvimento desta síndrome.⁽¹⁰⁾ Clinicamente pode manifesta-se por febre inexplicada, hipotensão, ganho ponderal, sinais de dificuldade respiratória, infiltrados pulmonares, efusão pericárdica e insuficiência renal. O seu tratamento deve ser feito com recurso a corticosteróides por via intravenosa em alta dose até à resolução da síndrome.^(10, 19) Tendo em conta o facto de que se o SD não for detetado precocemente pode levar a desfecho fatal, o uso profilático de corticoterapia é recomendado.⁽²⁵⁾

O uso de ATO foi associado a um prolongamento do intervalo QT no eletrocardiograma, e a um efeito hepatotóxico com alteração da função hepática que é controlada com recurso a ajuste da dose administrada.⁽²³⁾ Deste modo, doentes a fazer tratamento com ATO devem fazer monitorização electrocardiográfica regular devido ao risco de disritmias, e deve-se evitar o uso de fármacos que prolonguem o intervalo QT, tais como azóis e fluoroquinolonas.⁽¹⁸⁾ Outros efeitos adversos incluem manifestações gastrointestinais (diarreia, anorexia, desconforto abdominal, náuseas e vómitos) e lesões cutâneas (eritema). No entanto, de um modo geral o ATO é bem tolerado e os seus efeitos adversos facilmente controlados e reversíveis, sendo que diferenças individuais na resposta ao tratamento se devem à sua acumulação, detoxificação e excreção, bem como à suscetibilidade e tolerância de cada doente em relação ao seu efeito tóxico.⁽²⁴⁾

8. Recidivas

O tratamento da LPA tem como objetivo a remissão molecular, desta forma, a pesquisa de PML-RARA por técnicas de RT-PCR após a conclusão do tratamento de consolidação e manutenção permite a detecção precoce de recidivas. Um estudo do grupo PETHEMA sugere que doentes tratados com diagnóstico de recidiva molecular apresentam melhores resultados quando comparados com recidivas morfológicas, embora esta informação não seja consensual.⁽¹⁸⁾

A recidiva molecular deve ser considerada perante a evidência de dois resultados positivos consecutivos com RT-PCR num intervalo mínimo de duas semanas.⁽⁴⁾ Doentes classificados como sendo de alto risco têm maior taxa de recidiva comparativamente com os de baixo e intermédio risco. Contudo, com novos regimes a incluir ATO no tratamento da LPA de novo, o número de recidivas tem vindo a diminuir.^(26, 27)

O uso de ATO em monoterapia como primeira linha nas recidivas é bem tolerado e associa-se a maior taxa de resposta⁽²⁸⁾, com remissão a alcançar os 80 a 90% dos doentes e uma sobrevivência de 50 a 70% em 1 a 3 anos. Após a remissão completa de recidiva, a melhor abordagem é a realização de um transplante autólogo de células progenitoras hematopoiéticas para consolidação do tratamento, enquanto noutros casos devem ser considerados ciclos repetidos de ATO com ou sem quimioterapia. O transplante autólogo em doentes jovens com recidiva permite melhores taxas de cura, com uma sobrevida livre de doença até 50 a 70% num período de 5 anos.^(18, 20) De facto, após resposta molecular, a consolidação com transplante autólogo leva a uma resposta superior à obtida com transplante alogénico ou com regimes de manutenção à base de ATO e ATRA.⁽²⁸⁾

9. Prognóstico

Atualmente, a LPA ainda se associa a uma elevada incidência de fenómenos hemorrágicos que resultam em morte durante o tratamento de indução, mais frequentemente em doentes de alto risco. Além deste facto, a infeção e o SD são também causas comuns de mortalidade durante o período de indução. A expressão dos antígenos CD2, CD34 e CD56 e a nível molecular a presença de mutações FLT3-ITD (FLT3 com duplicação *in tandem*) está associada a leucocitose e permite auxiliar a identificação dos doentes com elevado risco de recidiva.⁽¹⁶⁾ Quando não submetidos a tratamento, a sobrevida dos doentes com LPA é inferior a um mês, no entanto, o prognóstico é favorável, com a maioria dos doentes a atingir remissão completa a longo termo quando tratados, e é superior comparativamente com outros subtipos de LMA. Nos casos em que há recidiva a sobrevida média é de um a três anos.⁽²⁹⁾

Várias alterações cromossómicas adicionais foram identificadas em doentes com LPA, sendo que as duas principais alterações são a trissomia 8 e a deleção do braço longo do cromossoma 7 [del(7q)].^(30, 31) A evidência de um cariótipo complexo com duas ou mais alterações cromossómicas foi associada a pior prognóstico, com menor taxa de remissão completa. Contudo, um estudo sugere que administração precoce de ATO permite suplantar os efeitos negativos de um cariótipo complexo.⁽³²⁾

O FLT3 (tirosina cinase 3 do tipo FMS) corresponde a um receptor transmembranar da tirosina cinase envolvido na proliferação celular.⁽⁶⁾ Verifica-se uma incidência aumentada de mutações da FLT3 na LPA, nomeadamente as mutações FLT3-ITD e FLT3-TKD (FLT3 com mutação do domínio da tirosina cinase). Uma carga elevada de mutações FLT3-ITD foi associada a pior prognóstico e maior taxa de recidiva, sobretudo pela maior frequência de eventos trombóticos, aumento da contagem leucocitária para valores superiores a 10×10^9 /L, fenótipo de células imaturas com expressão de CD34 e CD2 e por se associar ao subtipo microgranular (M3v).^(16, 33) A presença destas mutações foi associada a um risco aumentado de morte durante a indução em adultos e crianças, no entanto, os efeitos destas mutações no prognóstico da doença é inconsistente e parece estar dependente do regime de tratamento adotado. O tratamento com ATRA em associação com quimioterapia foi associado a menores taxas de sobrevida. Recentemente, com a adição de ATO nos esquemas de tratamento parece ter sido ultrapassado o impacto das mutações FLT3 na sobrevida destes doentes.⁽¹⁹⁾

A variante M3v está associada a características como aumento da expressão de CD2 e CD34, fenómenos de hiperleucocitose e mutações do tipo FLT3-ITD, e está descrito o seu prognóstico menos favorável durante a indução de remissão comparativamente com o subtipo M3. Esta diferença pode ser explicada pela frequência de fenómenos hemorrágicos, sobretudo hemorragia intracraniana, superior em 50% ao observado no subtipo M3. Contudo, o desfecho não parece ser diferente comparativamente entre ambos os subtipos, pelo que parece haver maior influência na remissão completa pelas contagens de leucócitos do que propriamente pela sua morfologia específica. Tendo em conta este facto, a variante M3v não é considerada por si só um fator independente de prognóstico, pelo que de momento não há indicação para modificação no tratamento destes doentes com base apenas na morfologia dos promielócitos.⁽³⁴⁾

10. Discussão

O caso clínico reflete uma situação de recidiva de LPA variante microgranular (M3v) com evolução clínica típica com queixas hemorrágicas e pancitopenia, no entanto a doente apresenta-se com um estudo morfológico do sangue periférico atípico (10% de células imaturas sem características sugestivas de promielócitos) e estudo da coagulação normal.

Atendendo ao quadro clínico da doente e às alterações observadas no hemograma foram consideradas várias hipóteses de diagnóstico: recidiva de LPA, leucemia secundária ao tratamento ou síndrome mielodisplásico, pelo que a doente foi

admitida no internamento do serviço de Hematologia Clínica do CHP para investigação e tratamento.

O mielograma permitiu identificar 41% de células blásticas, sem grânulos ou bastonetes de Auer e com expressão de mieloperoxidases, pelo que foi proposto o diagnóstico de uma leucemia mielóide aguda do tipo M2 (FAB). De facto, está descrito que a ausência de bastonetes de Auer na LPA pode causar dificuldades no diagnóstico morfológico e levar a que a mesma se confunda com outros tipos de leucemia, como a LMA tipo M2 ou M5 (FAB).⁽⁷⁾

Atendendo à disparidade entre os dados da morfologia, da imunofenotipagem que descreve uma leucemia bifenotípica e à ausência de alterações cromossómicas específicas na citogenética convencional, foi pedida a pesquisa de t(15,17) por técnicas de FISH, cujo resultado foi positivo para a referida translocação e identificou alterações citogenéticas adicionais com del(7q) e del(20q), o que permitiu concluir tratar-se de uma recidiva da LPA previamente diagnosticada.

A dificuldade no diagnóstico; discrepância entre os vários resultados laboratoriais; estudo da coagulação normal e clínica hemorrágica atribuída à trombocitopenia, levou a que o tratamento apenas se iniciasse nove dias após o internamento. No entanto, não se verificou nenhuma alteração do estado clínico da doente, nomeadamente exacerbação da clínica hemorrágica, sendo que somente se verificou um agravamento dos parâmetros hematológicos até iniciar o tratamento com ATO. Após iniciar tratamento, verificou-se uma melhoria progressiva da clínica hemorrágica e foi possível uma melhoria lenta e gradual dos parâmetros hematológicos com a diferenciação dos promielócitos. Tendo em conta a melhoria clínica, o tratamento que decorreu sem efeitos adversos, nomeadamente o SD, e a história social e familiar da doente, foi possível dar alta, pelo que a mesma passou a ser acompanhada em hospital de dia.

O diagnóstico da variante microgranular representa por si só uma dificuldade acrescida, uma vez que não existem critérios quantitativos precisos, pelo que nem todos os doentes chegam a ser diagnosticados com este subtipo. A variante M3v não representa por si só um fator de risco independente para o prognóstico, pelo que não há indicação para modificação do tratamento com base apenas na sua morfologia. Contudo, esta variante está associada a incidência aumentada de fenómenos que conferem pior prognóstico como a hiperleucocitose, expressão de CD2 e CD34 e mutações do tipo FLT3-ITD e representa risco aumentado de morte precoce durante a indução de remissão.⁽³⁴⁾ Desta forma, numa doente com recidiva ao iniciar o tratamento, devem ser consideradas as potenciais complicações desta variante, sobretudo durante a indução, de forma a garantir uma otimização terapêutica.

A presença de um cariótipo complexo está associado a pior prognóstico, com menor taxa de remissão completa.⁽³²⁾ Adicionalmente, a expressão dos antígenos CD2 e CD56 foi associada a doentes com risco aumentado de recidiva⁽¹⁶⁾, pelo que também se deve ter em conta este facto no momento da abordagem da doente de forma a prevenir falência terapêutica.

Com base no estudo analítico, a doente pode ser classificada como sendo de baixo risco de acordo com a estratificação de risco na LPA (**tabela I**). Contudo, o facto de se tratar de uma recidiva de uma LPA variante M3v, acompanhada de alterações citogenéticas adicionais [del(7) e del(20)] e pela expressão de CD2 e CD56 deve-se ter em conta o prognóstico desta doente, uma vez que há risco acrescido de morte precoce durante a indução e de falência terapêutica com recidiva. O tratamento sequencial com ATO seguido de consolidação com transplante autólogo de células progenitoras hematopoiéticas é o mais eficaz e viável nesta doente com uma recidiva de LPA.⁽³⁵⁾

11. Conclusões

Em suma, o diagnóstico de uma recidiva de LPA pode ser complexo dada a inespecificidade da sua morfologia, sobretudo por ser sobreponível com a morfologia de outros tipos de LMA. Deste modo, destaca-se o papel fundamental da integração dos aspectos morfológicos, citogenéticos e imunofenotípicos no reconhecimento precoce de morfologias atípicas numa recidiva, de forma a evitar complicações hemorrágicas e garantir uma abordagem terapêutica adequada.

A avaliação do risco na LPA requer a identificação dos fatores prognósticos associados a morte precoce e maior probabilidade de recidiva, sendo que novos esquemas de tratamento com inclusão de ATO parecem influenciar positivamente o prognóstico de alguns destes fatores.

Apêndices

Tabela I - Estratificação de risco na LPA⁽¹⁹⁾

Nível de risco	Contagem de Leucócitos	Contagem de Plaquetas
Baixo	$\leq 10 \times 10^9/L$	$> 40 \times 10^9/L$
Intermédio	$\leq 10 \times 10^9/L$	$\leq 40 \times 10^9/L$
Alto	$> 10 \times 10^9/L$	

Tabela II - Recomendações para a abordagem inicial de LPA⁽³⁾

Medidas específicas	Recomendações
Suporte transfusional	Transfusão com plasma e concentrados de plaquetas acompanhada de monitorização com hemograma e estudo da coagulação
Iniciar tratamento com ATRA e/ou ATO	Perante suspeita morfológica ou clínica de LPA até se estabelecer confirmação genética do diagnóstico.
Diagnóstico genético	Confirmação genética é mandatória.
Profilaxia do Síndrome de Diferenciação	Administrar corticosteróides se leucócitos > $5 \times 10^9/L$

Tabela III - Esquemas de tratamento estratificado por categoria de risco ⁽¹⁹⁾

Abreviaturas: ATO, trióxido de arsénio; ATRA, ácido retinóico *all-trans*; IV, intravenoso; MTX, Metotrexato; MTZ, Mitoxantrona; PO, per os; 6-MP: Mercaptopurina

	Indução	Consolidação	Manutenção
Baixo/ Intermédio risco	ATRA 45 mg/m ² /dia PO + ATO 0,15 mg/Kg/dia IV até remissão completa num prazo máximo de 60 dias	ATRA 45 mg/m ² /dia PO durante 14 dias seguido de 14 dias de paragem num total de 7 ciclos + ATO 0,15 mg/Kg/dia IV 5 dias por semana durante 4 semanas seguido de 4 semanas de paragem num total de 4 ciclos	--
Baixo/ Intermédio risco	ATRA 45 mg/m ² /dia PO + ATO 0,15 mg/Kg/dia IV até remissão completa num prazo máximo de 60 dias	<ol style="list-style-type: none"> 1. ATRA 45 mg/m²/dia PO dias 1-15 + Idarrubicina 5^{low}/7^{int} mg/m²/dia dias 1-4 2. ATRA 45 mg/m²/dia PO dias 1-15 + MTZ 10 mg/m²/dia dias 1-3 3. ATRA 45 mg/m²/dia PO dias 1-15 + Idarrubicina 10 mg/m²/dia dia 1^{low} ou 1-2^{int} 	ATRA 45 mg/m ² /dia PO dias 1-15 a cada 90 dias + MTX 15 mg/m ² /dia IM dias 15-90 + 6-MP 50 mg/m ² /dia PO dias 15-90 Durante um período de 2 anos.
Alto Risco	ATRA 45 mg/m ² /dia PO até remissão completa + Idarrubicina 12 mg/m ² /dia dias 2,4,6 e 8	<ol style="list-style-type: none"> 1. ATRA 45 mg/m²/dia PO dias 1-15 + Idarrubicina 5 mg/m²/dia dias 1-4 + Citarabina 1 mg/m²/dia dias 1-4. 2. ATRA 45 mg/m²/dia PO + MTZ 10 mg/m²/dia dias 1-5 3. ATRA 45 mg/m²/dia PO + Idarrubicina 12 mg/m²/dia dia 1 + Citarabina 150 mg/m²/8h dias1-4 	ATRA 45 mg/m ² /dia PO dias 1-15 a cada 90 dias + MTX 15 mg/m ² /dia IM dias 15-90 + 6-MP 50 mg/m ² /dia PO dias 15-90 Durante um período de 2 anos.

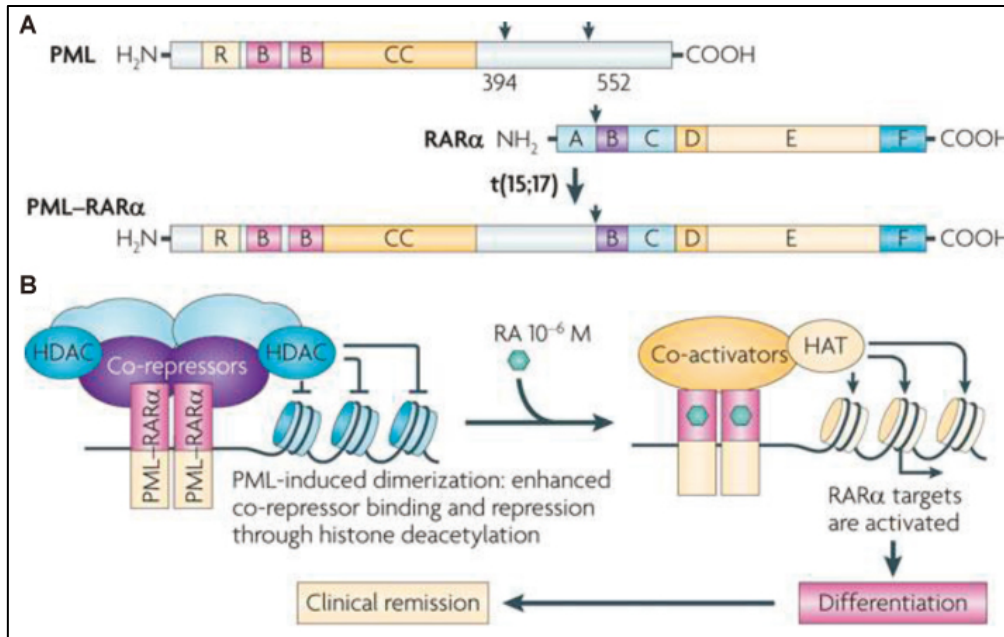


Figura 1 - Fisiopatologia da oncoproteína PML-RARA⁽⁵⁾

A) Translocação entre o gene PML e o gene RARA [t(15;17)], que resulta na formação do gene PML-RARA.

B) A ligação do PML-RARA ao complexo co-repressor e a sua interação com as histonas deacetilases (HDACs) leva à condensação da cromatina, com consequente repressão de transcrição. A presença de ácido retinóico (RA) ativa a oncoproteína PML-RARA, levando a diferenciação dos promielócitos, o que possibilita a remissão clínica.

Bibliografia

1. Coombs CC, Tavakkoli M, Tallman MS. Acute promyelocytic leukemia: where did we start, where are we now, and the future. *Blood Cancer J.* 2015;5:e304.
2. Lou Y, Suo S, Tong Y, Tong H, Qian W, Meng H, et al. Outcomes and prognostic factors of first relapsed acute promyelocytic leukemia patients undergoing salvage therapy with intravenous arsenic trioxide and chemotherapy. *Ann Hematol.* 2014;93(6):941-8.
3. Cicconi L, Lo-Coco F. Current management of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Ann Oncol.* 2016;27(8):1474-81.
4. Bassi SC, Rego EM. Molecular basis for the diagnosis and treatment of acute promyelocytic leukemia. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2012;34(2):134-9.
5. Yoo ES. Recent advances in the diagnosis and management of childhood acute promyelocytic leukemia. *Korean J Pediatr.* 2011;54(3):95-105.
6. Ng CH, Chng WJ. Recent advances in acute promyelocytic leukaemia. *F1000Res.* 2017;6:1273.
7. Kaleem Z, Watson MS, Zutter MM, Blinder MA, Hess JL. Acute promyelocytic leukemia with additional chromosomal abnormalities and absence of Auer rods. *Am J Clin Pathol.* 1999;112(1):113-8.
8. Cingam SR, Koshy NV. Cancer, Leukemia, Promyelocytic, Acute (APL, APLM). *StatPearls.* Treasure Island (FL)2017.
9. Nolte F, Lengfelder E, Hofmann WK. [Acute Promyelocytic Leukemia - A Rare, Life-Threatening Disease with High Healing Chance]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2018;143(3):152-6.
10. Lo-Coco F, Cicconi L, Voso MT. Progress and criticalities in the management of acute promyelocytic leukemia. *Oncotarget.* 2017;8(59):99221-2.
11. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Bruning 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.
12. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127(20):2391-405.
13. Zhang L, Samad A, Pombo-de-Oliveira MS, Scelo G, Smith MT, Feusner J, et al. Global characteristics of childhood acute promyelocytic leukemia. *Blood Rev.* 2015;29(2):101-25.
14. Liu M, Weng X, Gong S, Chen H, Ding J, Guo M, et al. Flow cytometric analysis of CD64 expression pattern and density in the diagnosis of acute promyelocytic leukemia: a multi-center study in Shanghai, China. *Oncotarget.* 2017;8(46):80625-37.
15. Mendoza AS, Qing X, Dungo M, Lasky J, Panosyan E, Cai J. HLA-DR antigen-positive acute promyelocytic leukemia. *Exp Mol Pathol.* 2016;101(2):197-200.
16. Testa U, Lo-Coco F. Prognostic factors in acute promyelocytic leukemia: strategies to define high-risk patients. *Ann Hematol.* 2016;95(5):673-80.
17. David S, Mathews V. Mechanisms and management of coagulopathy in acute promyelocytic leukemia. *Thromb Res.* 2018;164 Suppl 1:S82-S8.
18. Watts JM, Tallman MS. Acute promyelocytic leukemia: what is the new standard of care? *Blood Rev.* 2014;28(5):205-12.
19. McCulloch D, Brown C, Iland H. Retinoic acid and arsenic trioxide in the treatment of acute promyelocytic leukemia: current perspectives. *Onco Targets Ther.* 2017;10:1585-601.
20. Ghavamzadeh A, Jalili M, Rostami S, Yaghmaie M, Aliabadi LS, Mousavi SA, et al. Comparison of induction therapy in non-high risk acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide or in combination with ATRA. *Leuk Res.* 2018;66:85-8.

21. Breccia M, Cicconi L, Lo-Coco F. ATRA + ATO: has a new standard of care been established in low-risk acute promyelocytic leukaemia? *Curr Opin Hematol.* 2014;21(2):95-101.
22. 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. *Int J Hematol.* 2014;100(1):38-50.
23. Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S, et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2013;369(2):111-21.
24. Zhang P. On arsenic trioxide in the clinical treatment of acute promyelocytic leukemia. *Leuk Res Rep.* 2017;7:29-32.
25. Sanz MA, Montesinos P. How we prevent and treat differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 2014;123(18):2777-82.
26. Prebet T, Gore SD. Treatment of acute promyelocytic leukemia for older patients. *J Natl Compr Canc Netw.* 2011;9(3):337-42.
27. Cull EH, Altman JK. Contemporary treatment of APL. *Curr Hematol Malig Rep.* 2014;9(2):193-201.
28. Thirugnanam R, George B, Chendamarai E, Lakshmi KM, Balasubramanian P, Viswabandya A, et al. Comparison of clinical outcomes of patients with relapsed acute promyelocytic leukemia induced with arsenic trioxide and consolidated with either an autologous stem cell transplant or an arsenic trioxide-based regimen. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15(11):1479-84.
29. Adams J, Nassiri M. Acute Promyelocytic Leukemia: A Review and Discussion of Variant Translocations. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139(10):1308-13.
30. Gallagher RE, Moser BK, Racevskis J, Poire X, Bloomfield CD, Carroll AJ, et al. Treatment-influenced associations of PML-RARalpha mutations, FLT3 mutations, and additional chromosome abnormalities in relapsed acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 2012;120(10):2098-108.
31. Gomez-Segui I, Sanchez-Izquierdo D, Barragan E, Such E, Luna I, Lopez-Pavia M, et al. Single-nucleotide polymorphism array-based karyotyping of acute promyelocytic leukemia. *PLoS One.* 2014;9(6):e100245.
32. Chen C, Huang X, Wang K, Chen K, Gao D, Qian S. Early mortality in acute promyelocytic leukemia: Potential predictors. *Oncol Lett.* 2018;15(4):4061-9.
33. Schnittger S, Bacher U, Haferlach C, Kern W, Alpermann T, Haferlach T. Clinical impact of FLT3 mutation load in acute promyelocytic leukemia with t(15;17)/PML-RARA. *Haematologica.* 2011;96(12):1799-807.
34. Tallman MS, Kim HT, Montesinos P, Appelbaum FR, de la Serna J, Bennett JM, et al. Does microgranular variant morphology of acute promyelocytic leukemia independently predict a less favorable outcome compared with classical M3 APL? A joint study of the North American Intergroup and the PETHEMA Group. *Blood.* 2010;116(25):5650-9.
35. Yanada M, Tsuzuki M, Fujita H, Fujimaki K, Fujisawa S, Sunami K, et al. Phase 2 study of arsenic trioxide followed by autologous hematopoietic cell transplantation for relapsed acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 2013;121(16):3095-102.