

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA
MEDICINA

**Revisão clínica,
laboratorial, de abordagem
terapêutica e prognóstico
da Leucemia Promielocítica
Aguda diagnosticada
nos últimos 10 anos
no Centro Hospitalar
Universitário do Porto**

Maria Inês Silva

M

2019



REVISÃO CLÍNICA, LABORATORIAL, DE ABORDAGEM TERAPÊUTICA E PROGNÓSTICO DA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA DIAGNOSTICADA NOS ÚLTIMOS 10 ANOS NO CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO DO PORTO

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

AUTOR: Maria Inês Faria de Sousa e Silva

Estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Endereço: Rua de Jorge Viterbo Ferreira nº 228, 4050-313 Porto
Nº de aluno: 201304170
Endereço eletrónico: minesilva95@gmail.com

Assinatura:



ORIENTADORA: Doutora Rita Ribeiro Coutinho

Assistente Hospitalar do Serviço de Hematologia do Centro Hospitalar do Porto
Professora Auxiliar Convidada do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Assinatura da orientadora:



COORIENTADORA: Doutora Margarida Maria Carvalho Lima

Assistente Hospitalar de Imunohemoterapia do Centro Hospitalar do Porto
Professora Auxiliar Convidada do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Assinatura da coorientadora:



Porto, 2019

Agradecimentos

À Professora Doutora Rita Coutinho, pela orientação exemplar e pelos ensinamentos valiosos pautados por um elevado e rigoroso nível científico, os quais enriqueceram todas as etapas subjacentes a esta dissertação.

À Professora Doutora Margarida Lima, pela disponibilidade e visão crítica.

Ao Professor Doutor Rui Magalhães, pela inestimável cooperação e auxílio com o tratamento estatístico dos dados.

À minha família, por terem sido sempre o meu pilar, por acreditarem em mim e por serem a minha maior inspiração.

Ao Miguel, por todo o amor e apoio incondicional.

Aos meus melhores amigos, por engrandecerem todo o meu percurso académico.

RESUMO

Introdução: A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é uma leucemia rara com elevado potencial curativo, mas com significativa mortalidade precoce associada a hemorragia por coagulopatia, característica da doença. A instituição emergente de tratamento indutor de diferenciação dos promielócitos anormais garante a redução da mortalidade precoce.

Métodos: Estudo retrospectivo unicêntrico em que, através da consulta do processo clínico, se procedeu à avaliação das características clínicas e laboratoriais, fatores de prognóstico, abordagens terapêuticas e taxas de sobrevida de todos os doentes adultos diagnosticados com LPA no Centro Hospitalar Universitário do Porto (CHUP), de janeiro de 2007 a março de 2018. Adicionalmente, foi realizada uma revisão da literatura sobre o tema.

Resultados: Foram estudados 33 doentes, com uma idade mediana de 43 anos (20-78 anos), 64% do sexo feminino. A hemorragia mucocutânea foi a clínica mais frequente (76%). Segundo a estratificação de risco de *Sanz*, 84.8% dos doentes foram classificados como risco baixo ou intermédio e 15.2% como alto risco. A variante hipogranular foi reconhecida em 21% dos doentes e associada a doença de alto risco ($p=0.046$). A expressão de marcadores imunofenotípicos associados a prognóstico desfavorável foi detetada em 24% dos casos, metade dos quais apresentavam morfologia hipogranular ($p=0.045$). O tempo entre o primeiro contacto médico e instituição da terapêutica variou entre 1 e 7 dias (mediana 1 dia). A terapêutica de ácido all-trans-retinóico (ATRA) e antraciclina foi realizada em 81% dos casos e 16% dos doentes fizeram tratamento com ATRA e trióxido de arsénio (ATO). A toxicidade do tratamento mais frequente foi a infecciosa (49%). A mediana de tempo de *follow-up* foi de 42 meses e a sobrevida global da população foi de 81.8%. Cinco doentes morreram nos primeiros 45 dias desde o diagnóstico, 40% por hemorragia e 60% por infeção durante o tratamento de indução. O número de dias entre a apresentação e instituição terapêutica foi superior no grupo de doentes não sobreviventes ($p=0.025$). A taxa de recaída foi de 17.8%, sendo que todos estes doentes expressavam marcadores imunofenotípicos de pior prognóstico ao diagnóstico ($p=0.001$). A sobrevida livre de doença foi de 84.3% aos 24 meses.

Conclusões: A análise das LPA diagnosticadas ao longo de uma década no CHUP revelou resultados sobreponíveis aos descritos na literatura. Este estudo suporta a importância de um diagnóstico precoce no prognóstico da LPA, assim como a associação de marcadores imunofenotípicos de mau prognóstico com um aumento da taxa de recaída da doença.

Palavras-chave: leucemia promielocítica aguda; ATRA; ATO; mortalidade precoce; fatores de prognóstico; sobrevivência global; sobrevivência livre de doença.

ABSTRACT

Introduction: Acute Promyelocytic Leukemia (APL) is a rare leukemia with high curative potential, but with significant premature mortality associated with bleeding secondary to coagulopathy, a peculiarity of this disease. Emergent treatment with promyelocyte differentiation inducers ensures reduction of early death.

Methods: We performed a retrospective review of all cases of APL diagnosed at the Centro Hospitalar Universitário do Porto (CHUP) from January 2007 to March 2018. Our objectives were to describe the clinical and laboratory characteristics, as well as the treatment approach, prognostic factors and survival rates of the study population

Results: Thirty-three patients were included, 64% female, with a median age of 43 years (20-78 years). Mucocutaneous bleeding was the most clinical presentation (76%). According to the Sanz risk stratification, 84.8% of the patients were classified as low or intermediate risk and 15.2% as high risk. The hypogranular variant was recognized in 21% of patients and associated with high-risk disease ($p=0.046$). The expression of immunophenotypic markers associated with unfavorable prognosis was detected in 24%, half of which presented hypogranular morphology ($p=0.045$).

The time between the first medical contact and treatment initiation ranged from 1-7 days (median, 1 day). All-trans retinoic acid (ATRA) and anthracycline therapy was performed in 81% of the cases and 16% received treatment with ATRA and Arsenic Trioxide (ATO). Infection was the most frequent toxicity (49%). With a median follow up time of 42 months, overall survival of the population was 81.8%. Five patients died within 45 days of diagnosis, 40% from bleeding complications and 60% from infection during induction treatment. The number of days between presentation and treatment institution was higher in the group of non-surviving patients ($p = 0.025$). Relapse rate was 17.8% and all relapsing patients expressed atypical immunophenotypic markers at diagnosis ($p=0.001$). The disease-free survival was 84.3% at 24 months.

Conclusions: The results of this analysis of LPA diagnosed over a decade in CHUP are overlapping with those described in the literature. This study supports the importance of an early diagnosis in the outcome of LPA, as well as the association of atypical immunophenotypic markers with an increase in the relapse rate of the disease.

Keywords: acute promyelocytic leukemia; all-trans-retinoic acid; arsenicals; premature mortality; prognostic factors; survival rate; disease-free survival.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATRA: Ácido all-trans-retinóico

ATO: Trióxido de Arsénio

CID: Coagulação intravascular disseminada

DHL: desidrogenase lática

FAB: *French-American-British*

FT: Fator tecidual

LPA: Leucemia Promielocítica Aguda

LMA: Leucemia Mielóide Aguda

MO: Medula Óssea

MP: Mortalidade Precoce

QT: Quimioterapia

RM: Remissão Molecular

RT: Radioterapia

RT-PCR: Técnicas de reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa qualitativa

SD: Síndrome de diferenciação

SG: sobrevida global

SLD: sobrevida livre de doença

SNC: Sistema Nervoso Central

SP: sangue periférico

TTPa: Tempo de tromboplastina parcial ativado

TP: Tempo de protrombina

tPA: Ativador do plasminogénio tecidual

ÍNDICE

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	ii
Abstract.....	iii
Lista de abreviaturas.....	iv
Lista de figuras.....	vi
Lista de tabelas	vi
Introdução.....	2
Revisão na literatura.....	4
Métodos.....	9
Resultados.....	11
Discussão.....	14
Conclusões.....	17
Bibliografia.....	18
Tabelas.....	21
Figuras.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Variáveis clínicas e laboratoriais recolhidas para o presente estudo.....	21
Tabela II. Clínica documentada à data de apresentação da doença.....	22
Tabela III. Dados laboratoriais à data de apresentação da doença.....	23
Tabela IV. Tratamento na indução e consolidação e toxicidades associadas.....	24
Tabela V. Avaliação dos fatores de risco de mortalidade.....	25
Tabela VI. Avaliação dos fatores de risco associados à recaída da LPA.....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição da frequência absoluta de idades.....	27
Figura 2. Diagrama de extremos e quartis das variáveis analíticas.....	28
Figura 3. Distribuição da estratificação de risco e a sua relação com as variantes morfológicas.....	29
Figura 4. Evolução do número de dias necessários para o diagnóstico de LPA ao longo dos anos...30	
Figura 5. Diagrama de fluxo com indicação dos tratamentos instituídos, respostas obtidas e toxicidades observadas.....	31
Figura 6. (A) Sobrevida global com <i>follow up</i> de 12 meses; (B) Sobrevida livre de doença com <i>follow up</i> de 24 meses.....	32

INTRODUÇÃO

A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é uma leucemia rara, caracterizada por uma translocação recíproca entre o gene *PML* (*promyelocytic leukemia*) localizado no cromossoma 15 e o gene *RARA* (*Retinoic Acid Receptor Alpha*) do cromossoma 17 (1). Esta entidade representa aproximadamente 5 a 8% dos diagnósticos de Leucemia Mieloide Aguda (LMA), com uma incidência estimada de 0,08/100.000 habitantes (2).

A proteína de fusão resultante PML-RARA bloqueia a diferenciação da linhagem hematopoiética mieloide, conduzindo à acumulação de promielócitos anormais na medula óssea (MO) (3, 4). A introdução na prática clínica do derivado da vitamina A, o ácido all-trans-retinóico (ATRA), e, mais recentemente, o trióxido arsénico (ATO), revolucionou o prognóstico da LPA nas últimas décadas, passando de uma doença de curso rapidamente fatal para uma doença maligna potencialmente curável, com uma terapia dirigida ao seu mecanismo molecular oncogénico (5-7).

As orientações atuais enfatizam a importância da LPA ser tratada como uma emergência médica perante uma apresentação clínica e/ou uma morfologia sugestivas desta patologia, sendo indicadas medidas de suporte e terapêutica de diferenciação mieloide imediatas (8). Esta atitude é decisiva para a diminuição da taxa de mortalidade precoce (MP), maioritariamente associada a hemorragia, sendo ainda hoje o principal obstáculo na cura desta doença (9, 10).

Atualmente, a estimativa do risco de recaída segundo a estratificação de *Sanz*, definida pela contagem de leucócitos e plaquetas à apresentação é usada para a escolha do tratamento, com ou sem recurso a quimioterapia (QT), segundo os protocolos mais atuais (5, 6). Além da contagem de leucócitos têm sido descritos outros fatores com impacto prognóstico, como a morfologia hipogranular, mutação do gene *FLT3-ITD* e marcadores imunofenotípicos atípicos, como CD2, CD34 e CD56 (11-14).

São objetivos deste trabalho:

- a) Efetuar uma revisão da literatura acerca da apresentação clínica e laboratorial, assim como da abordagem terapêutica preconizada e dos fatores que interferem no prognóstico da LPA.
- b) Efetuar uma revisão dos casos de LPA diagnosticados no Centro Hospitalar Universitário do Porto (CHUP), de janeiro de 2007 a março de 2018, nomeadamente no que respeita a:
 - Características clínicas, morfológicas, fenotípicas, citogenéticas e moleculares;
 - Tempo entre o primeiro contacto médico, diagnóstico e instituição terapêutica;
 - Tratamentos instituídos, resposta ao tratamento e toxicidades associadas;
 - Taxa e causas de mortalidade;
 - Taxa de recaída;

- Sobrevida global (SG) e a sobrevida livre de doença (SLD);
 - Relação dos diferentes parâmetros colhidos com o prognóstico dos doentes incluídos no estudo.
- c) Discutir os resultados obtidos nesta série de doentes com os descritos na literatura.

REVISÃO DA LITERATURA

Epidemiologia

A LPA é raramente diagnosticada em crianças com idade inferior a dez anos, aumenta durante a adolescência, atingindo um platô durante o início da vida adulta, após o que permanece constante, até diminuir novamente após os sessenta anos de idade. Este padrão de incidência etária diferencia-a das demais LMA, em que existe um aumento constante até aos 55 anos, após os quais há um aumento exponencial (15).

O aparecimento de LPA secundária à exposição prévia a quimioterapia (QT) ou radioterapia (RT) tem sido descrito em 5 a 22% dos casos de LPA. O carcinoma da mama é a neoplasia mais frequente e os fármacos mais associados são os inibidores da topoisomerase tipo II, existindo também casos associados apenas ao uso de RT. O período de latência é relativamente curto (inferior a três anos) e o diagnóstico de LPA não é, tipicamente, precedido de mielodisplasia. Ao contrário dos outros subtipos de LMA, o prognóstico de LPA de novo ou associada a terapêutica é semelhante (16, 17).

Fisiopatologia

A t(15;17)(q24;q21), típica da LPA, conduz à quebra do gene *PML*, regulador da apoptose e estabilizador do genoma, e do gene *RARA*, expresso maioritariamente nas células hematopoiéticas e regulador da transcrição de outros genes. O gene de fusão *PML-RARA*, codifica a oncoproteína PML/RARA, que apresenta uma elevada afinidade a um amplo espectro de enzimas epigénicas, motivando a condensação da cromatina com conseqüente repressão da transcrição de genes importantes para a diferenciação mielóide. A degradação desta oncoproteína é induzida pelo ATRA e pelo ATO, conduzindo a dois fenómenos importantes para controlo da doença, com potencial sinergismo: indução de diferenciação e aumento da apoptose dos promielócitos anormais(3, 4, 18).

Características clínicas

A coagulopatia é a complicação mais grave da LPA. A maioria dos doentes possui ao diagnóstico uma síndrome hemorrágica que se manifesta por hemorragia mucocutânea, sendo menos frequente o envolvimento gastrointestinal, urológico e ginecológico. A hemorragia do sistema nervoso central (SNC) e pulmonar são causas de morte reportadas nos primeiros dias após o diagnóstico (19, 20).

A coagulação intravascular disseminada (CID), presente no diagnóstico de LPA em 90% dos doentes, é tipicamente considerada como uma das variantes mais claras de CID associada a malignidade, com características excepcionais manifestadas por uma hiperfibrinólise acentuada. Ao

contrário da CID clássica associada à sépsis, a CID associada a malignidade apresenta-se de uma forma mais insidiosa (19, 21, 22).

Os promielócitos contêm uma elevada quantidade de fator tecidual (FT) nos grânulos citoplasmáticos, conduzindo à ativação da cascata da coagulação com conseqüente formação de trombina e posteriormente fibrina. Ao contrário da CID clássica, mediada apenas por FT, na CID associada à LPA os níveis das Proteína C e S e Anti-trombina não apresentam alterações e os valores do Tempo de Protrombina (TP) e do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPa) também podem estar normais (estando, no entanto, geralmente aumentados). Assim, parece existir outro processo a explicar a diátese hemorrágica. Estudos recentes sugerem uma hiperfibrinólise primária mediada pela anexina II, largamente expressa na superfície dos promielócitos anormais. Esta liga-se ao ativador do plasminogénio tecidual (tPA) e aumenta a atividade da enzima na conversão de plasminogénio em plasmina. A elevada quantidade de plasmina leva a um esgotamento de fibrinogénio e, mais importante, leva à destruição prematura do coágulo. Este processo de hiperfibrinólise explica os achados laboratoriais de hipofibrinogenemia acentuada, níveis altos de produtos de degradação de fibrina e depleção significativa de plasminogénio. Assim, entende-se que uma maior massa de leucócitos absoluta se correlacione com a gravidade das complicações hemorrágicas pelo aumento de TF e anexina II (20-24).

Diagnóstico: desde a suspeita até ao diagnóstico definitivo

A mortalidade precoce (MP), habitualmente definida como a morte que ocorre no primeiro mês após o diagnóstico, ocorre em 3 a 10%, atingindo 30% em estudos populacionais (10, 25). A principal causa de MP é a hemorragia, seguida de infeção. A maioria dos casos de morte por hemorragia ocorre na primeira semana de tratamento. Por essa razão a LPA é encarada como uma emergência médica (9, 13).

Assim, apesar do diagnóstico definitivo da LPA implicar a identificação do gene de fusão *PML-RARA*, as medidas de suporte e a terapêutica de diferenciação devem ser iniciadas antes deste resultado estar disponível. Perante uma morfologia característica da população leucocitária, nomeadamente presença de promielócitos anormais no esfregaço de sangue periférico (SP) ou no aspirado de MO, um perfil fenotípico típico ou diátese hemorrágica com dados laboratoriais que favorecem a coagulopatia, o diagnóstico de LPA deve ser considerado (8).

É frequente encontrar-se no esfregaço de SP e/ou de MO os promielócitos leucémicos, com grânulos azurofílicos abundantes de aparência irregular. No entanto, foram reconhecidas pela classificação *French-American-British* (FAB) duas principais variantes morfológicas. A LPA hipergranular, responsável pela maioria dos casos, caracteriza-se pela presença de promielócitos com múltiplos corpos de *Auer* (4, 26). A variante hipogranular, mais rara (15 a 20% dos casos),

apresenta um diagnóstico mais exigente, uma vez que os promielócitos se assemelham morfológicamente aos blastos de outros subgrupos de LMA (27).

Para estabelecer um diagnóstico definitivo de LPA é necessária a avaliação morfológica do aspirado de MO e a identificação da anomalia genética característica, através de técnicas citogenéticas, como o cariótipo convencional, hibridização *in situ* fluorescente (FISH do inglês *Fluorescent In Situ Hybridization*) ou de técnicas de genética molecular, como a reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa qualitativa (RT-PCR, do inglês *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*), atualmente o método *gold standard* (8).

A avaliação imunofenotípica das células leucémicas por citometria de fluxo aumenta a precisão da suspeita morfológica de LPA. Tipicamente, promielócitos anormais possuem características imunofenotípicas relativamente semelhantes às dos promielócitos, com algumas diferenças, entre as quais se destaca a subexpressão de CD15 (nos promielócitos normais são fortemente positivos). Na variante hipogranular habitualmente surge expressão de CD34, de CD56 e de marcadores da linhagem T, como o CD2 (8, 28).

As mutações do gene *FLT3*, que codifica a proteína FLT3 (*fm-like tyrosine kinase 3*) são mais frequentes na LPA do que nas restantes LMA. Apesar desta mutação estar associada a um valor elevado de leucócitos à apresentação, a sua identificação não altera a abordagem terapêutica, não sendo essencial a sua avaliação (8, 29, 30).

Prognóstico e estratificação de risco

A estimativa do risco de recaída é importante para a escolha do tratamento mais adequado. Sanz e colaboradores (31) definiram doentes de baixo risco de recaída quando apresentam valores de leucócitos $<10.000/\mu\text{l}$ e de plaquetas $>40.000/\mu\text{l}$; doentes de risco intermédio com leucócitos $<10.000/\mu\text{l}$ e plaquetas $<40.000/\mu\text{l}$ e doentes de alto risco com leucócitos $>10.000/\mu\text{l}$. Como os resultados para os doentes de risco baixo e intermédio são semelhantes, estas categorias foram recentemente agregadas para definir um grupo de baixo risco (25).

Além da contagem de leucócitos têm sido descritos outros fatores com impacto prognóstico. Embora um estudo com seguimento alargado (32) sugira que o prognóstico dos doentes com variante hipogranular é semelhante à dos doentes com morfologia clássica quando tratados com regimes baseados em ATRA combinado com antraciclina e ajustado à estratificação de risco, esta entidade associa-se a outras características com impacto prognóstico negativo: contagem de leucócitos elevada, expressão dos marcadores imunofenotípicos associados a mau prognóstico CD56, CD2 e/ou CD34 ou a mutação do gene *FLT3-ITD* (11-13). Está também descrito na literatura que doentes com o transcrito BCR3 do *PML-RARA* apresentam pior prognóstico (14).

Tratamento: medidas de suporte e terapia de diferenciação

Uma vez que a hemorragia por coagulopatia está associada a MP, o seu tratamento deve ser instituído de imediato. Recomenda-se a administração de fibrinogénio para manter níveis superiores a 100-150 mg/dl e transfusão de plaquetas para manter valores superiores a 50.000/ μ l (8, 33).

Por outro lado, perante a suspeita diagnóstica, o tratamento indutor de diferenciação dos promielócitos com ATRA deve ser iniciado de imediato, já que o atraso da sua instituição tem relação estreita com a MP por hemorragia (34, 35).

Além das medidas de suporte descritas acima, devem ser instituídas outras medidas para reduzir complicações clínicas. A Síndrome de Diferenciação (SD) ocorre durante os primeiros dias do tratamento de diferenciação e é caracterizada por febre inexplicável, aumento de peso, edema periférico, dispneia com infiltrados pulmonares intersticiais, derrame pleuro-pericárdico, hipotensão e insuficiência renal aguda. O mecanismo fisiológico parece estar subjacente a uma resposta inflamatória sistémica com lesão endotelial, obstrução microcirculatória e infiltração tecidual. Estes mecanismos são desencadeados pelo efeito do ATRA sobre a diferenciação dos promielócitos, durante a qual ocorre libertação de interleucinas, proteases e expressão de moléculas de adesão endotelial, promovendo a agregação de promielócitos. O tratamento da SD com dexametasona deve ser iniciado o mais precocemente possível e mantido até o desaparecimento dos sintomas. A descontinuação de ATRA ou ATO está indicada apenas em casos de SD severo (8, 36). Alguns estudos sugerem haver benefício no uso de profilaxia com corticoide (36).

Outras complicações associadas ao tratamento com ATO são os desequilíbrios eletrolíticos, a hepatotoxicidade e o prolongamento do intervalo QT que pode levar a arritmias ventriculares potencialmente fatais (8).

Tratamento: a mudança nas últimas duas décadas

Há seis décadas atrás a LPA era considerada o tipo de leucemia aguda mais rapidamente fatal. Inicialmente apenas 5 a 14% dos casos atingiam remissão, pelo que a maioria dos doentes morria após quatro semanas. O primeiro grande avanço na sua abordagem foi com a introdução de QT à base de antraciclina, atingindo-se uma taxa de cura de cerca de 35-40% (25).

O segundo grande avanço foi com a introdução do tratamento de diferenciação, na década de 1980, revolucionando o prognóstico da LPA. Esta surge após uma maior compreensão dos mecanismos etiológicos da doença, nos quais se destaca a função da oncoproteína PML-RARA. A eficácia do tratamento permitiu alcançar taxas de remissão superiores a 80% (37). No entanto, o seu uso em monoterapia não se mostrou eficaz a longo prazo (7), pelo que os regimes de indução

passaram a incluir ATRA e idarrubicina (38, 39). Esta abordagem adotada mundialmente (protocolo AIDA – PETHEMA APL99/APL2005) está associada a toxicidade hematológica e ao desenvolvimento de neoplasias secundárias em 2% dos casos, devido à mielossupressão (25, 40).

Mais tarde foi introduzido o ATO, que demonstrou inicialmente eficácia na LPA em recaída (41, 42). Mais recentemente, foi demonstrado atuar sinergicamente com o ATRA na degradação da oncoproteína, o que levou *Lo-Coco* e colaboradores a comprovarem que não existe inferioridade da combinação ATRA-ATO, em doentes de risco baixo/intermédio, apresentando um menor perfil de toxicidade (6). Estes resultados levaram a uma mudança de paradigma no tratamento: a abordagem ATRA-ATO, sem QT, é hoje considerada a primeira escolha para doentes com LPA não-alto risco ou com contraindicações ao uso de antraciclinas (25).

Na LPA de alto risco, o tratamento com ATO demonstrou piores resultados comparativamente ao uso de ATRA-antraciclinas. Estes doentes parecem beneficiar de um curto período de QT intensiva durante a indução e 1-2 anos de terapia de manutenção (40).

O tratamento de manutenção nos doentes de risco baixo-intermédio tratados com ATRA-ATO, que atingem a remissão molecular (RM) parece não ter impacto prognóstico significativo (43).

Recaída da doença

Desde a introdução do regime à base ATRA-ATO estão descritas taxas de recidiva de 1 a 6% nos doentes de risco baixo-intermédio (5, 6). Como já foi referido, nas últimas duas décadas, o ATO tornou-se a opção terapêutica de eleição da LPA em recaída. Recentemente demonstrou-se que a terapêutica com ATO se mantém eficaz mesmo com o aumento da sua utilização na apresentação de LPA *de novo* (44).

Após a obtenção da segunda remissão, o transplante autólogo de células hematopoiéticas é a melhor abordagem em doentes mais jovens (27).

Monitorização da doença residual mínima

O objetivo do tratamento é atingir a RM (8). O tratamento da recaída molecular – definida pela persistência do transcrito *PML-RARA* por RT-PCR – demonstrou benefício quando comparado com o tratamento em recaída hematológica franca (45, 46).

Com base nesta evidência, a monitorização longitudinal por RT-PCR durante os primeiros três anos após a conclusão do tratamento, assim como a tratamento da recaída molecular são medidas fortemente recomendadas pelas normas internacionais (8). No entanto, dadas as baixas taxas de recaída relatadas com o regime terapêutico atual (41,43), o custo-benefício da monitorização molecular prolongada tem sido questionado (27, 40, 47).

ESTUDO DE SÉRIE DE CASOS

MÉTODOS

Aprovação do estudo e questões éticas

O estudo, com o número de referência 2018.241(211-DEFI/210-CES), foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética e pelo Gabinete Coordenador da Investigação do Departamento de Ensino, Formação e Investigação do CHUP, tendo sido autorizado pelo Conselho de Administração desta unidade hospitalar.

Desenho do estudo e população estudada

Foi realizado um estudo observacional retrospectivo dos doentes adultos diagnosticados com LPA no CHUP entre janeiro de 2007 e março de 2018. A colheita de dados foi realizada através da consulta de processos clínicos em papel e do Processo Clínico Eletrónico (SClínico[®], Sonho V2, Serviços Partilhados do Ministério da Saúde, Portugal).

Da população inicial, constituída por 34 doentes, foi excluído um por ter sido tratado noutra instituição.

Todos os doentes que sobreviveram apresentaram *follow-up* superior a um ano, tendo a última revisão do processo clínico sido realizada em abril de 2019.

Pesquisa bibliográfica

A pesquisa bibliográfica dos artigos indexados na *MedLine* foi feita no motor de busca *PubMed*, sendo avaliados artigos em Português e em Inglês. Foram usados os seguintes termos de pesquisa: *Acute Promyelocytic Leukemia, AML-M3, ATRA, ATO, all-trans retinoic acid, t(15;17)(q22;q12), PML-RARA, prognostic factors, prognosis, premature mortality, recurrence, survival rate e disease-free survival*. Após avaliação crítica dos resumos, foram selecionados os artigos para leitura do texto integral.

Variáveis clínicas, analíticas, fenotípicas e moleculares

As variáveis clínicas e laboratoriais colhidas à admissão estão apresentadas na Tabela I.

O tempo até ao início de tratamento foi definido como o número de dias decorridos entre o primeiro contacto médico e a prescrição do ATRA.

A estratificação de risco foi realizada de acordo com o esquema proposto por *Sanz* e colaboradores e dividida em risco baixo, intermédio e alto (31).

A remissão completa hematológica e molecular foi avaliada pelo estudo morfológico e genético do aspirado de MO, respetivamente, após a indução.

Definiu-se morte precoce como a mortalidade registada no primeiro mês após o diagnóstico e início de tratamento.

A recaída molecular foi definida pela deteção do transcrito *PML-RARA* por RT-PCR em pelo menos duas amostras consecutivas de aspirado de MO e/ou de SP, separadas por pelo menos um mês.

Análise estatística

A estatística descritiva consistiu no cálculo da mediana, mínimo e máximo, para as variáveis quantitativas contínuas, e no cálculo das frequências absolutas e relativas (expressas em percentagem), para as variáveis categóricas.

Para comparar as variáveis clínicas e laboratoriais entre grupos foi usado o teste de qui-quadrado ou teste de Fisher (para amostras mais pequenas).

A análise de sobrevivência foi efetuada através do método de Kaplan-Meier e as diferenças entre grupos foram avaliadas através do teste de log-rank.

Valores de $p \leq 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos.

A análise estatística foi realizada no programa *IBM Statistics Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 24.

RESULTADOS

Caracterização sociodemográfica e clínica da população em estudo

Foram avaliados 33 doentes (n=33), 21 mulheres (63.6%) e 12 homens (36.4%), com uma mediana de idade de 43 anos (20-78 anos); sete doentes apresentavam mais de 60 anos ao diagnóstico (Figura 1).

Três doentes do sexo feminino tinham história de neoplasia da mama e recebido tratamento com QT e/ou RT, com um tempo de latência de 3, 6 e 10 anos.

A clínica hemorrágica mucocutânea foi a apresentação clínica predominante (n=25, Tabela II). Três doentes apresentaram hemorragia cerebral. Dos doentes com clínica hemorrágica à apresentação (n=27), 70% apresentava plaquetas <40.000/ μ l e 67% apresentava fibrinogénio <150 mg/dl. Quando analisados estes achados laboratoriais em doentes sem clínica hemorrágica, verificamos que nenhum apresentava valores de plaquetas <40.000/ μ l (p=0.002) e apenas 17% apresentava diminuição de fibrinogénio (p=0.025).

Cinco doentes (15.1%) apresentava valores de leucócitos superiores a 10.000/ μ l (Figura 2), sendo classificados de alto risco de acordo com a estratificação de *Sanz* (Figura 3). De destacar também que 22 doentes (66.7%) apresentavam valores de neutrófilos <500/ μ l à apresentação.

A função renal, função hepática e o ionograma avaliados à admissão não apresentaram alterações de relevo. (Tabela III)

Dados relativos ao diagnóstico

O diagnóstico de LPA foi assumido através da observação de promielócitos com morfologia anormal no SP e/ou MO, sendo posteriormente confirmado com a identificação do transcrito *PML-RARA* por RT-PCR.

A variante morfológica hipogranular foi reconhecida em sete doentes, três dos quais classificados como risco alto segundo *Sanz* (p=0.046, Figura 3).

O estudo imunofenótipo, por citometria de fluxo, foi realizado em 29 dos 33 doentes. Todos apresentaram o imunofenótipo sugestivo de LPA e em oito casos identificou-se expressão de marcadores imunofenotípicos associados a pior prognóstico, nomeadamente CD2, CD34 e CD56. Quatro desses casos apresentavam morfologia hipogranular (p=0.045).

Tempo até ao início de tratamento

O tempo entre o primeiro contacto médico e o início de tratamento variou entre 1 e 7 dias (mediana de 1 dia) e tem vindo a diminuir ao longo do tempo (Figura 4).

Em dois doentes o tempo até ao início de tratamento foi >3 dias (4 e 7 dias, respetivamente). Em apenas um deles se documentou mortalidade à volta dos 30 dias após o diagnóstico, tendo o óbito ocorrido 34 dias após o diagnóstico.

Tratamento, resposta e toxicidades

Os tratamentos efetuados, as respetivas respostas e toxicidades estão representados na Tabela IV. O diagrama de fluxo com desenho do estudo está esquematizado na Figura 5.

A maioria dos doentes realizou indução com ATRA combinado com antraciclina (de acordo com os protocolos PETHEMA APL99/APL2005). Mais recentemente os doentes de risco baixo ou intermédio foram tratados com regime livre de QT com ATRA e ATO (de acordo com o protocolo PETHEMA APL2017).

Um doente morreu no primeiro dia após o diagnóstico por hemorragia do SNC. Dos restantes 32 doentes, um foi tratado com ATRA em monoterapia – no contexto de hemorragia alveolar e infeção pulmonar ao primeiro dia após o diagnóstico - e os restantes 31 iniciaram o tratamento de indução: 26 com ATRA e antraciclina (idarrubicina ou daunorrubicina) e cinco com ATRA e ATO (Tabela IV).

Foi registada toxicidade significativa durante a indução em 21 doentes (Tabela IV) sendo a mais frequente a toxicidade infecciosa, observada em 13 doentes. Três doentes faleceram por choque séptico aos dias 26, 27 e 44 após o diagnóstico. Foi também documentada hemorragia em três doentes, sendo que um destes faleceu por hemorragia do SNC ao dia 34 após o diagnóstico. Embora se tenha instituído profilaxia para a SD nos 32 doentes, o diagnóstico foi considerado em 11 doentes (34%). A toxicidade hepática relacionada com o ATO foi detetada em três casos.

Terminaram o tratamento de indução 28 doentes, numa mediana de 41 dias desde o início do tratamento (27-63 dias), tendo todos eles atingido remissão morfológica completa medular.

Vinte e seis doentes prosseguiram com tratamento de consolidação e 22 terminaram o regime de manutenção.

A mediana de *follow-up* foi de 42 meses, variando entre 1 dia e 139 meses.

Mortalidade

A taxa de mortalidade da nossa população foi de 18.2% (n=6), sendo que a maioria (n=5) faleceu nos primeiros 45 dias após o diagnóstico ainda em fase de recuperação do regime de indução. A última morte foi registada ao dia 128 por hemorragia do SNC no contexto de recaída da doença. A SG é de 81.8% (Figura 6).

Quando analisamos as características clínicas e biológicas que estão associadas na literatura a maior risco de MP, não encontramos nenhuma diferença estatisticamente significativa

comparativamente à população de doentes sobreviventes (Tabela V). O número de dias entre o diagnóstico e o início de terapêutica foi superior no grupo de doentes não sobreviventes ($p=0.025$).

Recaída

Cinco doentes (17.8%) recaíram num intervalo de tempo desde o diagnóstico entre 4.1 e 75.6 meses. Destes, um doente tinha sido tratado em primeira linha com ATRA-ATO e os restantes com ATRA-antraciclinas. Um doente faleceu na data de diagnóstico da recaída com hemorragia do SNC (mencionado acima). Três doentes realizaram novo tratamento de indução com ATO e consolidação com auto-transplante de progenitores hematopoiéticos. Um doente foi tratado apenas com ATRA. A SLD foi de 84.3% aos 24 meses (Figura 6).

Quando analisamos as características clínicas e analíticas que estão descritas na literatura como associadas a maior risco de recaída, verificamos que quatro doentes tinham sido classificados como risco baixo ou intermédio e apenas 1 doente como alto risco segundo os critérios de *Sanz*. A morfologia hipogranular tinha sido documentada em apenas 2 doentes. Todos os doentes que recaíram expressavam algum marcador fenotípico associado a mau prognóstico ($p=0.001$, Tabela VI).

DISCUSSÃO

No presente estudo retrospectivo unicêntrico descrevemos as características clínicas e biológicas de um grupo de doentes adultos com LPA diagnosticados ao longo de uma década.

Quando analisada a distribuição da idade ao diagnóstico (Figura 1), verifica-se um aumento progressivo do número de casos desde os 20 anos até aos 40 anos de idade e uma diminuição progressiva até aos 70 anos, estando de acordo com a distribuição de idades descrita na literatura (15).

A prevalência de LPA secundária à exposição a QT ou RT tem vindo a aumentar, sendo o carcinoma da mama a neoplasia mais frequentemente associada. No presente estudo a neoplasia da mama foi a única documentada, pese embora o intervalo de tempo entre o tratamento da neoplasia da mama e o diagnóstico da LPA seja superior ao descrito na literatura (16, 17, 48), levando-nos a questionar a associação nas nossas doentes.

A clínica hemorrágica foi a apresentação mais frequente, tal como descrito na literatura. (19, 20) A contagem leucocitária poderia emergir como um preditor robusto de eventos hemorrágicos, uma vez que os promielócitos na LPA medeiam diretamente a hiperfibrinólise através da expressão da anexina II, efeito independente da ativação permanente da cascata da coagulação.(23) Neste estudo não detetamos uma relação significativa entre a contagem de leucócitos e a incidência de hemorragia, o que se pode explicar tanto pela baixa frequência de doentes com hiperleucocitose ($>10.000/\mu\text{l}$), quer porque se tomaram medidas clínicas adequadas à diminuição do risco de hemorragia nestes doentes.

Além da contagem de leucócitos, estão descritos outros fatores de risco para hemorragia potencialmente fatal, nomeadamente: apresentação com hemorragia ativa, mau *performance status*, idade superior a 60 anos, trombocitopenia, aumento do TP ou TTPa, hipofibrinogenemia ($<100\text{mg/dl}$), aumento dos níveis dos produtos provenientes da degradação de fibrina (como D-dímeros) e DHL e creatinina elevadas (8, 20, 24, 49). Depois de analisados estes fatores na nossa população, encontramos uma relação estatisticamente significativa entre a presença de clínica hemorrágica e contagens diminuídas de plaquetas e hipofibrinogenemia. No entanto nenhum destes fatores teve impacto na identificação de doentes com mortalidade associada a hemorragia.

Notamos uma tendência para o aumento do risco de morte com o atraso na instituição do tratamento com ATRA. De facto, embora esta variável não seja incluída na maior parte dos estudos que avaliam MP, existem dados que sugerem que o tratamento tardio com ATRA está associado a um aumento da MP por hemorragia (34). A mediana de tempo desde a suspeita do diagnóstico e a instituição do tratamento obtida no presente estudo (1 dia) foi inferior à descrita na literatura (2 dias) (35). Para além disso notamos uma tendência da diminuição do tempo até à instituição do

tratamento ao longo dos anos, sugerindo que há uma melhor compreensão da LPA como uma emergência médica, onde uma atitude precoce é preponderante para um desfecho benigno.

Como demonstrado em vários estudos multicêntricos, o tratamento com ATRA e antraciclina resulta na obtenção de remissão molecular e SLD a longo prazo de cerca de 80% (31, 39). Mais recentemente, de acordo com os resultados de um estudo aleatorizado de fase III conduzido por *Lo-Coco* e colaboradores, a combinação de ATRA e ATO é recomendada para o tratamento de doentes de risco baixo ou intermédio. O estudo descreveu uma SG aos dois anos de cerca de 97%, comparativamente a 86% no regime AIDA (6). Na nossa série, o regime terapêutico mais usado foi o de ATRA com antraciclina, sendo que cinco doentes com diagnóstico estabelecido a partir de 2016 foram tratados com ATRA e ATO. Será necessário aumentar o tempo de seguimento e também incluir um maior número de doentes tratados com regimes sem QT de forma a poder estabelecer comparações válidas de eficácia e toxicidade. A toxicidade mais frequente foi a infeção, registada em doentes que receberam antraciclina. Documentamos também toxicidade hepática com o uso do ATO, tal como descrito na literatura.

Em estudos publicados, a SD associada ao ATRA apresenta uma incidência altamente variável (2% a 27%), o que depende provavelmente da heterogeneidade da sua apresentação, do uso de diferentes critérios para o seu diagnóstico e das medidas de suporte usadas (36, 50). No nosso estudo, foi descrita uma frequência dentro do esperado. Embora não tenhamos descrito especificamente que critérios foram utilizados para o seu diagnóstico, registamos que, tal como mencionado, houve dificuldade no estabelecimento do diagnóstico, uma vez que os sintomas que caracterizam a síndrome são inespecíficos. Apesar da falta de evidência sólida que suporte o uso de profilaxia do SD com corticóide, a maior parte dos centros adota esta atitude (33, 36), sendo que o nosso não foi exceção.

A SG da nossa série é de 81,8%, o que vai ao encontro do relatado na literatura. No presente estudo as principais causas de morte coincidem com as descritas: hemorragia e infeção (9, 13). A maioria das mortes documentadas ocorreram no período de indução, sendo que apenas uma morte ocorreu no contexto de uma recaída precoce. A resposta ao tratamento de indução foi de 100%, reforçando que a SG depende quer da mortalidade por hemorragia associada à doença ativa, quer da tolerância ao tratamento instituído, sendo a infecciosa mais frequentemente associada a risco de mortalidade.

A taxa de recaída (17.8%) neste estudo também foi semelhante à descrita com o uso de esquemas contendo ATRA e antraciclina. Embora haja na literatura a sugestão de que a frequência de recaídas é menor com o uso de ATRA e ATO, tendo sido relatados valores que variam entre 1 e 6% (5, 6), o tempo de seguimento dos estudos publicados ainda é relativamente curto para se

estabelecer uma conclusão segura. Salientamos que dos cinco doentes tratados com ATRA e ATO na nossa série já documentamos uma recaída após 12 meses do fim do tratamento.

Os fatores de risco para recidiva conhecidos são a estratificação de risco de *Sanz* ao diagnóstico, a variante hipogranular, marcadores imunofenotípicos atípicos, anomalias adicionais no cariótipo e a mutação do gene *FLT3-ITD*, estando estes frequentemente associados entre si (11, 12, 14, 28, 29). Dos fatores analisados na nossa coorte, notamos uma maior frequência de recaídas em doentes que apresentavam expressão de pelo menos um dos marcadores imunofenotípicos associados a mau prognóstico (CD2, CD34 e CD56). Verificamos também uma associação significativa da expressão destes marcadores com a variante hipogranular, o que está de acordo com o descrito na literatura. Embora tenhamos um número muito pequeno de doentes em recaída, estes resultados sugerem que a integração de marcadores imunofenotípicos num *score* de risco poderá ser útil no futuro para decisões terapêuticas.

Este estudo apresenta as limitações inerentes a um estudo unicêntrico retrospectivo, com heterogeneidade no registo das características clínicas, de toxicidade, de resposta a tratamento e de causas de morte. O número pequeno de doentes incluídos neste estudo prende-se com o facto da LPA ser uma doença rara e do nosso centro apresentar uma área de referência relativamente pequena. Este facto limita a análise comparativa de fatores prognósticos para a mortalidade e a recaída. Uma limitação adicional é a ausência de alguns dados analíticos que podem ser úteis para a definição do prognóstico, como o valor de D-dímeros ou a mutação do gene *FLT3-ITD*. No entanto salientamos que não está recomendado alterar a estratégia de tratamento de acordo com estes parâmetros, pelo que a sua avaliação, embora informativa, não é mandatária.

CONCLUSÕES

As características clínicas e analíticas dos doentes com LPA aqui apresentados estão em total concordância com as descritas na literatura e a sua sobrevida global e livre de doença são comparáveis às dos demais estudos multicêntricos. À semelhança de outros trabalhos, este estudo realçou a importância de um diagnóstico precoce no prognóstico da LPA. Além disso, a mortalidade precoce continua a ser o maior obstáculo para a cura dos doentes com LPA.

BIBLIOGRAFIA

1. Grimwade D, Howe K, Langabeer S, et al. Establishing the presence of the t(15, 17) in suspected acute promyelocytic leukemia: cytogenetic, molecular and PML immunofluorescence assessment of patients entered into the M.R.C. ATRA trial. *British Journal of Haematology*. 1996;94:557-73.
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Geneva, Switzerland: WHO Press. 2017.
3. Lo-Coco F, Hasan SK. Understanding the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2014;27(1):3-9.
4. Mandelli F, Avvisati G, Lo-Coco F. Advances in the understanding and management of Acute Promyelocytic Leukemia. *Rev Clin Exp Hematol*. 2002;6(1):60-71.
5. Burnett AK, Russell NH, Hills RK, Bowen D, Kell J, Knapper S, et al. Arsenic trioxide and all-trans retinoic acid treatment for acute promyelocytic leukaemia in all risk groups (AML17): results of a randomised, controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2015;16(13):1295-305.
6. Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013;369:111-21.
7. Wang ZY, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. *Blood*. 2008;111:2505-15.
8. 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.
9. Stein M, Tallman M. Provocative pearls in diagnosing and treating acute promyelocytic leukemia. *Oncology (Williston Park)*. 2012;26 (7):636-41.
10. Lehmann S, Ravn A, Carlsson L, et al. Continuing high early death rate in acute promyelocytic leukemia: a population-based report from the Swedish Adult Acute Leukemia Registry. *Leukemia*. 2011;25:1128-34.
11. Ferrara F, Morabito F, Martino B, Specchia G, Liso V, Nobile F, et al. CD56 expression is an indicator of poor clinical outcome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with simultaneous all-trans-retinoic acid and chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2000;18:1295-300.
12. Ahmad EI, Akl HK, Hashem ME, Elgohary TA. The biological characteristics of adult CD34+ acute promyelocytic leukemia. *Med Oncol*. 2012;29:1119-26.
13. 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.
14. Testa U, Lo-Coco F. Prognostic factors in acute promyelocytic leukemia: strategies to define high-risk patients. *Ann Hematol*. 2016;95(5):673-80.
15. Vickers M, Jackson G, Taylor P. The incidence of acute promyelocytic leukemia appears constant over most of a human lifespan, implying only one rate limiting mutation. *Leukemia*. 2000;14:722-6.
16. Pulsoni A, Pagano L, Lo Coco F, et al. Clinico-biological features and outcome of acute promyelocytic leukemia occurring as a second tumor: the GIMEMA experience. *Blood*. 2002;100:1972-6.
17. Beaumont M, Sanz M, Carli PM, Maloisel F, Thomas X, Detournignies L, et al. Therapy-Related Acute Promyelocytic Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2003;21(11):2123-37
18. Thé H, Pandolfi PP, Chen Z. Acute Promyelocytic Leukemia: A Paradigm for Oncoprotein-Targeted Cure. *Cancer Cell*. 2017;32:552-60.
19. David S, Mathews V. Mechanisms and management of coagulopathy in acute promyelocytic leukemia. *Thromb Res*. 2018;164:82-8.
20. Breen KA, Grimwade D, Hunt BJ. The pathogenesis and management of the coagulopathy of acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2012;156(1):24-36.

21. Levi M. Clinical characteristics of disseminated intravascular coagulation in patients with solid and hematological cancers. *Thromb Res.* 2018;164:77-81.
22. Levi M. Disseminated intravascular coagulation in cancer patients. *Best Practice & Research Clinical Haematology.* 2009;22(1):129-36.
23. Mantha S, Tallman MS, Devlin SM, Soff GA. Predictive factors of fatal bleeding in acute promyelocytic leukemia. *Thromb Res.* 2018;164 98-102.
24. Kwaan HC, Cull EH. The coagulopathy in acute promyelocytic leukaemia-what have we learned in the past twenty years. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2014;27(1):11-8.
25. 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.
26. Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Hypergranular promyelocytic leukemia: correlation between morphology and chromosomal translocations including t (15,17) and t(11,17). *Leukemia.* 2000;14(7):1197-200.
27. Cicconi L, Lo-Coco F. Current management of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Annals of Oncology.* 2016;27(8):1474-81.
28. Guglielmi C, Martelli MP, Diverio D, et al. Immunophenotype of adult and childhood acute promyelocytic leukaemia: correlation with morphology, type of PML gene breakpoint and clinical outcome. A cooperative Italian study on 196 cases. *Br J Haematol.* 1998;102:1035-41.
29. Callens C, Chevret S, Cayuela JM, et al. Prognostic implication of FLT3 and Ras gene mutations in patients with acute promyelocytic leukemia (APL): a retrospective study from the European APL Group. *Leukemia.* 2005;19:1153-60.
30. Gale RE, Hills R, Pizzey AR, et al. Relationship between FLT3 mutation status, biologic characteristics, and response to targeted therapy in acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 2005;106:3766-76.
31. Sanz MA, Martín G, González M, León A, Rayón C, Rivas C, et al. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans-retinoic acid and anthracycline monochemotherapy: a multicenter study by the PETHEMA group. *Blood.* 2004;103(4):1237-43.
32. Tallman M, Kim HT, Montesinos P, Appelbaum FR, de la Serna J, Sanz MA, 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;116:5650-9.
33. Tallman MS, Altman JK. How I treat acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 2009;114(25):5126-35.
34. Rashidi A, Riley M, Goldin TA, Sayedian F, Bayerl MG, Aguilera NS, et al. Delay in the administration of all-trans-retinoic acid and its effects on early mortality in acute promyelocytic leukemia: Final results of a multicentric study in the United States. *Leukemia Research.* 2014;38(9):1036-40,.
35. Altman JK, Rademaker A, Cull E, Weitner BB, Ofran Y, Tallman MS, et al. Administration of ATRA to newly diagnosed patients with acute promyelocytic leukemia is delayed contributing to early hemorrhagic death. *Leukemia Research.* 2013;37(9).
36. Sanz MA, Montesinos P. How we prevent and treat differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 2014;123(18):2777-82.
37. Huang ME, Ye YC, Chen SR, Chai JR, Lu JX, Zhao L, et al. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 1988;72:567-72.
38. Land HJ, Bradstock K, Supple SG, Catalano A, Collins M, Hertzberg M, et al. All-trans-retinoic acid, idarubicin, and IV arsenic trioxide as initial therapy in acute promyelocytic leukemia (APML4). 2012;120:1570-80.
39. Sanz M, et al. A Modified AIDA Protocol With Anthracycline-Based Consolidation Results in High Antileukemic Efficacy and Reduced Toxicity in Newly Diagnosed PML/RARA-Positive Acute Promyelocytic Leukemia. *Blood.* 1999;94(9):3015-21.
40. Watts JM, Tallman MS. Acute promyelocytic leukemia: what is the new standard of care? *Blood Rev.* 2014;28(5):205-12.

41. Mathews V, George B, Chendamarai E, Lakshmi KM, Desire S, Balasubramanian P, et al. Single-agent arsenic trioxide in the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: long-term follow-up data. 2010;28:3866-71.
42. Ghavamzadeh A, Alimoghaddam K, Rostami S, Ghaffari SH, Jahani M, Iravani M, et al. Phase II study of single-agent arsenic trioxide for the front-line therapy of acute promyelocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2011;29:2753-7.
43. Mughtar E, Vidal L, Ram R, Gafter - Gvili A, Shpilberg O, Raanani P. The role of maintenance therapy in acute promyelocytic leukemia in the first complete remission. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013(3).
44. Gill H, Yim R, Lee HKK, Mak V, Lin SY, Kho B, et al. Long-term outcome of relapsed acute promyelocytic leukemia treated with oral arsenic trioxide-based reinduction and maintenance regimens: A 15-year prospective study. *Cancer*. 2018;124(11):2316-26.
45. Lo Coco F, Diverio D, Avvisati G, et al. Therapy of molecular relapse in acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 1999;94:2225-9.
46. Esteve J, Escoda L, Martín G, et al. Outcome of patients with acute promyelocytic leukemia failing to front-line treatment with all-trans retinoic acid and anthracycline-based chemotherapy (PETHEMA protocols LPA96 and LPA99): benefit of an early intervention. *Leukemia*. 2007;21:446-52.
47. Grimwade D, Tallman MS. Should minimal residual disease monitoring be the standard of care for all patients with acute promyelocytic leukemia? *Leukemia Research*. 2011;35(1):3-7.
48. Beaumont M, Sanz M, Carli PM, et al. Therapy related acute promyelocytic leukemia: a report on 106 cases. *Journal Clinical Oncology*. 2003;21:2123-37.
49. Choudhry A, DeLoughery TG. Bleeding and thrombosis in acute promyelocytic leukemia. *Am J Hematol*. 2012;87(6):596-603.
50. Montesinos P, Bergua, J. M., Vellenga, E., Rayón, C., Parody, R., Sanz, M. A. et al. Differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and anthracycline chemotherapy: characteristics, outcome, and prognostic factors. *Blood*. 2009;113(4):775-83.

TABELAS

Tabela I. Variáveis clínicas e laboratoriais recolhidas para o presente estudo.

Caracterização do doente
<ul style="list-style-type: none">- Género- Idade- História familiar de doença hematológica- Exposição a quimioterapia/radioterapia ou imunossuppressores- Índice Charlson (idade, Diabetes Mellitus, Hepatopatia, Doença Maligna, HIV, IRC, IC, EAM, DPOC, Doença Vascular Periférica, AVC/AIT, Demência, Hemiplegia, Doença do Tecido conjuntivo, úlcera péptica)
História da Doença
<ul style="list-style-type: none">- Clínica de apresentação- Estratificação de risco segundo <i>Sanz</i>
Exames laboratoriais
<ul style="list-style-type: none">- Hemograma: Hemoglobina, Leucócitos, Neutrófilos, Monócitos e plaquetas; % blastos e promielócitos no sangue periférico; características morfológicas das células leucémicas (morfologia típica/atípica).- Parâmetros bioquímicos completos: DHL, função renal (creatinina e ureia), perfil hepático (ALT/AST), cálcio e fósforo, ácido úrico- Estudo da coagulação: TP, TTPa, fibrinogénio- Citomorfologia (hipergranular/hipogranular/hiperbasofílico, mieloperoxidase)- Perfil Imunofenótipo (citometria de fluxo)- Estudo genético – <i>PML-RARA</i>
Terapêutica
<ul style="list-style-type: none">- Tempo de implantação terapêutica após suspeita de diagnóstico
Esquema de indução:
<ul style="list-style-type: none">- Data de início- Data de remissão hematológica/molecular- Toxicidades<ul style="list-style-type: none">- Síndrome de diferenciação- Tipo de profilaxia
Esquema de consolidação:
<ul style="list-style-type: none">- Data de início- Data de remissão molecular- Toxicidade
Esquema de manutenção
<ul style="list-style-type: none">- Data de início- Toxicidade- Avaliação de resposta
Recidiva
<ul style="list-style-type: none">- Data, tratamento e resposta.
- Data da última observação
- Status na última observação. Causa de morte, se aplicável.

ALT alanina aminotransferase; *AST* aspartato aminotransferase; *DHL* desidrogenase láctica; *TP* tempo protrombina; *TTPa* tempo de tromboplastina parcial ativado.

Tabela II. Clínica documentada à data de apresentação da doença.

Manifestações clínicas	n (%)
Assintomáticos	3 (9.1%)
Hemorragia	27 (81.8%)
Hemorragia mucocutânea	25 (75.8%)
Hemorragia cerebral	3 (9.1%)
Hemorragia do trato urinário	2 (6.1%)
Hemorragia gastrointestinal	1 (3.0%)
Hemorragia ginecológica	1 (3.0%)
Síndrome anémico	14 (42.4%)
Perda ponderal (>10% em 6 meses)	3 (9.1%)
Infeção	2 (6.1%)

Tabela III. Dados laboratoriais à data de apresentação da doença.

	Sem alterações n (%)
DHL	10 (30%)
Enzimas hepáticas (AST/ALT)	28 (85%)
Função renal (creatinina e ureia)	31 (94%)
Cálcio	30 (91%)
Fósforo	32 (97%)
Ácido úrico	29 (88%)

ALT alanina aminotransferase; *AST* aspartato aminotransferase; *DHL* desidrogenase láctica.

Tabela IV. Tratamento de indução e consolidação e toxicidades associadas.

	Indução		Consolidação		Toxicidade da indução			
	n	%	n	%	Infeção n (%)	Mucosite (grau 3/4) n (%)	Hemorragia n (%)	Toxicidade hepática n (%)
PETHEMA99/2005	26	81,3	17	65,4	11 (49%)	4 (14%)	3 (15%)	
PETHEMA2017	5	15,6	6	23,1				3 (17%)
ATRA	1	3,1	1	3,8	1 (5%)			
ATO	-	-	2	7,7				
Total de doentes	32 ^a		26 ^b					

ATRA ácido all-trans-retinóico; *ATO* trióxido de arsénio; PETHEMA99/2005: ATRA+antraciclina; PETHEMA2017: ATRA+ATO.

^a Na indução foram considerados 32 doentes, uma vez que um doente faleceu ao dia 1 após o diagnóstico.

^b Na consolidação foram considerados 26 doentes, uma vez que 5 doentes faleceram antes de terminar a indução e 1 doente não suportaria a toxicidade inerente a este regime terapêutico.

Tabela V. Avaliação dos fatores de risco de mortalidade.

	Sobreviventes	Não sobreviventes	<i>p value</i>
	n=27 (82%)	n=6 (18%)	
	n (%)	n (%)	
Idade >60 anos	5 (18.5)	2 (33.3)	0.422
Leucócitos >10 000 / μ L	5 (18.5)	0	0.252
Plaquetas <40 000 / μ L	16 (59.3)	3 (50)	0.678
Fibrinogênio <150mg/dL	16 (59.3)	3 (50)	0.678
Aumento de DHL	19 (70.4)	3 (50)	0.338
Tempo de início de terapêutica \geq 3d	3 (11.1)	3 (50)	0.025
Variante hipogranular	6 (22.2)	1 (16.7)	0.763
CD2+, CD34+ e /ou CD56+	8 (32.0)	0	0.184

DHL desidrogenase láctica.

Tabela VI. Avaliação dos fatores de risco de recaída.

	Sem Recaída	Recaída	<i>p value</i>
	n=28 (85%)	n=5 (15%)	
	n (%)	n (%)	
Risco Alto (<i>Sanz</i>)	4 (14.3)	1 (20.0)	0.544
Variante hipogranular	5 (17.9)	2 (40.0)	0.265
CD2+, CD34+ e/ou CD56+	5 (20.0)	3 (75.0)	0.022

FIGURAS

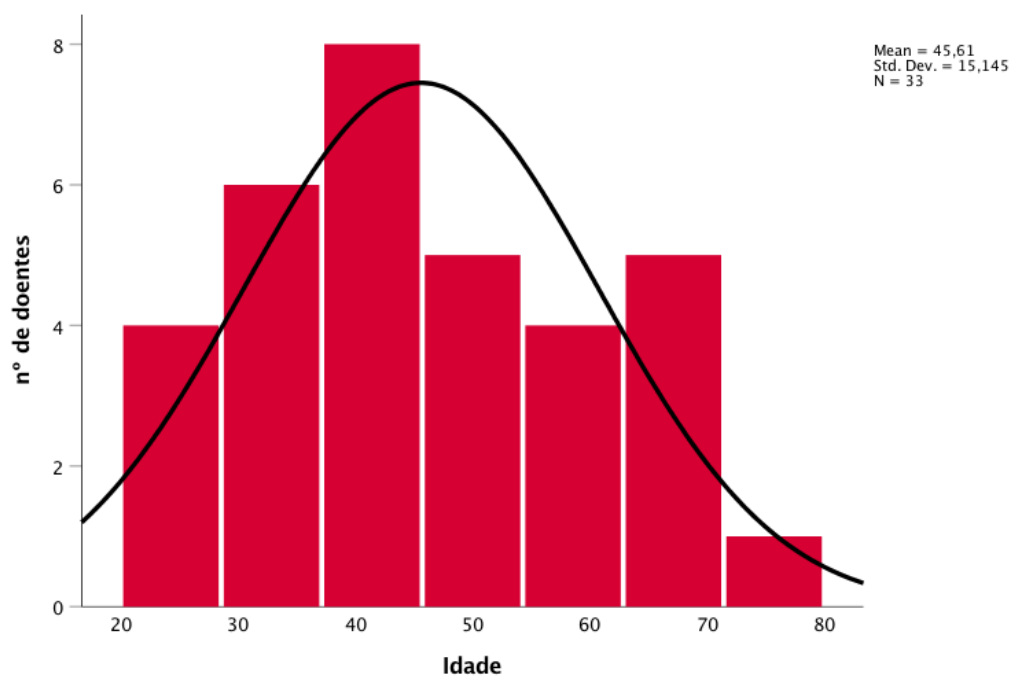


Figura 1. Distribuição da frequência absoluta de idades.

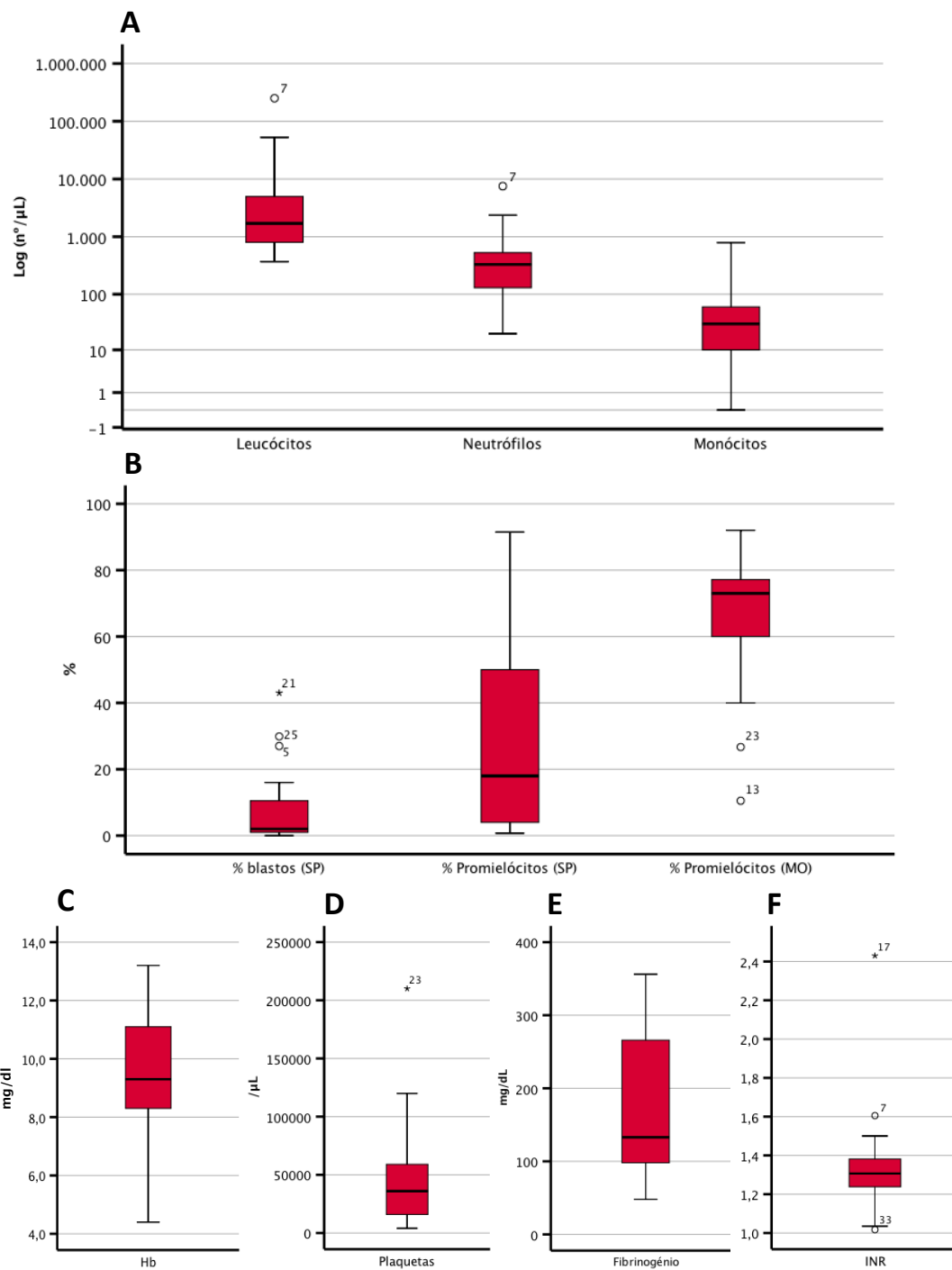


Figura 2. Diagrama de extremos e quartis das variáveis analíticas. (A) Logaritmo da contagem de leucóцитos, neutrófilos e monóцитos por μ L; (B) % de blastos e promielóцитos no sangue periférico (SP) e % de promielóцитos na medula óssea (MO); (C) Hemoglobina (g/dl); (D) Plaquetas por μ L; (E) Fibrinogénio (mg/dl); (F) INR.

Analisando de baixo para cima, o local onde a haste vertical começa indica o mínimo e o local onde a haste termina representa o máximo (retirando os valores mais discrepantes). A caixa entre a haste possui três linhas horizontais: a linha inferior representa o primeiro quartil, a linha interna representa o segundo quartil ou mediana e a linha superior representa o terceiro quartil. Os valores atípicos ou *outliers* são representados como pontos individuais fora do gráfico.

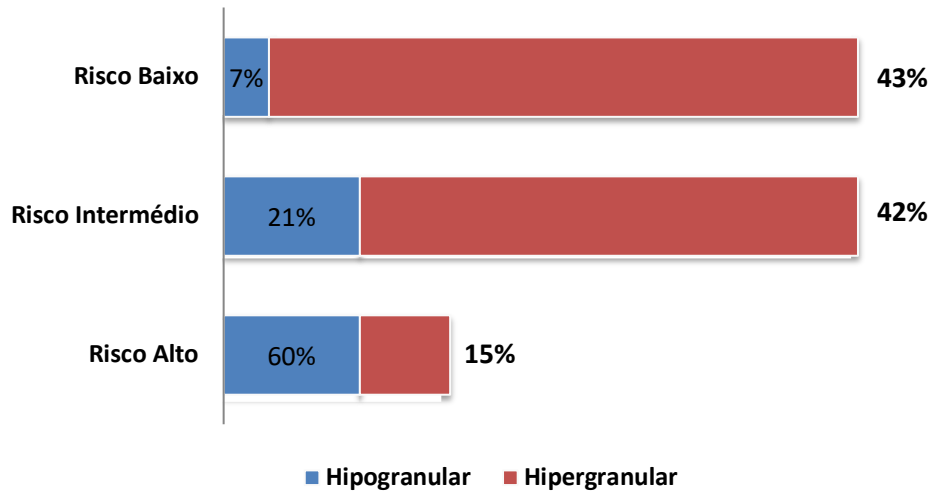


Figura 3. Distribuição da estratificação de risco e sua relação com as variantes morfológicas.

A estratificação do risco foi efetuada segundo os critérios propostos por *Sanz* e colaboradores e as variantes morfológicas foram identificadas de acordo com a classificação *French-American-British* (FAB). Observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre o grupo de alto risco e a variante hipogranular ($p=0.046$). Considera-se baixo risco de recaída quando apresentam valores de leucócitos $<10.000/\mu\text{l}$ e de plaquetas $>40.000/\mu\text{l}$; doentes de risco intermédio com leucócitos $<10.000/\mu\text{l}$ e plaquetas $<40.000/\mu\text{l}$ e doentes de alto risco com leucócitos $>10.000/\mu\text{l}$.

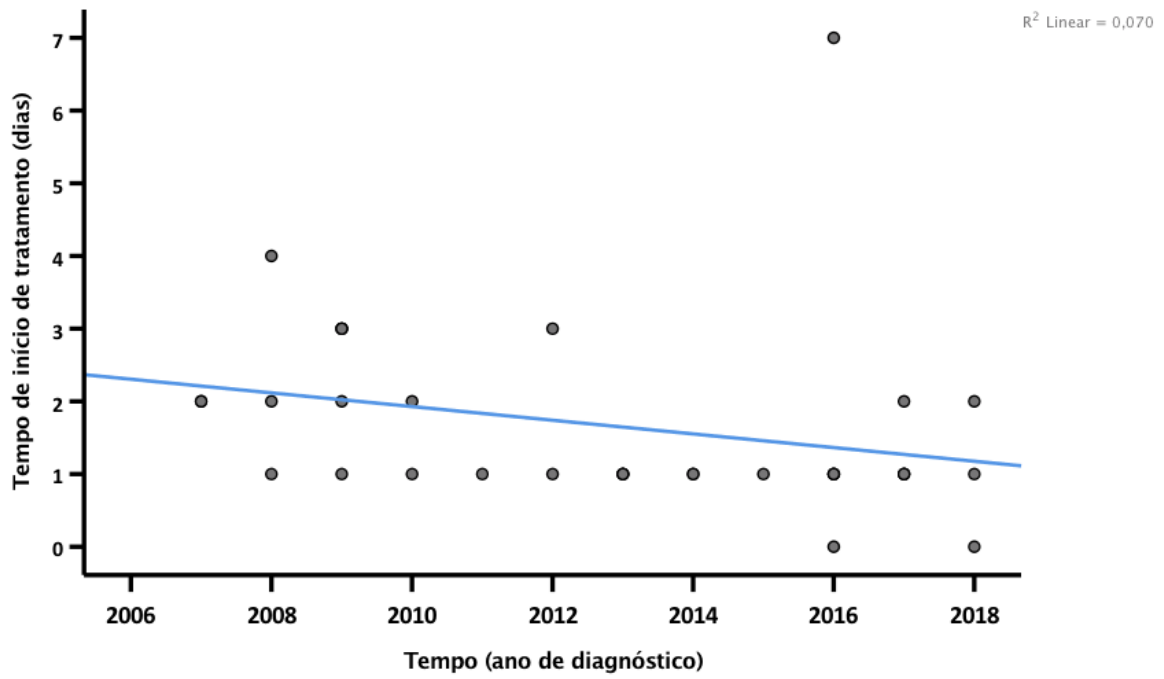


Figura 4. Evolução do número de dias até ao início de tratamento ao longo dos anos.

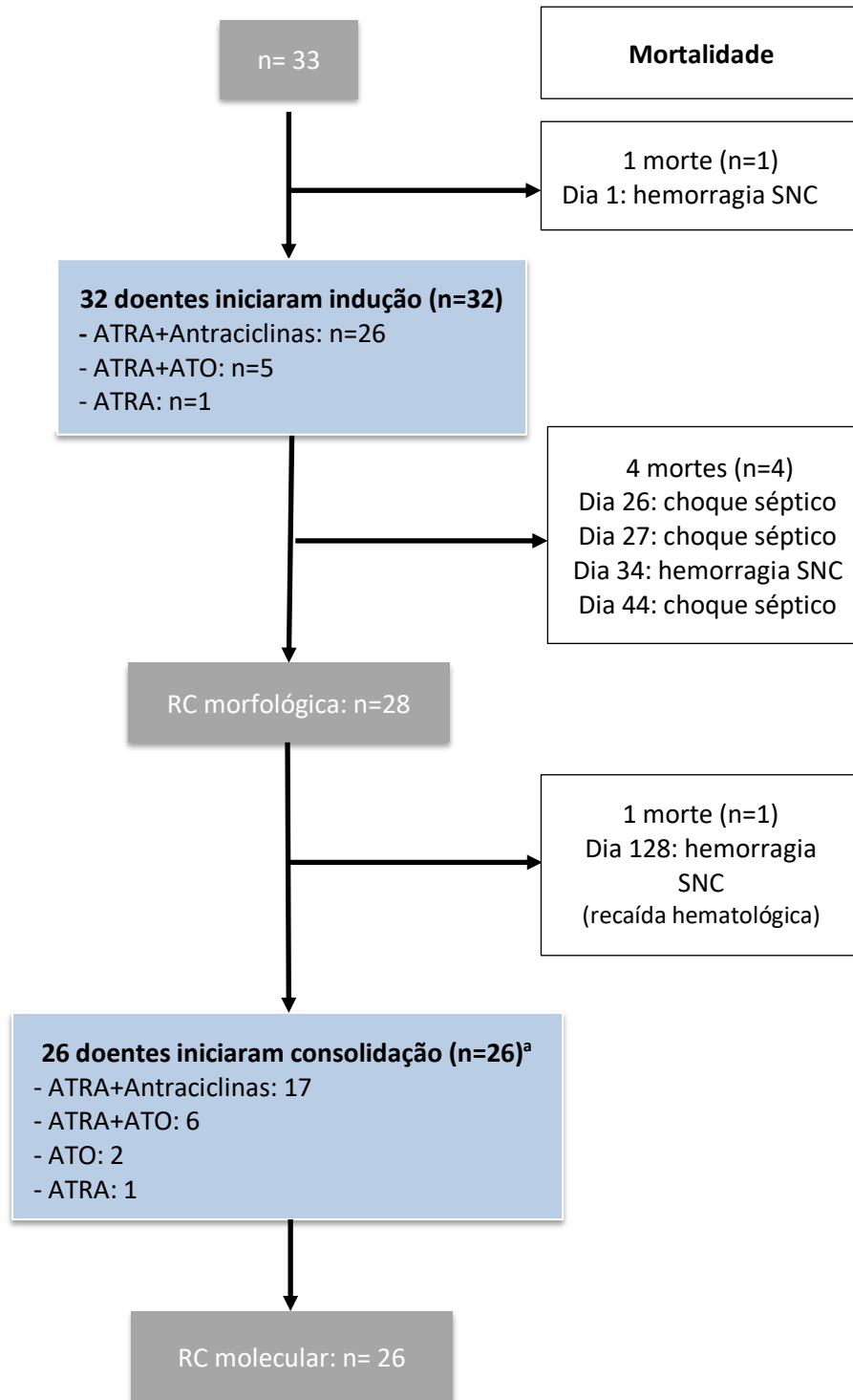


Figura 5. Diagrama de fluxo com indicação dos tratamentos instituídos, respostas obtidas e toxicidades observadas.

ATRA ácido all-trans-retinóico; *ATO* trióxido de arsénio; *RC* remissão completa; *SNC* sistema nervoso central.

^a Na consolidação foram considerados 26 doentes, uma vez que um doente não realizou este regime terapêutico por não suportar a toxicidade associada.

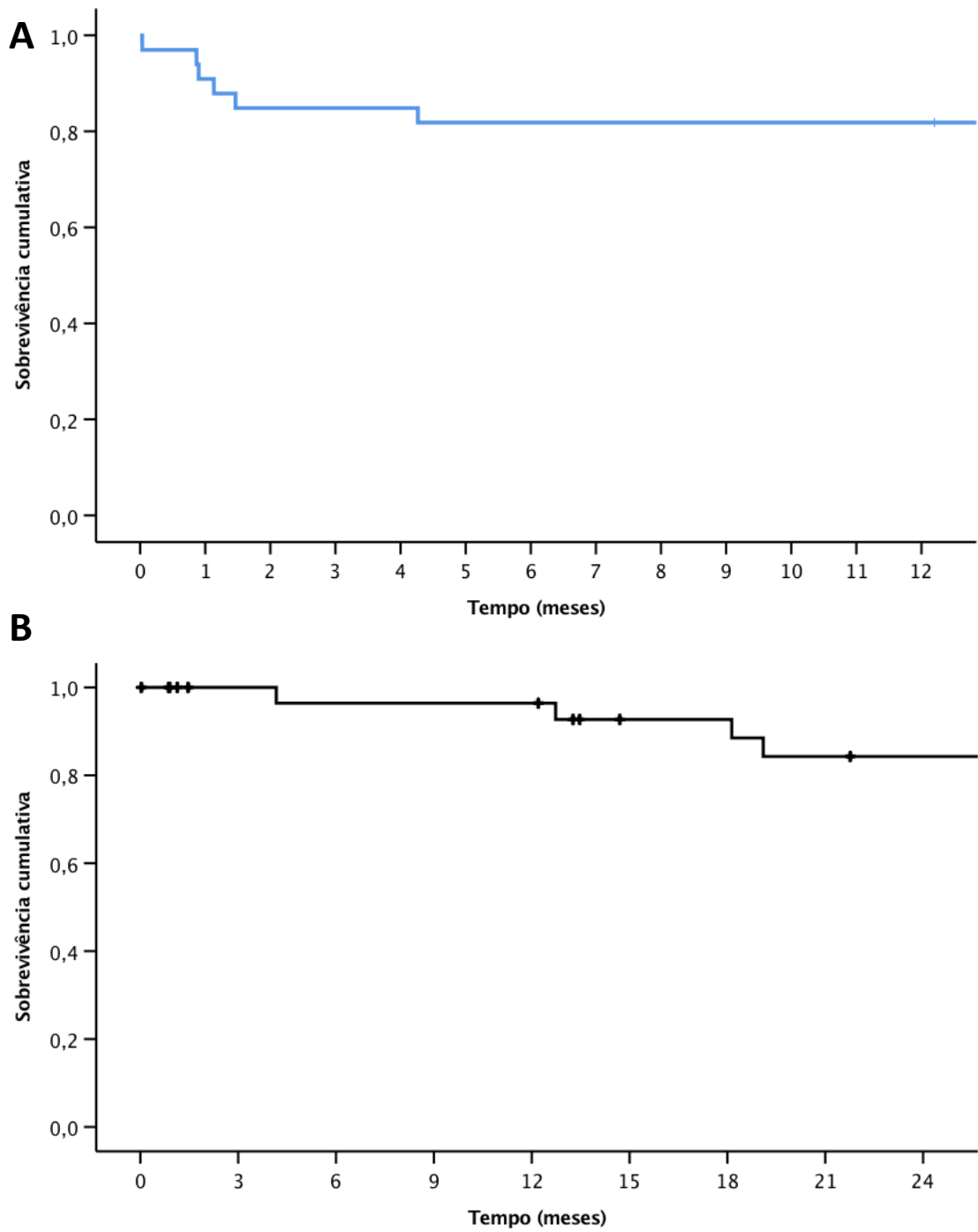


Figura 6. (A) Sobrevida global com *follow up* de 12 meses; (B) Sobrevida livre de doença com *follow up* de 24 meses.