

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

**FERNANDA BORGES DA SILVA**

**Avaliação das alterações citogenéticas e seu impacto clínico em  
pacientes adultos jovens e idosos com diagnóstico de  
leucemia mieloide aguda**

**Ribeirão Preto – SP**

**2021**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

**FERNANDA BORGES DA SILVA**

**Avaliação das alterações citogenéticas e seu impacto clínico em  
pacientes adultos jovens e idosos com diagnóstico de  
leucemia mieloide aguda**

**Versão Corrigida**

*Tese de doutorado apresentada à Pós-Graduação da  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de  
São Paulo para obtenção do título de doutor(a) em Ciências.*

*Área de Concentração: Diferenciação Celular Normal e  
Neoplásica*

*Orientadora: Profa. Dra. Fabíola Traina*

**Ribeirão Preto – SP**

**2021**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

## **FICHA CATALOGRÁFICA**

**Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto**

**Universidade de São Paulo**

Da Silva, Fernanda Borges

Avaliação das alterações citogenéticas e seu impacto clínico em pacientes adultos jovens e idosos com diagnóstico de leucemia mieloide aguda  
– Ribeirão Preto, 2021. 118 p.: il.; 30 cm

Tese de doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

Programa de Pós Graduação em Oncologia Clínica, Células Tronco e Terapia Celular. Área de concentração: Diferenciação celular normal e neoplásica.

Versão Corrigida

Orientadora: Traina, Fabíola

1.Leucemia mieloide aguda 2.Cariótipo 3. Prognóstico

## **APOIO E SUPORTE FINANCEIRO**

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro das seguintes entidades e instituições:

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)
- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP - USP)
- Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP)
- Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FAEPA - HCFMRP - USP).
- Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Células-tronco e Terapia Celular (INCTC) – Projeto nº 14/50947-7;
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP - Centro de Terapia Celular – Centro de pesquisa, inovação e difusão (CEPID/FAPESP) – Projeto nº 2013/08135-2.

Nome: Da Silva, Fernanda Borges

Título: Avaliação das alterações citogenéticas e seu impacto clínico em pacientes adultos jovens e idosos com diagnóstico de leucemia mieloide aguda

*Tese de doutorado apresentada à Faculdade Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de doutor em Ciências.*

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca Examinadora

Prof.Dr:

---

Instituição:

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura:

---

Prof.Dr:

---

Instituição:

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura:

---

Prof.Dr:

---

Instituição:

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura:

---

***Dedicatória***  
*Aos meus pais,*  
*com amor e extrema gratidão*  
*por toda compreensão e incansável*  
*apoio em todas as minhas escolhas.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, meu maior e mais puro amor, por ser minha fortaleza em todos os momentos, e por me conceder sabedoria para alcançar os meus ideais.

À minha orientadora Profa. Dra. Fabíola Traina, agradeço a oportunidade, confiança e por ter se tornado uma grande amiga. Obrigada pela orientação deste trabalho, extrema contribuição para minha formação acadêmica, e exemplo de dedicação, ética e competência.

Ao Programa de Pós-Graduação em Oncologia Clínica, Células Tronco e Terapia Celular, em especial aos Professores Coordenadores e secretários, obrigada pelo apoio acadêmico e oportunidade da realização do meu curso de doutorado. Ao Prof. Dr. Eduardo Magalhães Rego, Profa. Dra. Belinda Pinto Simões, Prof. Dr. Rodrigo T. Calado, Profa Lorena Figueiredo agradeço a oportunidade de realização deste projeto.

Às queridas funcionárias da citogenética, por quem tenho imenso carinho, Virgínia Lipoli, Diva Hodniki e Ivana Barizza, agradeço a grande contribuição ao meu aprendizado. Obrigada pela paciência, cuidado e carinho dedicados a mim.

Aos meus amigos e pós-graduandos do laboratório de hematologia, Bruna Fenerich, André Pinto, João Agostinho, Jaqueline Fernandes, Flor, Flávia Donaires, Juan, Natasha e Bruno. Obrigada pela amizade e torcida em cada conquista e etapa alcançada por mim, e por dividirem comigo esta fase da minha vida.

Agradecimento especial ao meu pai, Belchior Antonio da Silva, obrigada pelo imensurável apoio dedicado a mim, por ter participado de toda trajetória de minha formação e ter contribuído para a realização desse sonho, serei eternamente grata. A minha mãe Eleuza Borges da Silva e irmãs, Daniere Borges da Silva e Paula Fortunato Borges, obrigada por terem feito de suas vidas a luta necessária para as conquistas dos meus ideais. A minha sobrinha Lavínia e o pequeno Miguel, por tornarem meus dias mais felizes e repletos de amor. Obrigada pela estrutura familiar que norteou e apoiou minha vida, minhas escolhas e minhas conquistas. Obrigada pelo amor incondicional e pelo incentivo marcante para que este sonho se realizasse.

*“A vida é curta, a arte é longa, a oportunidade é fugaz,  
a experiência enganosa, o julgamento difícil.”*

*“Há verdadeiramente duas coisas diferentes: saber e crer que se sabe.  
A ciência consiste em saber, em crer que se sabe reside a ignorância.”*

*Hipócrates*



## RESUMO

DA SILVA, FB. **Avaliação das alterações citogenéticas e seu impacto clínico em pacientes adultos jovens e idosos com diagnóstico de leucemia mieloide aguda**, 2021, 118f. Tese de doutorado (Doutorado em Oncologia Clínica, Células Tronco e Terapia Celular) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

A leucemia mieloide aguda (LMA) constitui um grupo heterogêneo de doenças clonais do tecido hematopoiético, caracterizada pelo bloqueio na maturação e pela proliferação anormal de precursores mieloides. A análise de citogenética convencional é um componente obrigatório na avaliação diagnóstica e prognóstica em pacientes com suspeita de LMA. O objetivo do presente estudo foi avaliar as alterações citogenéticas e seu impacto clínico em pacientes adultos jovens e idosos com diagnóstico de LMA do HC FMRP USP. Foi realizada a avaliação de 154 pacientes que foram diagnosticados com LMA, incluindo a leucemia promielocítica aguda (LPA), no período de 2014 e 2021. A análise de citogenética convencional apresentou resultado conclusivo em 137/154 (89%) pacientes e resultado inconclusivo em 17/154 (11%) pacientes. O cariótipo normal foi encontrado em 53/137 (39%) e alterado em 84/137 (61%) pacientes. Pacientes idosos  $\geq 60$  anos apresentaram menor incidência de anormalidades do risco citogenético favorável ( $P=0,0078$ ). Para a análise de desfecho clínico foram avaliados quatro grupos de pacientes de acordo com o cariótipo e terapia de indução: (i) todos os pacientes do estudo ( $n=154$ ), (ii) pacientes que realizaram terapia de indução curativa ( $n=103$ ), (iii) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa ( $n=79$ ) e (iv) pacientes com cariótipo normal que realizaram terapia de indução curativa ( $n=30$ ). As curvas de sobrevida global e sobrevida livre de evento foram estimadas usando Kaplan-Meier e comparações entre os grupos com o teste de log-rank. O modelo multivariado de riscos proporcionais de Cox foi utilizado para definir variáveis associadas com sobrevida. A significância estatística foi definida como valor de  $P < 0,05$ . Fatores preditivos independentes de pior prognóstico para sobrevida global para os pacientes com LMA adultos jovens e idosos variaram de acordo com a coorte estudada: leucócitos  $\geq 50 \times 10^9/L$  (Hazard ratio [HR] 2,04;  $P=0,01$ ) e risco citogenético (HR 2,17;  $P=0,02$ ) (todos os pacientes com LMA), albumina  $< 3,8g/dL$

(HR 1,88;  $P=0,04$ ) e risco citogenético (HR 2,77;  $P=0,01$ ) (LMA que realizaram terapia de indução curativa), albumina  $<3,8\text{g/dL}$  (HR 2,56;  $P=0,01$ ), remissão completa (HR 5,18;  $P=0,00$ ) e terapia final de consolidação (HR 6,80;  $P=0,00$ ) (LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa), idade (HR 1,06;  $P=0,03$ ) e albumina (HR 4,31;  $P=0,00$ ) (LMA com cariótipo normal que receberam terapia de indução curativa). Fatores preditivos independentes de pior sobrevida livre de evento, considerando pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa foram: idade (HR 1,04;  $P=0,01$ ) e terapia final de consolidação (HR 5,20;  $P=0,00$ ). Em conclusão, o cariótipo ao diagnóstico é um preditor independente de sobrevida global em pacientes adultos jovens e idosos com LMA. A citogenética convencional permite identificar subgrupos biologicamente distintos da doença e auxilia na definição das abordagens terapêuticas. Fatores demográficos, laboratoriais e fatores relacionados ao tratamento apresentam impacto prognóstico em LMA e podem auxiliar na conduta terapêutica em um centro com recursos limitados.

Palavras-chave: Leucemia mieloide aguda, cariótipo, prognóstico.

## ABSTRACT

DA SILVA, FB. **Assessment of cytogenetic alterations and their clinical impact in young adult and elderly patients diagnosed with acute myeloid leucemia**, 2021, 118f. Tese de doutorado (Doutorado em Oncologia Clínica, Células Tronco e Terapia Celular) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

Acute myeloid leukemia (AML) is a heterogeneous group of clonal diseases of hematopoietic tissue, characterized by blocking maturation and abnormal proliferation of myeloid precursors. Conventional cytogenetic analysis is a mandatory component in the diagnostic and prognostic evaluation in patients with suspected AML. The aim of the present study was to evaluate the cytogenetic alterations and their clinical impact in young and elderly adult patients diagnosed with AML at the HC FMRP USP. We evaluated 154 patients who were diagnosed with AML, including acute promyelocytic leukemia (APL), between 2014 and 2021. Conventional cytogenetic analysis showed conclusive results in 137/154 (89%) patients and inconclusive results in 17/154 (11%) patients. The normal karyotype was found in 53/137 (39%) and altered in 84/137 (61%) patients. Elderly patients  $\geq 60$  years had a lower incidence of favorable cytogenetic risk abnormalities ( $P=0.0078$ ). For the analysis of clinical outcome, four groups of patients were evaluated according to induction therapy and karyotype: (i) all patients in the study ( $n=154$ ), (ii) patients who received curative induction therapy ( $n=103$ ), (iii) patients with AML non-APL who received curative induction therapy ( $n=79$ ) and (iv) patients with normal karyotype who received curative induction therapy ( $n=30$ ). Overall survival and event-free survival curves were estimated using Kaplan-Meier and log-rank test. The Cox proportional hazards multivariate model was used to define variables associated with survival. Statistical significance was defined as  $P<0.05$ . Independent predictors of worse prognosis for overall survival for young and elderly AML patients varied according to the studied cohort: WBC  $\geq 50 \times 10^9/L$  (Hazard ratio [HR] 2.04;  $P=0.01$ ) and cytogenetic risk (HR 2,17;  $P=0.02$ ) (all AML patients), albumin  $<3.8g/dL$  (HR 1,88;  $P=0.04$ ) and cytogenetic risk (HR 2,77;  $P=0.01$ ) (AML who received curative induction therapy), albumin  $<3.8g/dL$  (HR 2,56;  $P=0.01$ ), complete remission (HR 5,18;  $P=0.00$ ) and final consolidation therapy (HR 6,80;  $P=0.00$ ) (AML non-APL who received curative induction therapy), age (HR 1.06;  $P=0.03$ ) and albumin (HR

4,31;  $P=0.00$ ) (AML with normal karyotype who received curative induction therapy). Independent predictors of worse event-free survival, considering non-APL AML patients who received curative induction therapy were: age (HR 1.04;  $P=0.01$ ) and final consolidation therapy (HR 5,20;  $P =0.00$ ). In conclusion, karyotype at diagnosis is an independent predictor of overall survival in young and elderly adult AML patients. Conventional cytogenetics allows identifying biologically distinct subgroups of the disease and helps to define therapeutic approaches. Demographic, laboratory, and treatment-related factors have a prognostic impact in AML and may help in the therapeutic management in a center with limited resources.

Keywords: Acute myeloid leukemia, karyotype, prognostic.

## LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

LMA- leucemia mieloide aguda  
LA- leucemia aguda  
INCA- Instituto Nacional do Câncer  
FAB- Franco Américo Britânico  
OMS- Organização Mundial da Saúde  
SMD- síndrome mielodisplásica  
MRC- *Medical Research Council*  
ELN- *European LeukemiaNet*  
TCTH- transplante de células tronco hematopoiéticas  
AGR- *Adapted Genetic Risk*  
LPA- leucemia promielocítica aguda  
RT-PCR- reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa  
ATRA-*all-Trans-Retinoico*  
ATO- trióxido de arsnico  
Hb- hemoglobina  
Neutro- neutrófilos  
Plt- plaquetas  
add- adicional  
del- deleo  
inv- inversão  
mar- marcador  
CBF- *core-binding factor*  
NMP- neoplasia mieloproliferativa  
NA- não atingida

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Imagem representativa do processamento realizado para o método de citogenética e obtenção de células em metáfase.....	39
Figura 2. Representação do sítio de hibridização da sonda específica para deleção no <i>TP53</i> no cromossomo 17. O painel à esquerda ilustra o cromossomo 17 e o núcleo em interfase com a marcação do gene <i>TP53</i> em vermelho e marcação do centrômero do cromossomo 17 (marcador) em verde. O painel à direita ilustra o cromossomo 17 e núcleo em interfase indicando a deleção do <i>TP53</i> , com a ausência da marcação vermelha em um dos cromossomos 17 e marcação centromérica (marcador) em verde em ambos os cromossomos.....	41
Figura 3. Fluxograma representando os pacientes do estudo.....	44
<b>Figura 4. O cariótipo convencional indicou a t(15;17):</b> 46,XY,t(15;17)(q22;q21). As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 15 e 17.....	47
<b>Figura 5. O cariótipo convencional indicou a t(8;21):</b> 46,XX,t(8;21)(q22;q22.1). As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 8 e 21.....	47
<b>Figura 6. O cariótipo convencional indicou a inv(16):</b> 46,XY, inv(16)(p13.1q22). As setas indicam os pontos de quebra da inversão pericêntrica no cromossomo 16.....	48
Figura 7. O cariótipo convencional indicou a t(6;9): 46,XX, t(6;9)(p23;q34.1). As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 6 e 9. ....	48
Figura 8. O cariótipo convencional indicou a t(9;11): 47,XY,+der(1)t(1;19)(p13;p13.1),t(9;11)(p21.3;q23). As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 1 e 19 e os pontos de quebra dos cromossomos 9 e 11. ....	49
<b>Figura 9. Cariótipo convencional indicou cariótipo tetraploide com a t(9;22):</b> 92<4n>,XXXX,-4,-5,+6,-7,-11,+12,-13,-14,+15,-17,-21,t(9;22)(q34q11)x2. As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 9 e 22.....	49
Figura 10. Imagem representativa de uma das anormalidades cromossômicas que definem o subtipo “LMA com alterações mielodisplásicas. O cariótipo convencional indicou a 46,XY,i(17)(q10); a seta indica a anormalidade no cromossomo 17 (painel superior). A FISH indicou a deleção do <i>TP53</i> em uma célula em metáfase (painel inferior à esquerda) e em um núcleo em interfase (painel inferior à direita).....	50
<b>Figura 11.</b> Sumário da estratificação de risco das LMAs de acordo com o <i>Medical Research Council</i> (MRC) 2010, <i>European Leukemia Net</i> (ELN) 2010, <i>ELN 2017</i> e <i>Adapted Genetic Risk</i> (AGR). ....	54
Figura 12. Estratificação de risco das LMAs distribuídas de acordo com a idade. (A) Grupo de risco citogenético <i>MRC 2010</i> . (B) Grupo de risco <i>ELN 2010</i> . (C) Grupo de risco <i>ELN 2017</i> . (D) Grupo de risco <i>AGR</i> .....	56
<b>Figura 13. Análise da sobrevida global de acordo com a faixa etária.</b> (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes $\geq 60$ anos apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global quando foi avaliado todos os pacientes do estudo ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	60
<b>Figura 14. Análise da sobrevida global de acordo com a contagem de leucócitos.</b> (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes com contagem de leucócitos $\geq 50 \times 10^9/L$ apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global para o grupo que	

incluiu todos os pacientes do estudo e para o grupo de pacientes que receberam terapia de indução curativa ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....61

**Figura 15. Análise de sobrevida global de acordo com a albumina.** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa, (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes com valores de albumina  $< 3,8$  g/dL apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global nos três grupos avaliados ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....62

**Figura 16. Análise de sobrevida global de acordo com a categoria citogenética.** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução. Pacientes com a categoria t(15;17) apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-ank. ....64

**Figura 17. Análise de sobrevida global de acordo com o cariótipo complexo.** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução. Pacientes com o cariótipo complexo apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo e para o grupo que incluiu os pacientes que realizaram terapia de indução curativa ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....66

**Figura 18. Análise de sobrevida global de acordo com o risco citogenético 1 (grupo de risco favorável versus grupo de risco intermediário versus grupo de risco desfavorável).** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. O risco citogenético teve impacto significativo na sobrevida no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....68

**Figura 19. Análise de sobrevida global de acordo com o risco citogenético 2 (grupo de risco favorável versus outros).** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes do grupo de risco citogenético favorável apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo e no grupo de pacientes que realizaram terapia de indução curativa ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....69

**Figura 20. Análise de sobrevida global de acordo com o risco citogenético 3 (grupo de risco desfavorável versus outros).** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Não foi observado diferença significativa em relação ao risco citogenético 3 para os três grupos de pacientes avaliados ( $P \geq 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....70

Figura 21. Análise de sobrevida global de acordo com a estratificação do risco genético para o grupo de pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. (A) estratificação de risco pelo *European Leukemia Net* (ELN) 2010 (B) estratificação de risco pelo ELN 2017 sem considerar as mutações em RUNX1, ASXL1 e TP53), e (C) estratificação de risco pelo *Adapted Genetic Risk* (AGR). Não foi observado diferença significativa para a sobrevida

global para os três grupos de risco genético ( $P \geq 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	72
Figura 22. Análise da sobrevida global de acordo com a terapia de indução curativa para o grupo que incluiu todos os pacientes do estudo. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	74
Figura 23. Análise de sobrevida global de acordo com o momento que o paciente atingiu remissão (após primeira indução ou segunda indução). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	74
<b>Figura 24. Análise de sobrevida global de acordo com o TCTH alogênico</b> em (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes que realizaram o TCTH alogênico apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	75
Figura 25. Análise de sobrevida global na coorte de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa. O transplante de células tronco hematopoiético (TCTH) realizado em qualquer fase do tratamento foi considerado de acordo com a modalidade do doador: autólogo (auto), alogênico (alo) HLA compatível e alogênico haploidêntico. Pacientes que não foram submetidos ao TCTH entraram no grupo de quimioterapia. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	76
Figura 26. Análise de sobrevida global de pacientes com LMA não LPA de acordo com o tratamento realizado: completo <i>versus</i> incompleto. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	77
Figura 27. Análise de sobrevida global para pacientes com LMA não LPA que completaram o tratamento, de acordo com a modalidade de terapia final de consolidação. Apenas o transplante de células tronco hematopoiético (TCTH) realizado em primeira remissão foi computado, e categorizado de acordo com a modalidade do doador: autólogo (auto), alogênico (alo) HLA compatível e alogênico haploidêntico. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	78
<b>Figura 28. Análise multivariada para a sobrevida global em todos os pacientes do estudo.</b> O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. & HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada, HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada. Abreviações: HR, Hazard ratio; vs, <i>versus</i> . ....	80
Figura 29. Análise multivariada para sobrevida global em pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa. O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. & HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada, HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada. Abreviações: HR, Hazard ratio; vs, <i>versus</i> . ....	82
<b>Figura 30. Análise multivariada para sobrevida global em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa.</b> O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. & HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada, HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada. Abreviações: HR, Hazard ratio; vs, <i>versus</i> . ....	84
<b>Figura 31. Análise multivariada para sobrevida global em pacientes com LMA com cariótipo normal que realizaram terapia de indução curativa.</b> O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. *O aumento nos valores para a variável contínua apresenta um pior resultado; † A diminuição nos valores da	



variável contínua apresenta um pior resultado. & HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada, HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada. Abreviações: HR, Hazard ratio. ....	86
Figura 32. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com a faixa etária. Não foi observado diferença significativa em relação a idade para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meyer e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	87
Figura 33. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o leucócito. Não foi observado diferença significativa em relação ao leucócito para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meyer e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	87
Figura 34. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com a albumina. Pacientes com valores de albumina <3,8g/dL apresentaram um pior desfecho para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meyer e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	88
Figura 35. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com a (A) categoria citogenética e a (B) categoria cariótipo complexo. Não foi observado diferença significativa em relação a categoria citogenética para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meyer e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	89
Figura 36. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o (A) risco citogenético 1(B) risco citogenético 2 e (C) risco citogenético 3. Não foi observado diferença significativa em relação ao risco citogenético para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meyer e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	90
Figura 37. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o (A) ELN 2010 (B) ELN 2017 e (C) AGR. Não foi observado diferença significativa em relação ao risco genético para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meyer e comparadas pelo teste de Log-Rank.....	92
Figura 38. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o tempo para atingir remissão. Não foi observado diferença significativa em relação tempo para atingir remissão para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meyer e comparadas pelo teste de Log-Rank.....	93
Figura 39 Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o TCTH alogênico. Não foi observado diferença significativa em relação ao TCTH alogênico para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meyer e comparadas pelo teste de Log-Rank. ....	93
<b>Figura 40. Análise multivariada para sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa.</b> O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. *O aumento nos valores para a variável contínua apresenta um pior resultado; O primeiro fator para a variável categórica apresenta um pior resultado; & HR>1 indica pior sobrevida Abreviações: HR, Hazard ratio; Vs, <i>versus</i> . ....	96

Figura 41. Imagem representativa de fatores preditivos independentes de prognóstico em pacientes adultos jovens e idosos com LMA. Os quadros em azul indicam valores de *P* significativos obtidos nas análises multivariadas de regressão de Cox; as variáveis testadas como confundidores em cada grupo são definidas no texto. ....96

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Anormalidades citogenéticas relacionadas a LMA com alterações mielodisplásicas..	26
Tabela 2. Estratificação de risco pelo ELN 2010 de acordo com as alterações genéticas .....	29
Tabela 3. Estratificação de risco pelo ELN 2017 de acordo com as alterações genéticas .....	30
Tabela 4. Estratificação de risco pelo AGR de acordo com as alterações genéticas .....	32
Tabela 5. Características demográficas e laboratoriais dos pacientes do estudo .....	45
Tabela 6. Classificação da LMA de acordo com a OMS .....	46
Tabela 7. Anormalidades cromossômicas de acordo com o MRC 2010.....	51
Tabela 8. Descrição das anormalidades cromossômicas numéricas e estruturais definidas pela citogenética convencional .....	52
Tabela 9. Descrição das translocações definidas pela citogenética convencional dos pacientes do estudo. ....	53
Tabela 10. Estratificação de risco das LMAs de acordo com o grupo de risco e a idade .....	55
Tabela 11. Estratificação de risco das LPAs (n=24).....	56
Tabela 12. Distribuição dos dados demográficos, clínicos, laboratoriais, citogenéticos e moleculares nos quatro grupos avaliados para desfecho.....	58
Tabela 13. Análises para sobrevida global em todos os pacientes do estudo (n=154) .....	79
Tabela 14. Análises para sobrevida global em pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa (n=103) .....	81
Tabela 15. Análises para sobrevida global em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (n=79) .....	83
Tabela 16. Análises para sobrevida global em pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa com cariótipo normal (n=30).....	85
Tabela 17. Análises para sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (n=61) .....	95

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	23
1.1	Leucemia mieloide aguda .....	23
1.2	A importância da citogenética em LMA.....	27
1.3	Leucemia promielocítica aguda .....	32
2	OBJETIVOS .....	35
2.1	Objetivo geral .....	35
2.2	Objetivos Específicos .....	35
3	MATERIAL E METODOS .....	37
3.1	Casuística.....	37
3.2	Citogenética convencional.....	38
3.2.1	Cultivo celular .....	38
3.2.2	Processamento da amostra para a citogenética .....	38
3.2.3	Bandeamento G e análise do cariótipo.....	39
3.3	Hibridização in situ por fluorescência (FISH) .....	39
3.4	Análises estatísticas.....	41
4	RESULTADOS .....	44
4.1	Classificação das LMAs de acordo com a OMS .....	45
4.2	Anormalidades cromossômicas de acordo com o MRC 2010 .....	51
4.3	Estratificação de risco genético das LMAs .....	53
4.4	Estratificação de risco das LPAs .....	56
4.5	Análises para desfechos clínicos de pacientes com LMA.....	56
4.5.1	Sobrevida global em pacientes com LMA de acordo com fatores demográficos e laboratoriais .....	59
4.5.2	Sobrevida global em pacientes com LMA de acordo com a citogenética .....	63
4.5.3	Sobrevida global em pacientes com LMA de acordo com a estratificação genética	71
4.5.4	Sobrevida global em pacientes com LMA de acordo com o tratamento .....	73
4.5.5	Sobrevida global em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução, categorizados de acordo com a modalidade de terapia de consolidação.....	76
4.5.6	Análises univariada e multivariada para a sobrevida global em pacientes com LMA	78

4.5.7	Sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa .....	86
4.5.8	Análises univariada e multivariada para sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa .....	94
5	DISCUSSÃO .....	98
6	CONCLUSÃO .....	107
	REFERÊNCIAS.....	110
	ANEXOS.....	116
	Anexo I. Comprovação do Comitê de Ética do HC FMRP USP .....	116

# ***INTRODUÇÃO***

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Leucemia mieloide aguda

A leucemia mieloide aguda (LMA) constitui um grupo heterogêneo de doenças clonais do tecido hematopoiético, caracterizadas pelo bloqueio na maturação e pela proliferação anormal de precursores mieloides. Essas células se acumulam na medula óssea, podendo invadir o sangue periférico e infiltrar outros órgãos, levando frequentemente a um quadro de anemia, neutropenia, plaquetopenia e presença de células imaturas no sangue periférico (Steven Swerdlow, Elias Campo 2017).

A LMA é o tipo mais comum das leucemias agudas do adulto, em contraste, é pouco frequente na infância, correspondendo à cerca de 20% dos casos na infância (Siegel, Miller, and Jemal 2019). O Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos estimou uma incidência anual de 3,6 casos de LMA para cada 100.000 habitantes, o que a torna uma doença relativamente rara. Esse mesmo instituto estimou uma sobrevivência global em cinco anos de 23,4% para pacientes americanos acompanhados entre 2002 e 2008. No Brasil, a incidência de LMA é desconhecida, uma vez que o Instituto Nacional do Câncer (INCA) relata apenas dados referentes às leucemias em geral. Para o ano de 2019, o INCA estimou a ocorrência de 8,5 novos casos de leucemias para cada 100.000 habitantes (Ministério da Saúde 2018).

Há aproximadamente uma década, foi proposto um modelo para o processo leucemogênico da LMA, chamado de “*two hit model*”. Segundo este modelo, o desenvolvimento da LMA é considerado um processo multipasso que requer a colaboração de pelo menos duas classes de mutações. Este modelo compreende as mutações de classe I, que ativam vias de transdução de sinal e conferem vantagem proliferativa às células hematopoiéticas, e as mutações de classe II, que afetam fatores de transcrição e primariamente impedem a diferenciação hematopoiética. Mutações que afetam os genes *FLT3*, *KIT* e os da família *RAS* são consideradas mutações de classe I, enquanto que aberrações cromossômicas como  $t(8;21)$ ,  $inv(16)$  e  $t(15;17)$ , que geram, respectivamente, os rearranjos gênicos *RUNX1::RUNX1T1*, *CBFB::MYH11* e *PML::RARA*, juntamente com as mutações nos genes *RUNX1*, *CEBPA* e *MLL* são consideradas mutações de classe II. De acordo com esse modelo, o acúmulo de mutações de classe I e II culminaria no desenvolvimento de progenitores hematopoiéticos transformados, capazes de propagar o fenótipo leucêmico (Kelly and Gilliland 2002). A

fisiopatologia da LMA têm sido alvo de estudos que avançou com o progresso das técnicas moleculares que permitiram um melhor entendimento da heterogeneidade e complexidade da doença. O modelo “*multi-hit model*” enfatizou a importância das mutações de classe III que apresentam papel importante na patogênese de LMA com genes envolvidos na regulação epigenética como o *TET2*, *DNMT3A*, *IDH1* e *IDH2* (Papaemmanuil et al. 2016)(Nasserredine et al. 2017).

A LMA é uma doença clinicamente, morfológicamente e geneticamente heterogênea. Devido a heterogeneidade da doença, houve tentativas de classificar a LMA em diferentes grupos clinicamente relevantes. O grupo Franco Américo Britânico (FAB) classificou os subtipos de LMA baseado na morfologia e características citoquímicas usando designações de M0 a M7. No entanto, com o surgimento de evidências da importância das anormalidades cromossômicas no prognóstico em LMA, não ficou claro se os subtipos FAB adicionaram informações prognósticas além das anormalidades disponíveis na classificação, como exemplo, a t(15;17) para M3 e inv(16) para M4 (Vardiman et al. 2009)(Walter et al. 2013).

Posteriormente, as LMAs foram classificadas de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) com última revisão em 2016 (Steven Swerdlow, Elias Campo 2017) e consolidada em 2017, considerando as características clínicas, morfológicas, citoquímicas, imunofenotípicas, citogenéticas e moleculares. O diagnóstico da LMA é realizado a partir da observação do quadro clínico agudo de anemia, febre e sangramento cutâneo mucoso. No hemograma ao diagnóstico é frequente encontrar anemia, plaquetopenia, neutropenia e presença de mieloblastos. Para o diagnóstico, a contagem de mieloblastos e/ou monoblastos/promonócitos e/ou megacarioblastos deve ser igual ou superior a 20%, desde que 200 ou 500 células sejam contadas no sangue periférico ou na medula óssea, respectivamente. Além disso, a citoquímica e a imunofenotipagem são essenciais para demonstrar a diferenciação mieloide dos blastos, auxiliando no diagnóstico e na classificação do subtipo de LMA (Steven Swerdlow, Elias Campo 2017)(Vardiman et al. 2009).

A classificação da OMS categorizou os subtipos de LMA da seguinte maneira: (1) LMA com anormalidades genéticas recorrentes, (2) LMA com alterações mielodisplásicas, (3) neoplasias mieloides relacionadas a terapia, (4) leucemias mieloides não especificadas, (5) sarcoma mieloide, (6) neoplasias mieloides relacionadas à síndrome de Down. Um dos maiores e mais importantes desafios na classificação da OMS foi a incorporação de anormalidades genéticas moleculares e a definição de alterações



cromossômicas recorrentes associadas à LMA, que permitiu um melhor entendimento sobre a patogênese da doença e a classificação em grupos distintos. A análise citogenética convencional permanece obrigatória na avaliação da suspeita de LMA. Oito translocações e inversões balanceadas e suas variantes estão incluídas na categoria da OMS “LMA com anormalidades genéticas recorrentes” (Arber et al. 2016). Nove rearranjos balanceados e diversas anormalidades cromossômicas não balanceadas podem estabelecer o diagnóstico de "LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia" na presença de 20% ou mais de blastos na medula óssea ou sangue periférico.

O subgrupo LMA com anormalidades genéticas recorrentes inclui LMA com  $t(8;21)(q22;q22)$  que apresenta fusão gênica *RUNX1::RUNX1T1*, LMA com  $inv(16)(p13.1q22)$  ou  $t(16;16)(p13.1;q22)$  com fusão *CBFB::MYH11* e LMA com  $t(15;17)(q22;q12)$  com fusão de *PML::RARA*, as quais definem diagnóstico de LMA independente da porcentagem de blastos na medula óssea ou sangue periférico. A  $t(8;21)$ , envolvendo *RUNX1::RUNX1T1*, e  $inv(16)/t(16;16)$ , envolvendo *CBFB::MYH11*, apresentam fusões quiméricas que envolvem o complexo *core-binding factor* (CBF), um regulador da hematopoiese, o que denomina esse grupo como CBF-AML. LMA com anormalidades no gene *KMT2A* localizado no cromossomo 11q23 têm sido revisada e a forma mais frequente e melhor caracterizada das alterações do gene *KMT2A* é a  $t(9;11)(p21.3;q23.3)$  com fusão de *KMT2A::MLL3*. Embora esta translocação esteja especificamente listada na classificação da OMS, as formas variantes devem ser especificadas no diagnóstico, por exemplo, LMA com  $t(11;19)(q23;p13.3)$  com fusão de *MLL::EM*. LMA envolvendo rearranjos cromossômicos  $t(6;9)(p23;q34.1)$ ; *DEK::NUP214*,  $inv(3)(q21.3q26.2)$  ou  $t(3;3)(q21.3;q26.2)$ ; *GATA2*, *MECOM*, e LMA megacarioblástica, com  $t(1;22)(p13.3;q13.1)$ ; *RBM15::MKLI*, também foram incorporadas na classificação da OMS, sendo esta última uma anormalidade rara e comum na infância. Além das alterações citogenéticas, mutações em *NPM1* e mutações bialélicas em *CEPBA* foram incluídas na classificação da OMS e mutações no *RUNX1* e a LMA com  $t(9;22)(q34;q11.2)$  com fusão gênica *BCR::ABL1* foram definidas como entidades provisórias (Steven Swerdlow, Elias Campo 2017) (Arber et al. 2016) (Mrózek, Heerema, and Bloomfield 2004).

O subgrupo de LMA com alterações mielodisplásicas apresenta 20% ou mais de blastos na medula óssea ou sangue periférico e é caracterizado por (1) história prévia de síndrome mielodisplásica (SMD) ou SMD/neoplasia mieloproliferativa com evolução para LMA, (2) LMA com displasia de múltiplas linhagens (3) anormalidades

citogenéticas relacionadas a SMD (Tabela 1). Critérios de exclusão importantes para esse subgrupo incluem terapia prévia citotóxica ou de radiação para uma doença não relacionada ou a presença de anormalidades citogenéticas descritas no subgrupo LMA com anormalidades genéticas recorrentes (Arber et al. 2016).

**Tabela 1. Anormalidades citogenéticas relacionadas a LMA com alterações mielodisplásicas**

<b>Anormalidades não balanceadas</b>	<b>Anormalidades balanceadas</b>
-7 ou del(7q)	t(11;16)(q23.3;p13.3)†
del(5q) ou t(5q)	t(3;21)(q26.2;q22.1)†
i(17q) or t(17p)	t(1;3)(p36.3;q21.2)
-13 or del(13q)	t(2;11)(p21;q23.3)†
del(11q)	t(5;12)(q32;p13.2)
del(12p) ou t(12p)	t(5;7)(q32;q11.2)
idic(X)(q13)	t(5;17)(q32;p13.2)
	t(5;10)(q32;q21)
	t(3;5)(q25.3;q35.1)

Os fatores prognósticos podem ser subdivididos entre aqueles relacionados às características do paciente e à sua condição de saúde geral e aqueles relacionados às características do clone leucêmico. Os fatores do primeiro grupo são particularmente relevantes na predição da mortalidade relacionada ao tratamento e torna-se mais importante com o aumento da idade do paciente. Já os do segundo grupo são preditivos da resistência à terapia convencional (Döhner et al. 2017). Em relação aos fatores relacionados às características do paciente, a idade tem sido descrita como o fator mais importante. O prognóstico tende a piorar com a idade muitas vezes a despeito de outros fatores importantes, como citogenética, genética molecular ou subtipo de LMA. Além disso, pacientes idosos apresentam uma incidência maior de outros fatores de pior prognóstico, tais como a ocorrência simultânea de comorbidades, maior frequência de alterações citogenéticas de alto risco (Döhner et al. 2017)(Döhner et al. 2010). Os fatores prognósticos relacionados à LMA incluem a contagem de leucócitos, a existência de história prévia de síndrome mielodisplásica ou neoplasia mieloproliferativa e a terapia citotóxica prévia para outras desordens. A hiperleucocitose (convencionalmente definida como uma contagem de leucócitos superior a 50–100 x 10<sup>9</sup>/L no SP) tem sido associada a um prognóstico desfavorável devido morte precoce e alto risco de recaída (Döhner et al. 2017). Outros fatores, como a esplenomegalia e elevados níveis de desidrogenase

láctica (LDH) foram relatados por conferir efeito prognóstico em pacientes com LMA (Döhner et al. 2017).

## 1.2 A importância da citogenética em LMA

A citogenética convencional é uma importante ferramenta para o diagnóstico e seguimento de pacientes com neoplasias hematológicas, podendo detectar alterações cromossômicas balanceadas, incluindo translocações ou inversões, e alterações cromossômicas não balanceadas, incluindo trissomias, duplicações e deleções. De acordo com a OMS, a análise de citogenética convencional é um componente obrigatório na avaliação diagnóstica em pacientes com suspeita de LMA. Anormalidades cromossômicas são detectadas em aproximadamente 55% de pacientes adultos com LMA (Steven Swerdlow, Elias Campo 2017)(Mrózek, Heerema, and Bloomfield 2004)(David Grimwade and Mrózek 2011). Anormalidades citogenéticas têm sido correlacionadas com características clínicas e biológicas da doença, permitindo a definição diagnóstica e a categorização de LMA em diferentes grupos. Além disso, o cariótipo das células leucêmicas é definido como fator prognóstico de maior impacto na resposta a indução de terapia e sobrevida do paciente (Döhner et al. 2017)(David Grimwade 2012).

Embora a maior parte das alterações cromossômicas possa ser detectada pela citogenética convencional, a resolução é dependente do padrão de bandas obtidas através da técnica de bandeamento G, sendo que alterações críticas como as microdeleções, podem não ser visualizadas por essa metodologia. Além disso, a necessidade de proliferação celular para obtenção de células em metáfase é uma limitação da técnica. A técnica de hibridização *in situ* por fluorescência (*fluorescent in situ hybridization* [FISH]) é uma técnica complementar a citogenética convencional na determinação de alterações cromossômicas específicas. Nessa técnica, sondas de ácidos nucléicos, complementares ao que se pretende estudar, marcadas com fluorocromos são utilizadas para detectar sequencias específicas no cromossomo. A grande vantagem dessa técnica é que, além da especificidade e sensibilidade aumentada, a FISH pode ser realizada em células em interfase (King et al. 2011)(Tavor et al. 2011)(De La Serna et al. 2008)(Morrissette and Bagg 2011).

Em 1998 o grupo *Medical Research Council* (MRC) avaliou uma coorte de 1612 pacientes com LMA, sendo crianças e adultos (<55 anos) e definiu três grupos de risco de acordo com a citogenética. Pacientes com a t(15;17)(q22;q21), t(8;21)(q22;q22),

inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22) foram definidos como grupo de risco favorável, independente da coexistência de outras anormalidades citogenéticas. Pacientes que apresentaram perdas ou anormalidades nos cromossomos 3q, del(5q), -5, -7, ou cariótipo complexo (5 ou mais anormalidades citogenéticas) foram definidos como grupo de risco desfavorável. Pacientes que apresentaram cariótipo normal ou outras anormalidades numéricas ou estruturais foram definidos como grupo de risco intermediário (David Grimwade et al. 1998). O grupo MRC, em 2010, realizou uma atualização através de um estudo com 5876 pacientes com LMA com idade entre 16 a 59 anos. O estudo mostrou que a t(15;17)(q22;q21), t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22) são preditoras de um prognóstico favorável. Anormalidades cromossômicas preditoras de um prognóstico ruim foram: anormalidades no 3q (com exceção a t(3;5)(q25;q34), como inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26), add(5q)/del(5q), -5, -7, add(7q)/del(7q), t(6;11)(q27;q23), t(10;11)(p11-13;q23), anormalidades envolvendo o 11q23 (com exceção a t(9;11)(p21\_22;q23) e a t(11;19)(q23;p13)), a t(9;22)(q34;q11), -17 e anormalidades em 17p. Em pacientes que não apresentaram anormalidades do grupo de risco favorável ou desfavorável e que apresentaram 4 ou mais anormalidades no cariótipo foram definidos como grupo com cariótipo complexo e apresentaram um prognóstico ruim (D. Grimwade 2010).

Novas técnicas de análise molecular, como o sequenciamento de última geração, permitiram a identificação de diversas anormalidades genéticas recorrentes, no entanto, apenas um número limitado foi incorporado em esquemas de estratificação de risco. O grupo European LeukemiaNet (ELN), em 2010, incorporou na categorização de risco em LMA mutações nos genes *NPM1*, *CEBPA* e *FLT3*. O ELN 2010 definiu quatro grupos de risco de acordo com o cariótipo e mutações em *NPM1*, *CEBPA* e *FLT3* (Tabela 2). As mutações definem risco de acordo com a citogenética (cariótipo normal). Com isso, casos com a presença de mutações e citogenética inconclusiva apresentam falha na estratificação de risco pelo ELN 2010. O cariótipo complexo ocorre em 10 a 12% dos pacientes e tem sido associado a um pior prognóstico. O cariótipo complexo foi incluído no ELN 2010 e foi definido como cariótipo que apresente 3 ou mais anormalidades cromossômicas na ausência de t(8;21), inv(16) ou t(16;16), e t(15;17). O ELN 2010 apresenta grupo de risco favorável, intermediário I, intermediário II e desfavorável baseado nas alterações citogenéticas e mutações (Tabela 2) (Döhner et al. 2010).

**Tabela 2. Estratificação de risco pelo ELN 2010 de acordo com as alterações genéticas**

<b>Categoria de risco</b>	<b>Anormalidades genéticas</b>
<b>Favorável</b>	t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1::RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB::MYH11</i> Mutação no <i>NPM1</i> na ausência de <i>FLT3-ITD</i> (cariótipo normal) Mutação <i>CEBPA</i> (cariótipo normal)
<b>Intermediário I*</b>	Mutação <i>NPM1</i> e mutação <i>FLT3-ITD</i> (cariótipo normal) Mutação <i>FLT3-ITD</i> (cariótipo normal) <i>NPM1</i> selvagem e ausência de <i>FLT3-ITD</i> (cariótipo normal)
<b>Intermediário II</b>	t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3::MLL</i> Anormalidades citogenéticas não definidas como risco favorável ou desfavorável
<b>Desfavorável</b>	inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPNI::EVII</i> t(6;9)(p23;q34); <i>DEK::NUP214</i> t(v;11)(v;q23); rearranjo no <i>MLL</i> -5 ou del(5q); -7; anormalidades(17p); cariótipo complexo#

\*Inclui todas as LMAs com cariótipo normal, com exceção dos casos incluídos no grupo favorável  
#Tr s ou mais anormalidades cromossômicas

O refinamento da estratificação do prognóstico dos pacientes de cariótipo normal é particularmente importante devido ao fato de representarem cerca de 40-50% dos casos e de apresentarem resposta heterogênea a terapia. Para pacientes adultos com idade inferior a 60 anos essa categorização   primariamente utilizada para guiar o protocolo terapêutico a ser escolhido após a primeira remissão (Bejar et al. 2014).

Em 2017, o ELN realizou modificações na estratificação de risco em LMA que permitiu um refinamento da estratificação do prognóstico dos pacientes com risco intermediário. O ELN 2017 levou em consideração o prognóstico conferido por seus cariótipos e mutações nos genes *CEBPA*, *NPM1*, *ASXL1*, *TP53* e *RUNX1* e *FLT3-ITD*. Estudos recentes têm demonstrado que LMA com mutação no *NPM1* ou mutações bialélicas de *CEBPA*, na presenç a de alterações cromossômicas coexistentes parecem não modificar o efeito prognóstico da doenç a. O risco da mutação no *NPM1*   avaliado de acordo com a carga alélica do *FLT3-ITD* pelo ELN 2017. A mutação no *NPM1* confere um prognóstico favorável na ausência do *FLT3-ITD* ou *FLT3-ITD* com uma razão alélica baixa (<0,5). Pacientes com ausência da mutação no *NPM1* e *FLT3-ITD* com uma razão alélica baixa (<0,5) foram definidos como grupo de risco intermediário. Pacientes com a mutação no *NPM1* e *FLT3-ITD* com razão alélica alta ( $\geq 0,5$ ) têm sido incluídos no grupo de risco intermediário. Em contraste, a LMA com ausência da mutação no *NPM1* e *FLT3-ITD* com uma razão alélica alta ( $\geq 0,5$ ) confere um prognóstico ruim. Uma nova

categoria de risco citogenético foi proposta para distinguir particularmente um risco desfavorável de LMA, que é o cariótipo monossomal. O cariótipo monossomal é definido pela presença de uma única monossomia (excluindo a perda isolada dos cromossomos sexuais) em associação com pelo menos uma monossomia adicional ou anormalidade cromossômica estrutural (na ausência de t(8;21), inv(16) ou t(16;16), e t(15;17)) (Döhner et al. 2017). A t(9;22)(q34.1;q11.2) com fusão gênica *BCR::ABL1* foi incluída no grupo de risco desfavorável pelo ELN 2017. Mutações em *TP53* estão associadas ao cariótipo complexo, cariótipo monossomal e aneuploidias cromossômicas específicas (-5/-5q e -7/-7q) e estão relacionada a um prognóstico ruim. A mutação em *TP53* e o cariótipo complexo são preditores independentes de pior prognóstico em LMA e a coocorrência dessas alterações está relacionada com um pior desfecho. Mutações em *RUNX1* estão relacionadas a características desfavoráveis como a idade, a coocorrência de mutações e distúrbio mielóide anterior e apresentam um pior prognóstico. Mutações em *ASXL1* são mais comuns em pacientes idosos e estão relacionadas a um pior prognóstico (Döhner et al. 2017)(Mrózek, Heerema, and Bloomfield 2004)(Döhner et al. 2010)(Tavor et al. 2011). O ELN 2017 classifica os pacientes em três grupos de risco de acordo com as alterações citogenéticas e mutações (Tabela 3).

**Tabela 3. Estratificação de risco pelo ELN 2017 de acordo com as alterações genéticas**

<b>Categoria de risco</b>	<b>Anormalidades genéticas</b>
<b>Favorável</b>	t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1::RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB::MYH11</i> Mutação no NPM1 e ausência de FLT3-ITD ou FLT3-ITD com razão alélica baixa (<0,5) Mutação bialélica do CEBPA
<b>Intermediário</b>	Mutação no NPM1 e FLT3-ITD com uma razão alélica alta (≥0,5) NPM1 selvagem e ausência de FLT3-ITD ou FLT3-ITD com razão alélica baixa (<0,5) t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3::KMT2A</i> Alterações citogenéticas não classificadas como favoráveis ou alto risco
<b>Desfavorável</b>	t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK::NUP214</i> t(v;11q23.3); rearranjos no KMT2A t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR::ABL1</i> inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2,MECOM(EVI1) -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p) Cariótipo complexo, cariótipo monossomal NPM1 selvagem e FLT3-ITD com uma razão alélica alta (≥ 0,5) Mutação RUNX1 Mutação ASXL1 Mutação TP53

A estratificação de risco da LMA pelo ELN 2017 (Döhner et al. 2017) é amplamente utilizada, no entanto, em países de baixa e média renda, a sua aplicabilidade é limitada devido à falta de informação citogenética e molecular ao diagnóstico. A estratificação de risco genético teve um aumento na complexidade e custos e ainda é indisponível para muitos serviços de saúde. Um grupo de pesquisadores propôs uma alternativa para a estratificação de risco em LMA denominada de risco genético adaptado (Adapted Genetic Risk [AGR]) que permite a avaliação do risco na ausência de dados citogenéticos ou moleculares. Pacientes com o cariótipo inconclusivo que apresentarem ausência das mutações no *NPM1*, *CEBPA* e *FLT3-ITD* e ausência das fusões *RUNX1::RUNX1T1* e *CBFB::MYH11* pela reação em cadeia da polimerase (PCR) são classificados como grupo intermediário pelo AGR; estes pacientes apresentariam falha na estratificação pelo ELN 2010 e ELN 2017. O AGR permite a estratificação de risco através de mutações isoladas que apresentem cariótipo normal ou alteração citogenética desconhecida ou cariótipo inconclusivo (Silveira et al. 2020). O AGR classificou os pacientes com LMA em três grupos de risco de acordo com o cariótipo e mutações no *NPM1*, *CEBPA* e *FLT3-ITD* (Tabela 4).

**Tabela 4. Estratificação de risco pelo AGR de acordo com as alterações genéticas**

<b>Categoria de risco</b>	<b>Anormalidades genéticas</b>
<b>Favorável</b>	Mutação no <i>NPM1</i> com ausência de FLT3-ITD (cariótipo normal ou alteração citogenética desconhecida ou cariótipo inconclusivo)
	Mutação bialélica no <i>CEBPA</i> (cariótipo normal ou alteração citogenética desconhecida ou cariótipo inconclusivo)
	t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1::RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB::MYH11</i>
<b>Intermediário</b>	Mutação no <i>NPM1</i> sem a avaliação do FLT3-ITD (cariótipo normal ou alteração citogenética desconhecida ou cariótipo inconclusivo)
	t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3::KMT2A</i> Cariótipo normal ou alterações citogenéticas não classificadas como risco favorável ou desfavorável inv(3)(q21.3;q26.2) ou t(3;3)(q21.2;q26.2); <i>GATA2</i> , <i>MECOM (EV11)</i> t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK::NUP214</i> t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR::ABL1</i>
<b>Desfavorável</b>	Aneuploidia que define prognóstico desfavorável ou cariótipo complexo ou cariótipo monossomal ( <i>NPM1</i> , FLT3-ITD e <i>CEBPA</i> inconclusivos ou desconhecidos)
	Mutação FLT3-ITD (ausência da mutação <i>NPM1</i> ou resultado inconclusivo do <i>NPM1</i> , cariótipo normal ou alteração citogenética desconhecida ou cariótipo inconclusivo)

### 1.3 Leucemia promielocítica aguda

A leucemia promielocítica aguda (LPA) é morfológica, clínica e citogeneticamente um subtipo distinto de LMA, caracterizado pela presença da t(15;17), um acúmulo de promielócitos anormais na medula óssea e/ou sangue periférico e riscos de coagulopatias. A LPA necessita de um diagnóstico rápido, visto que apresenta



características como a coagulopatia grave, a qual pode induzir a complicações trombóticas e hemorrágicas e terapia específica. Cerca de 80 a 90% dos pacientes apresentam durante o diagnóstico alguma síndrome hemorrágica e aproximadamente 3% dos pacientes morrem em consequência de hemorragia, antes do início do tratamento. Aproximadamente 98% das LPAs apresentam a translocação cromossômica recíproca  $t(15;17)(q22;q21)$  com fusão gênica *PML::RARA* durante o diagnóstico. O *PML::RARA* interrompe o processo de diferenciação das células mieloides, bloqueando a maturação mielóide no estágio de promielócitos. Métodos laboratoriais têm sido empregados em conjunto para definir o diagnóstico de LPA, como hemograma, mielograma, biópsia de medula óssea, citometria de fluxo, citogenética convencional e molecular e reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa (RT-PCR) (Miguel A. Sanz et al. 2009)(De La Serna et al. 2008).

Duas variáveis são avaliadas para a definição do risco em LPA, sendo a contagem de leucócitos e a contagem de plaquetas, o que permite estratificar os pacientes em três grupos de risco: baixo risco: leucócitos  $\leq 10 \times 10^9/L$  e plaquetas  $> 40 \times 10^9/L$ ; risco intermediário: leucócitos  $\leq 10 \times 10^9/L$  e plaquetas  $\leq 40 \times 10^9/L$ ; e alto risco: leucócitos  $> 10 \times 10^9/L$ . Nos últimos anos, o curso clínico da LPA tem sido modificado de uma leucemia aguda fatal para um dos subtipos mais curáveis de leucemia aguda. Este progresso da doença foi atribuído aos avanços notáveis em seu tratamento com a introdução de agentes terapêuticos que atuam diretamente na lesão molecular como o ácido *all-Trans-Retinoico* (ATRA) e o trióxido de arsênio (ATO), que é uma terapia celular baseada na diferenciação e apoptose (Miguel A. Sanz et al. 2009)(De La Serna et al. 2008)(M. A. Sanz et al. 2000).

Dessa forma, justifica-se por meio desse estudo, a avaliação das alterações citogenéticas e seu impacto clínico em pacientes adultos jovens e idosos com diagnóstico de LMA do HC FMRP USP. A disponibilidade da técnica de citogenética e análise das mutações para pacientes com doenças hematológicas ainda é pouco difundida em instituições no Brasil, o que denota a importância da avaliação do impacto prognóstico de alterações genéticas em um centro de referência.

# ***OBJETIVOS***

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar as alterações citogenéticas e seu impacto clínico em pacientes adultos jovens e idosos com diagnóstico de LMA do HC FMRP USP.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Realizar a citogenética convencional em pacientes com LMA;
- Comparar as anormalidades citogenéticas em pacientes com LMA estratificados de acordo com a idade:  $<60$  anos e  $\geq 60$  anos;
- Avaliar o impacto prognóstico de fatores demográficos, clínicos, citogenéticos e moleculares nos desfechos clínicos de pacientes com LMA.

# ***MATERIAL E MÉTODOS***

### 3 MATERIAL E METODOS

#### 3.1 Casuística

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HC FMRP-USP (ANEXO 1).

Foi realizado a avaliação de 154 pacientes (maior ou igual a 18 anos) consecutivos diagnosticados com LMA entre janeiro de 2014 a setembro de 2021 no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC FMRP-USP). As amostras de medula óssea ou sangue periférico dos pacientes incluídos no estudo foram submetidas a cariótipo convencional no Laboratório de Citogenética do Laboratório de Hematologia do HC FMRP USP. A coleta de dados demográficos, clínicos e laboratoriais foi realizada por meio de revisão de prontuários médicos físicos e/ou eletrônicos, e as análises de citogenética convencional de todos os pacientes foram realizadas pela autora e revisada pela orientadora deste trabalho. Os dados dos rearranjos e mutações definidos pela análise de biologia molecular foram coletados dos prontuários dos pacientes.

As LMAs foram classificadas de acordo com a OMS. As LMAs não LPAs foram estratificadas de acordo com os riscos definidos pelo MRC (D. Grimwade 2010), ELN 2010 (Döhner et al. 2010), ELN 2017 (sem considerar as mutações em RUNX1, ASXL1 e TP53) (Döhner et al. 2017) e AGR (Silveira et al. 2020). As LPAs foram classificadas de acordo com a contagem de leucócitos e a contagem de plaquetas (Miguel A. Sanz et al. 2009).

Para os pacientes elegíveis a terapia curativa, o tratamento padrão para LMA não LPA consiste em primeira indução com daunorrubicina (60 mg/m<sup>2</sup>/dia por 3 dias) e citarabina (200 mg/m<sup>2</sup>/dia por 7 dias), segunda indução de remissão com daunorrubicina (60 mg/m<sup>2</sup>/dia por 3 dias) e citarabina 2 g/m<sup>2</sup>/d por 6 dias), e dois ciclos de quimioterapia de consolidação. A primeira consolidação consiste em citarabina 2 g/m<sup>2</sup>/d por 6 dias. A segunda consolidação consiste em quimioterapia com citarabina 2 g/m<sup>2</sup>/d por 6 dias, ou TCTH autólogo, ou TCTH alogênico conforme disponibilidade de doador, estratificação de risco da LMA e indicação clínica. O tratamento foi modificado para pacientes específicos, a critério clínico. Os pacientes com LMA classificados como LPA receberam tratamento com ácido transretinoico (ATRA) e antraciclina (daunorrubicina) (Rego et al. 2013).

Parâmetros demográficos avaliados incluíram idade e sexo. Parâmetros laboratoriais avaliados foram parâmetros hematimétricos, albumina sérica, alterações citogenéticas e moleculares, conforme disponíveis no prontuário médico. Parâmetros clínicos avaliados foram o diagnóstico de LMA de novo, LMA secundária (incluindo LMA secundária a neoplasia mieloproliferativa (NMP) e LMA secundária a quimioterapia ou radioterapia), terapia de indução curativa, transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) (autólogo, alogênico com doador aparentado e não aparentado HLA idêntico, e alogênico com doador haploidêntico), terapia final de consolidação (completa ou incompleta), remissão, recidiva e óbito.

## **3.2 Citogenética convencional**

### **3.2.1 Cultivo celular**

As amostras foram coletadas em seringa de 20 mL contendo de 1 a 2 mL de heparina, com volume final de aproximadamente 3 a 5 mL. A amostra de medula óssea foi submetida a uma contagem de células e foi semeado  $1 \times 10^7$  células em 10 mL de meio RPMI (Vitrocell, SP, BR), com 20% de soro bovino fetal (GIBCO, SP, BR) e 1% Streptomina/Penicilina sem estimulantes. Sempre que possível, foram realizados, pelo menos dois cultivos celulares para amostras de medula óssea, sendo um de curto prazo (aproximadamente 24 horas) e um de longo prazo (aproximadamente 48 horas). Excepcionalmente, em caso de punção seca de medula óssea, amostras de sangue periférico contendo blastos foram submetidas à citogenética convencional e processadas de forma idêntica às amostras de medula óssea. As culturas realizadas foram mantidas em incubadora a 37°C com atmosfera úmida e 5% CO<sub>2</sub>.

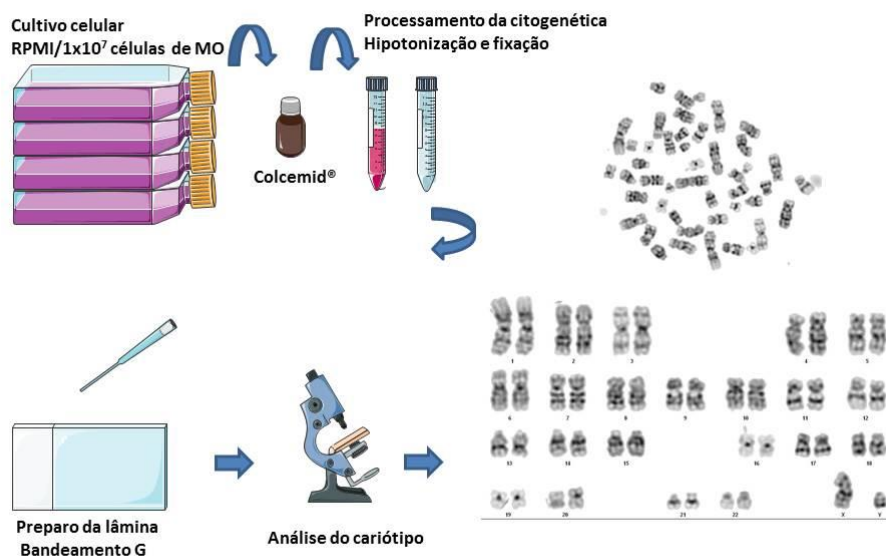
### **3.2.2 Processamento da amostra para a citogenética**

Completado o tempo estipulado de cultura foram acrescentados 100 µL de bloqueador de fuso mitótico, Colcemid®, e as amostras foram incubadas em estufa de CO<sub>2</sub> a 37°C por 30 minutos adicionais. O bloqueador mitótico colchicina (Colcemid™ 10µg/mL KaryoMAX® [Gibco®, NY, EUA) é usado no método de citogenética para o bloqueio de proteínas do fuso mitótico e consequente obtenção de células em divisão celular na fase de metáfase. A concentração e o tempo de exposição ao bloqueador mitótico influenciam diretamente no número de metáfases e o padrão dos cromossomos. Posteriormente, o material foi centrifugado, desprezando-se o sobrenadante e exposto a

solução hipotônica (KCL 0,075 mol/L) por 16 minutos a 37°C. O material foi fixado em solução de Carnoy (metanol e ácido acético 3:1) e gotejado em lâminas de vidro. As lâminas foram submetidas ao processo de envelhecimento (armazenadas em temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas) para a realização das bandas cromossômicas.

### 3.2.3 Bandeamento G e análise do cariótipo

Após o período de envelhecimento, as lâminas representativas dos dois cultivos celulares foram submetidas a técnica de bandeamento G, que é baseada em digestão enzimática com tripsina (SIGMA), tampão fosfato e corante Wright's eosine methylene blue (MERCK). As metáfases foram analisadas ao microscópio óptico Zeiss AXIO Imager 2 acoplado ao sistema de captura de imagem Applied Spectral Imaging (ASI) para cariotipagem. Sempre que possível, vinte metáfases foram analisadas. A nomenclatura do cariótipo convencional e as anormalidades cromossômicas foram descritas de acordo com o Sistema Internacional de Nomenclatura de Citogenômica Humana 2016 (An International System for Human Cytogenomic Nomenclature [ISCN 2016](McGowan-Jordan, J., Simon, A. 2016).

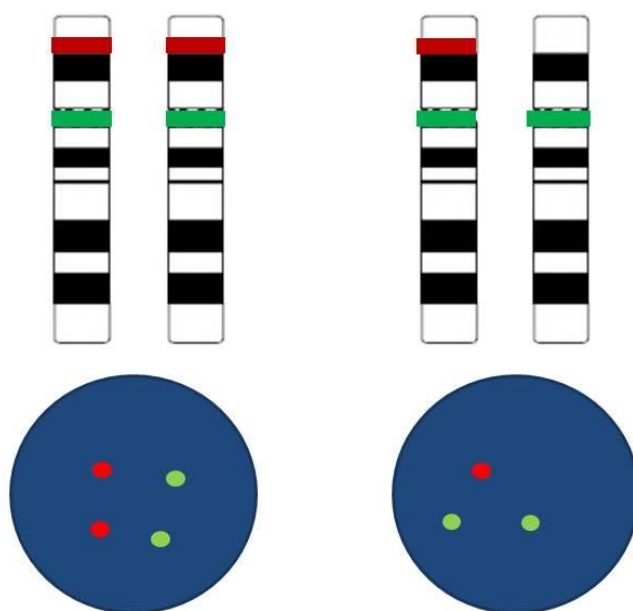


**Figura 1.** Imagem representativa do processamento realizado para o método de citogenética e obtenção de células em metáfase.

### 3.3 Hibridização in situ por fluorescência (FISH)

Para a realização da FISH em amostras específicas, foi utilizada sonda da Cytocell® específica para a deleção do *TP53* e a metodologia foi realizada de acordo com as instruções do fabricante. A técnica de FISH permite a detecção de anormalidades cromossômicas menores (0,5kb), quando comparada a técnicas de bandamento cromossômico convencional, como a banda G (2000-3000kb) (Levsky and Singer 2003)(Morrissette and Bagg 2011). O protocolo básico para a técnica de FISH consiste em utilizar uma sequência de DNA de interesse marcada com sinal fluorescente, também conhecida como sonda, para marcar uma sequência complementar em uma amostra colocada em uma lâmina previamente preparada, contendo núcleos interfásicos e/ou metáfases. A sonda utilizada para o presente trabalho tem uma cobertura para o gene *TP53* localizado no 17p13.1, marcada em vermelho (filtro TEXASRED) e apresenta uma cobertura na região centromérica do cromossomo 17 marcada em verde (filtro FITC) denominada de marcador. Com isso, em casos que não apresentem a deleção do *TP53*, são observados dois sinais vermelhos (*TP53*) e dois sinais verdes (marcador) como ilustrado na Figura 2. Brevemente, a técnica de FISH foi realizada através de suspensões de células de medula óssea em fixador (metanol e ácido acético) obtidas através do procedimento da técnica de citogenética convencional. Em cada lâmina foi gotejado aproximadamente 10 µL da suspensão celular e as lâminas foram envelhecidas em temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas. As lâminas foram imersas em solução de 2xSSC e desidratadas em etanol (70, 85 e 100%). Foram aplicados 10 µL da sonda na lâmina contendo a amostra. Após a aplicação da sonda, as lâminas foram expostas a uma temperatura de 75° C durante 2 minutos para o processo de desnaturação da amostra e sonda. A hibridização foi realizada em câmara úmida a 37°C em aproximadamente 16 horas. As lavagens pós-hibridização foram realizadas com soluções 0,4xSSC/0,3% TWEEN 20 a 72°C. A solução contrastante utilizada foi meio de montagem para fluorescência com DAPI. As lâminas foram analisadas em um microscópio de fluorescência óptico Zeiss AXIO Imager 2 acoplado ao sistema de captura de imagem Applied Spectral Imaging (ASI) equipado com filtros apropriados para os diferentes fluorocromos (FITC, Texas Red, Acqua e DAPI). Foram analisadas 200 células interfásicas e/ou metafásicas e as anormalidades cromossômicas foram descritas de acordo com o Sistema Internacional de Nomenclatura de Citogenômica Humana 2016 (An International System for Human Cytogenomic Nomenclature [ISCN 2016] (McGowan-Jordan, J., Simon, A. 2016).





**Figura 2. Representação do sítio de hibridização da sonda específica para deleção no *TP53* no cromossomo 17.** O painel à esquerda ilustra o cromossomo 17 e o núcleo em interfase com a marcação do gene *TP53* em vermelho e marcação do centrômero do cromossomo 17 (marcador) em verde. O painel à direita ilustra o cromossomo 17 e núcleo em interfase indicando a deleção do *TP53*, com a ausência da marcação vermelha em um dos cromossomos 17 e marcação centromérica (marcador) em verde em ambos os cromossomos.

### 3.4 Análises estatísticas

As variáveis contínuas foram descritas como mediana, mínimo e máximo. As variáveis categóricas foram apresentadas como contagens e proporções. As análises descritivas foram realizadas utilizando o teste exato de Fischer ou teste de Chi-quadrado para comparação das proporções entre variáveis categóricas e o teste não paramétrico de Mann-Whitney para as variáveis contínuas.

Para a análise de desfecho, os pacientes foram distribuídos em quatro grupos de acordo com cariótipo e terapia de indução curativa: (i) todos os pacientes do estudo (n=154), (ii) todos os pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa (n=103), (iii) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (n=79) e (iv) pacientes com cariótipo normal que realizaram terapia de indução curativa (n=30).

A sobrevida global foi calculada como a diferença em meses entre a data de diagnóstico e a data da última avaliação. A sobrevida livre de evento foi calculada como

a diferença em meses entre a data da remissão completa e a data da recidiva ou a data da última avaliação, considerando a recidiva ou o óbito como evento. A sobrevida livre de evento foi avaliada apenas para o grupo de pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (grupo *iii*) e que atingiram remissão completa.

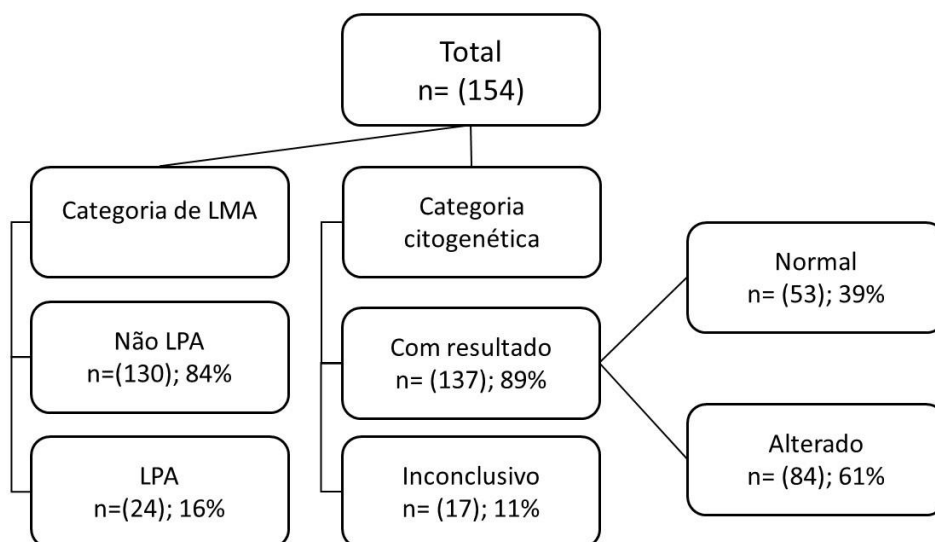
Os pacientes que não apresentaram os eventos foram censurados na última notificação de que estavam vivos e/ou livres de doença. A remissão completa foi definida com o aspirado de medula óssea com menos de 5% de blastos. As curvas de sobrevida foram estimadas usando Kaplan-Meier e comparações entre os grupos com o teste de log-rank. O modelo multivariado de riscos proporcionais de Cox foi utilizado para definir variáveis associadas com a sobrevida global e sobrevida livre de evento. A significância estatística foi definida como valor de  $P < 0,05$ .

Os testes de estatística foram realizados com auxílio dos programas Stata Statistic /Data analysis versão 12 (Stata Corp, EUA), GraphPad Prism 5 (Prism, EUA) e R versão 4.1.1.

# ***RESULTADOS***

#### 4 RESULTADOS

Foi realizada a avaliação de 154 pacientes adultos jovens e idosos que foram diagnosticados com LMA, incluindo LPA, entre os anos de 2014 e 2021. Os pacientes apresentaram idade  $\geq 18$  anos. O diagnóstico dos pacientes foi realizado de acordo com a OMS (Steven Swerdlow, Elias Campo 2017). De um total de 154 pacientes com LMA, 130 (84%) foram classificados como LMA não LPA e 24 (16%) foram classificados como LPA. O cariótipo apresentou resultado conclusivo em 137/154 (89%) pacientes e um resultado inconclusivo (ausência de metáfases para a análise) em 17/154 (11%) pacientes. Para as amostras que apresentaram um resultado conclusivo, o cariótipo foi normal em 53/137 (39%) pacientes e alterado em 84/137 (61%) pacientes (Figura 3).



**Figura 3.** Fluxograma representando os pacientes do estudo.

Foi realizada a avaliação de pacientes adultos jovens  $< 60$  anos ( $n=78$ ) e de pacientes idosos  $\geq 60$  anos ( $n=76$ ). Não houve diferença significativa na distribuição do sexo, nos índices hematimétricos e % de blastos na medula óssea entre os pacientes adultos jovens e idosos ( $P>0,05$ ). Os valores da albumina foram significativamente menores no grupo de idosos quando comparado ao grupo de adultos jovens ( $P=0.0007$ ) (Tabela 5).

<b>Tabela 5. Características demográficas e laboratoriais dos pacientes do estudo</b>				
	<b>Total (n=154)</b>	<b>&lt;60 anos (n=78)</b>	<b>≥60 anos (n=76)</b>	<b>Valor de P</b>
<b>Sexo, n(%)</b>				
Masculino	81 (53%)	36 (46%)	45 (59%)	
Feminino	73 (47%)	42 (54%)	31 (41%)	0.15 <sup>†</sup>
<b>Idade*</b>	59 (20-89)	47 (20-59)	70 (60-89)	
<b>Contagem hematimétrica*</b>				
Hb (g/dL)	8 (3,9-13,5)	8 (3,9-13,5)	8,5 (4,5-12,6)	0.77 <sup>#</sup>
Leuco (x10 <sup>9</sup> /L)	7,5 (0,3-318,9)	7,9 (0,3-318,9)	6,05 (0,3-288,5)	0.62 <sup>#</sup>
Neutro (x10 <sup>9</sup> /L)	1,1 (0-69,9)	1,1 (0-52,8)	1 (0-69,9)	0.91 <sup>#</sup>
Plt (x10 <sup>9</sup> /L)	48,5 (1-500)	45,5 (3-500)	50 (1-390)	0.63 <sup>#</sup>
% blastos	32 (0-100)	34,5 (0-100)	32 (0-97)	0.99 <sup>#</sup>
<b>% blastos MO*</b>	63 (14-100)	73 (14-100)	57 (14-97)	0.07 <sup>#</sup>
<b>Albumina*</b>	3,7 (2,3-5)	3,9 (2,4-4,9)	3,6 (2,3-5)	0.0007 <sup>#</sup>
Abreviações: N, número de pacientes na população; (%), porcentagem; MO, medula óssea; Hb, hemoglobina; Leuco, leucócitos; Neutro, neutrófilos; Plt, plaquetas; * mediana (mínimo – máximo). <sup>†</sup> teste exato de Fisher <sup>#</sup> teste de Mann-Whitney				

#### 4.1 Classificação das LMAs de acordo com a OMS

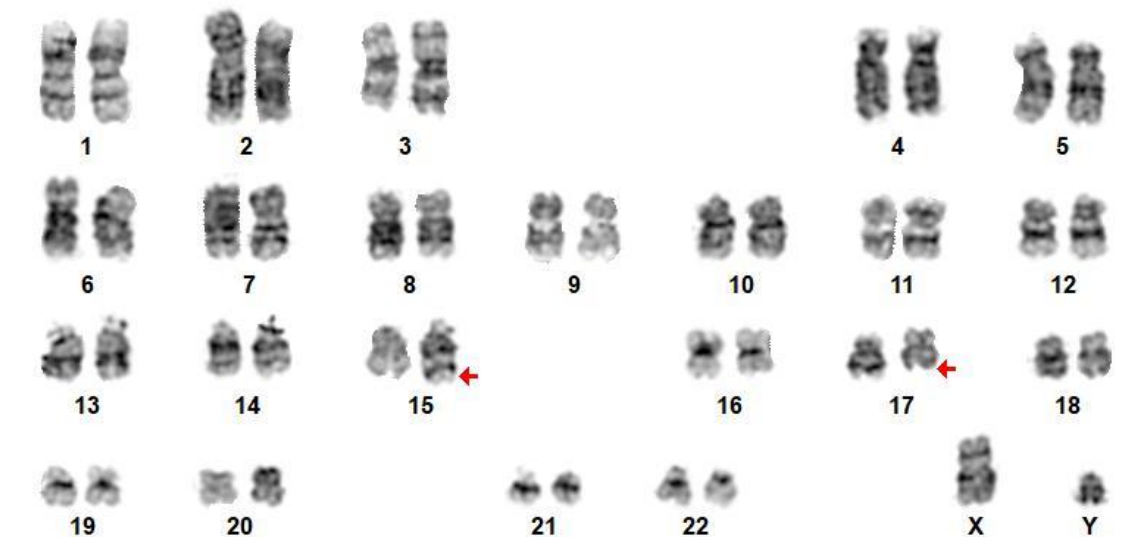
De acordo com a OMS (Steven Swerdlow, Elias Campo 2017), os pacientes do nosso estudo foram classificados em LMA com t(15;17), LMA com t(8;21), LMA com inv(16), LMA com mutação no NPM1, LMA com mutação no CEBPA, LMA com t(6;9), LMA com t(9;11), LMA com t(9;22), LMA com alterações mielodisplásicas, LMA não classificada, LMA secundária a neoplasia mieloproliferativa (NMP), neoplasia mieloide relacionada a terapia e Sarcoma mieloide. As anormalidades citogenéticas permitiram classificar 40 pacientes no subgrupo “LMA com anormalidades genéticas recorrentes” e 13 pacientes no subgrupo “LMA com alterações mielodisplásicas”. Em 18 pacientes a definição da classificação “LMA com alterações mielodisplásicas” foi definida de acordo com os achados morfológicos dos pacientes. De acordo com os critérios da OMS, 28 pacientes foram classificados de acordo com as mutações em NPM1 e CEBPA, 4 pacientes apresentaram LMA secundária a NMP, 6 pacientes apresentaram LMA relacionada a terapia, 1 paciente foi classificado como sarcoma mieloide e 44 pacientes foram definidos como LMA não classificada (Tabela 6).

**Tabela 6. Classificação da LMA de acordo com a OMS**

	Total (n=154)	<60 anos (n=78)	≥60 anos (n=76)
<b>OMS, n(%)</b>			
LMA com t(15;17)	24 (16%)	18 (23%)	6 (8%)
LMA com t(8;21)	2 (1,05%)	2 (3%)	Ø
LMA com inv(16)	8 (5%)	6 (8%)	2 (3%)
LMA com mutação no NPM1	24 (16%)	12 (15%)	12 (15%)
LMA com mutação no CBPA	4 (3%)	4 (5%)	Ø
LMA com t(6;9)	1 (0,5%)	1 (1%)	Ø
LMA com t(9;11)	1 (0,5%)	Ø	1 (1%)
LMA com t(9;22)	4 (2%)	1 (1%)	3 (4%)
LMA com alterações mielodisplásicas	31 (20%)	6 (8%)	25 (33%)
LMA não classificada	44 (28%)	22(28%)	22 (29%)
LMA secundária a NMP	4(3%)	2 (3%)	2 (3%)
Neoplasia mieloide relacionada a terapia	6(4%)	3 (4%)	3 (4%)
Sarcoma mieloide	1 (0,5%)	1 (1%)	Ø

Abreviações: LMA, leucemia mieloide aguda; N, número de pacientes na população; (%), porcentagem; OMS, Organização Mundial da Saúde; t, translocação; inv, inversão; Ø, nenhum paciente foi definido pela classificação indicada.

Por meio de análise do cariótipo, foram definidos 7 subtipos de LMA: LMA com a t(15;17) [n=24, **figura 4**], LMA com a t(8;21) [n=2, **figura 5**], LMA com inv(16) [n=8, **figura 6**], LMA com t(6;9) [n=1, **figura 7**], LMA com a t(9;11) [n=1, **figura 8**], LMA com a t(9;22) [n=4, **figura 9**] e LMA com alterações mielodisplásicas [n=13, **figura 10**]. A caracterização completa de dois casos de LMA com a t(9;22) foi reportado em formato de manuscrito (da Silva et al. 2017).



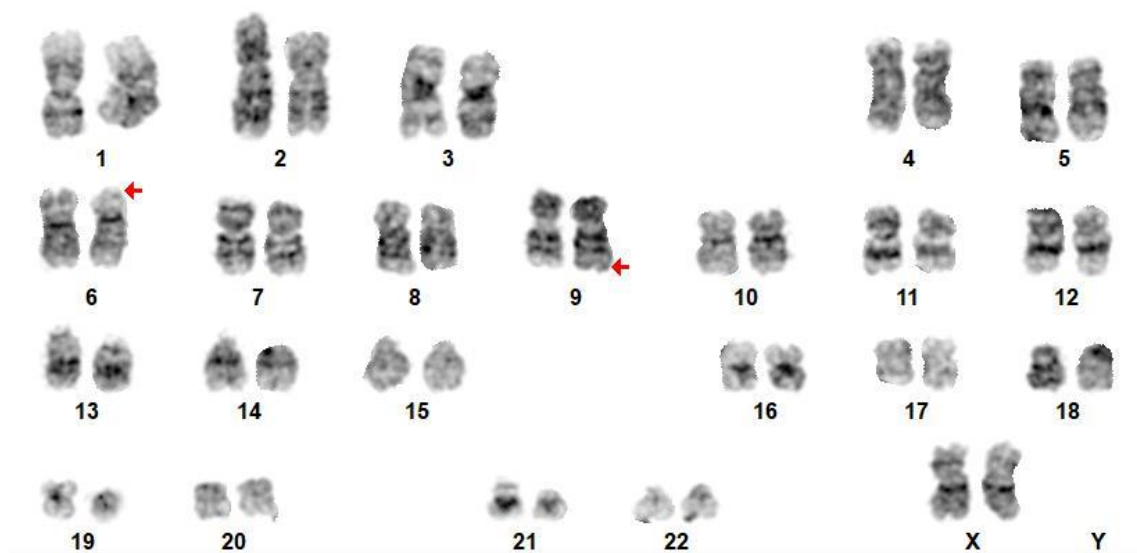
**Figura 4. O cariótipo convencional indicou a  $t(15;17)$ :  $46,XY,t(15;17)(q22;q21)$ . As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 15 e 17.**



**Figura 5. O cariótipo convencional indicou a  $t(8;21)$ :  $46,XX,t(8;21)(q22;q22.1)$ . As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 8 e 21.**

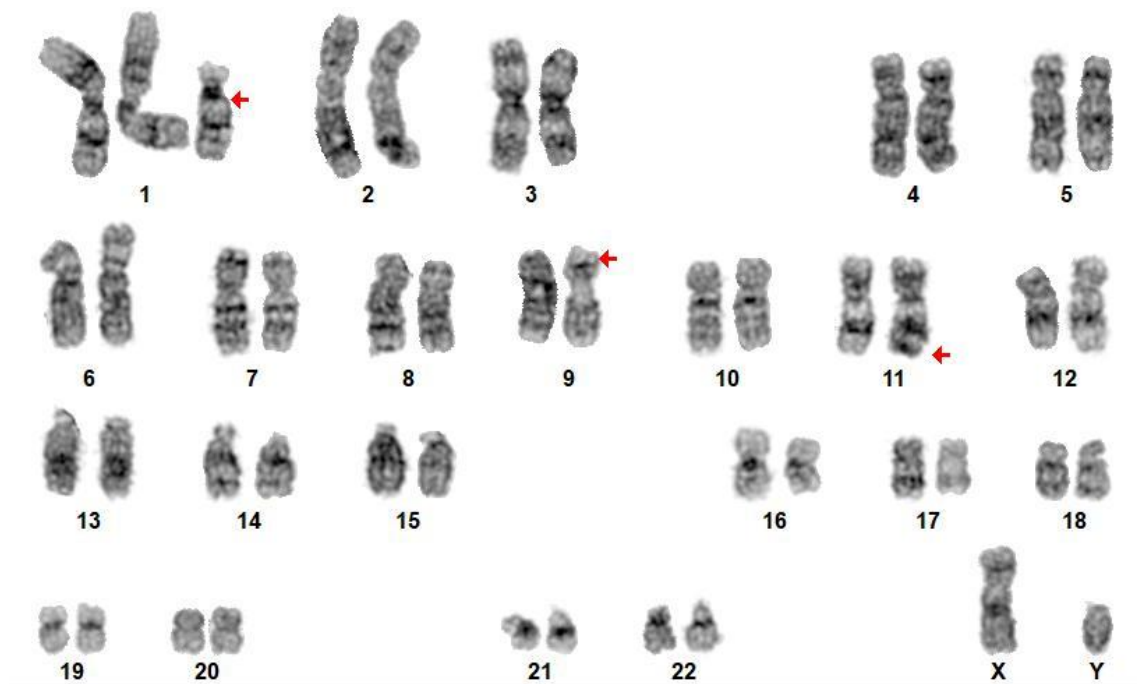


**Figura 6. O cariótipo convencional indicou a *inv(16)*: 46,XY, *inv(16)(p13.1q22)*. As setas indicam os pontos de quebra da inversão pericêntrica no cromossomo 16.**

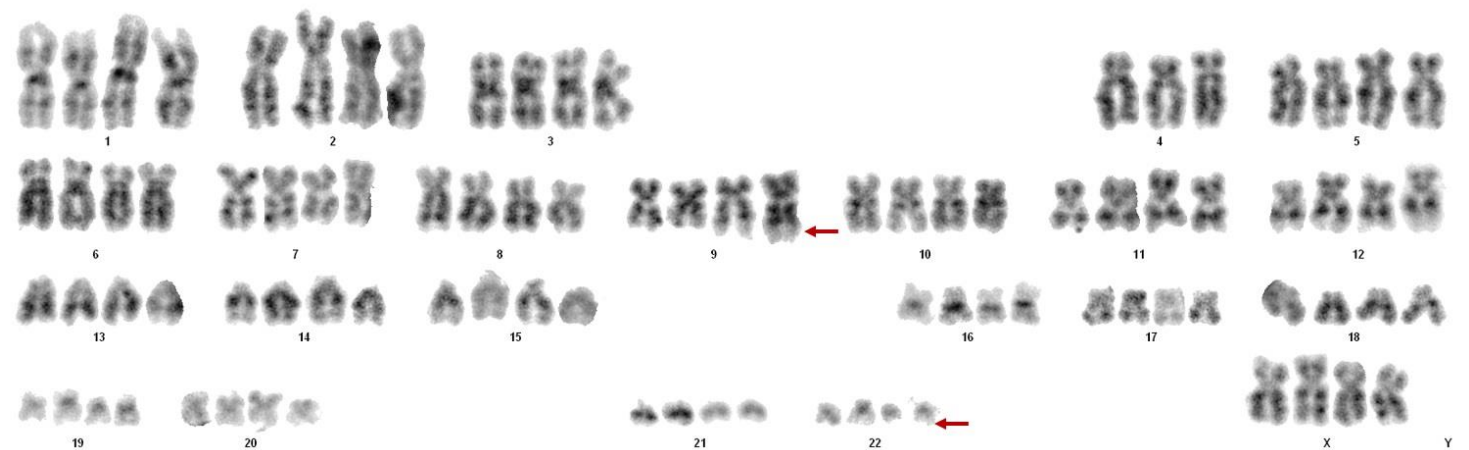


**Figura 7. O cariótipo convencional indicou a *t(6;9)*: 46,XX, *t(6;9)(p23;q34.1)*. As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 6 e 9.**

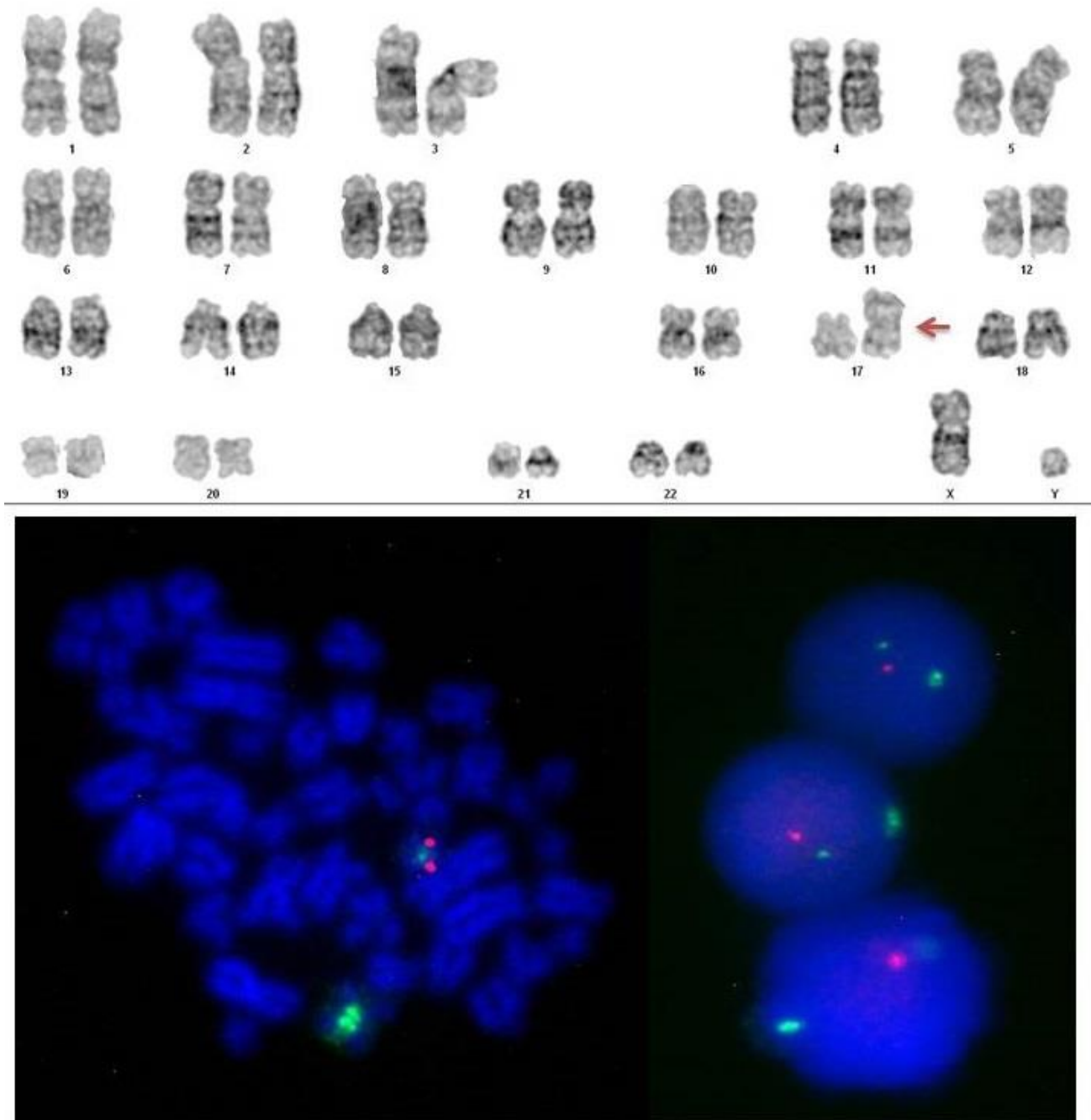




**Figura 8.** O cariótipo convencional indicou a  $t(9;11):47,XY,+der(1)t(1;19)(p13;p13.1),t(9;11)(p21.3;q23)$ . As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 1 e 19 e os pontos de quebra dos cromossomos 9 e 11.



**Figura 9.** Cariótipo convencional indicou cariótipo tetraploide com a  $t(9;22):92<4n>,XXXX,-4,-5,+6,-7,-11,+12,-13,-14,+15,-17,-21,t(9;22)(q34q11)x2$ . As setas indicam os pontos de quebra dos cromossomos 9 e 22.



**Figura 10. Imagem representativa de uma das anormalidades cromossômicas que definem o subtipo “LMA com alterações mielodisplásicas.** O cariótipo convencional indicou a 46,XY,i(17)(q10); a seta indica a anormalidade no cromossomo 17 (painel superior). A FISH indicou a deleção do *TP53* em uma célula em metáfase (painel inferior à esquerda) e em um núcleo em interfase (painel inferior à direita).

## 4.2 Anormalidades cromossômicas de acordo com o MRC 2010

Oitenta e quatro (61%) pacientes apresentaram um resultado do cariótipo alterado. As anormalidades cromossômicas foram distribuídas de acordo com o MRC 2010 (D. Grimwade 2010). No presente estudo, identificamos 14 grupos de pacientes de acordo com as alterações do cariótipo, sendo: t(15;17), t(8;21), inv(16), normal, outras anormalidades, t(9;11), del(5q), del(7q), -7, t(6;9), t(9;22), anormalidade em 17p, cariótipo complexo e cariótipo tetraploide. As anormalidades citogenéticas foram descritas em toda a coorte, em adultos jovens <60 anos, e em idosos ≥60 anos. Para o grupo de adultos jovens (n=78), o cariótipo foi normal em 23/78 (29%), alterado em 47/78 (60%) pacientes e 9/78 (11%) pacientes apresentaram um resultado inconclusivo. Para os pacientes idosos ≥60 anos (n=76), o cariótipo foi normal em 30/76 (40%), alterado em 37/76 (49%) pacientes e 8/76 (11%) apresentaram um resultado inconclusivo. A distribuição das anormalidades citogenéticas está indicada na Tabela 7. A descrição detalhada das anormalidades cromossômicas numéricas e estruturais, assim como das translocações estão indicadas nas Tabelas 8 - 9.

<b>Categoria</b>	<b>Total</b>	<b>&lt;60 anos</b>	<b>≥60 anos</b>
Normal	53	23	30
Outras anormalidades	18	9	9
t(15;17)	24	18	6
t(8;21)	2	2	∅
inv(16)	8	5	3
del(5q)	1	0	1
del(7q)	3	2	1
-7	2	0	2
t(6;9)	1	1	0
t(9;11)	1	0	1
t(9;22)	4	1	3
Anormalidade em 17p	2	1	1
Complexo	15	6	9
Tetraploide	3	2	1

**Tabela 8. Descrição das anormalidades cromossômicas numéricas e estruturais definidas pela citogenética convencional**

<b>Cromossomo</b>	<b>Alteração</b>	<b>Número de pacientes</b>
1	add(1p)	1
	del(1q)	1
	Trissomia do 1	1
2	del(2p)	1
	Trissomia 2	1
	isocromossomo(2)	1
3	Monossomia 2	1
	del(3q)	1
4	inv(3p)	1
	Monossomia 4	2
5	Trissomia 4	2
	del(5q)	10
6	Monossomia 5	5
	Trissomia 6	3
7	Isocromossomo 6	1
	del(6q)	1
	del(7q)	6
8	Monossomia 7	6
	add(7p)	1
	add(7q)	1
9	Trissomia 8	10
	Monossomia 8	1
10	add(9q)	1
	del(9q)	1
11	del(10q)	1
	add(11q)	1
12	add(11p)	1
	Monossomia 11	2
	Trissomia 11	1
	del(11q)	1
13	del(12p)	1
	Monossomia 12	3
	Trissomia 12	1
14	Monossomia 13	6
	del(13q)	1
15	Monossomia 14	1
16	Trissomia 15	1
	inv(16)	8
	Monossomia 16	2
17	add(16p)	1
	add(16q)	1
	Isocromossomo 17	1
	Monossomia 17	10
18	del(17p)	3
	add(17p)	1
19	Monossomia 18	7
	Monossomia 19	2
20	Trissomia 19	2
	add(19q)	1
	Monossomia 20	3
	Trissomia 20	1
21	del(20q)	3
	add(20q)	1
	Monossomia 21	3
	Trissomia 21	3
22	Monossomia 22	3
X	- X	1

**Tabela 9. Descrição das translocações definidas pela citogenética convencional dos pacientes do estudo.**

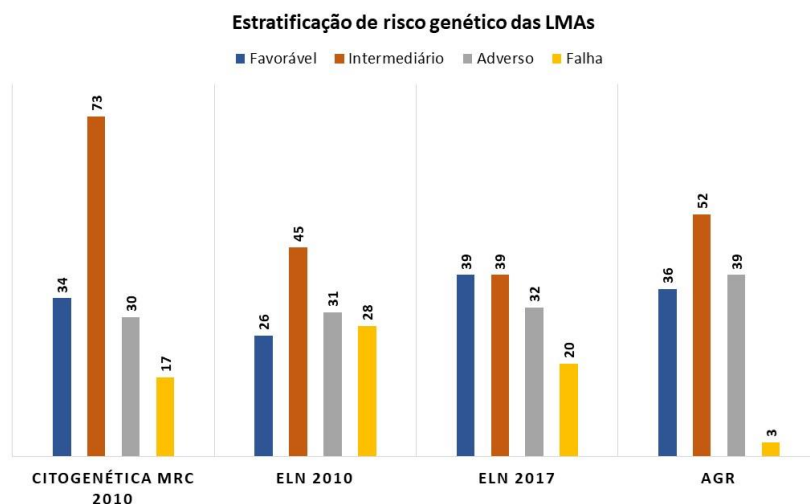
Translocação	Número de pacientes
<b>Incorporadas na classificação de LMA pela OMS</b>	
t(6;9)	1
t(8;21)	2
t(9;11)	1
t(9;22)	4
t(15;17)	15
<b>Outras translocações</b>	
t(1;9)	2
t(1;19)	2
t(3;7)	1
t(3;9)	1
t(3;11)	2
t(3;12)	1
t(4;12)	1
t(4;17)	1
t(7;13)	1
t(7;18)	1
t(8;16)	1
t(9;12)	1
t(10;11)	2
t(17;18)	1

Abreviações: LMA, leucemia mieloide aguda; OMS, Organização Mundial da Saúde; t, translocação

### 4.3 Estratificação de risco genético das LMAs

A estratificação de risco das LMAs foi realizada de acordo com 4 grupos de risco: risco citogenético pelo MRC 2010, ELN 2010, ELN 2017 e pelo AGR (D. Grimwade 2010)(Döhner et al. 2010)(Döhner et al. 2017)(Silveira et al. 2020). Os grupos ELN 2010, ELN 2017 e AGR definem grupos de risco das LMAs não LPAs. O grupo de risco citogenético de acordo com o MRC 2010 inclui as LPAs na estratificação de risco. O risco citogenético (MRC 2010), baseado na análise do cariótipo, classificou 34/154 (22%) pacientes como risco favorável, 73/154 (47%) como risco intermediário, 30/154 (20%) como risco desfavorável e 17/154 (11%) apresentaram falha na estratificação por apresentarem ausência de metáfases para a análise. A estratificação de risco pelo ELN 2010 foi realizada de acordo com o cariótipo e mutações em NPM1, CEBPA e FLT3-ITD. O ELN 2010 apresentou 26/130 (20%) pacientes com o risco favorável, 45/130

(35%) com o risco intermediário, 31/130 (24%) com o risco desfavorável e 28/130 (21%) com falha na estratificação. Para a avaliação do risco do ELN 2017 foi avaliado o cariótipo e as mutações disponíveis no Laboratório de Hematologia de nossa instituição: mutações em NPM1, CEBPA e a avaliação da carga alélica do FLT3-ITD. O ELN 2017 classificou 39/130 (30%) pacientes como risco favorável, 39/130 (30%) pacientes como risco intermediário, 32/130 (25%) pacientes como risco desfavorável e 20/130 (15%) pacientes apresentaram falha. A classificação de risco do AGR foi realizada de acordo com o cariótipo e mutações em NPM1, CEBPA e FLT3-ITD conforme disponível e classificou 36/130 (28%) pacientes como risco favorável, 52/130 (40%) como risco intermediário, 39/130 (30%) como risco desfavorável e 3/130 (2%) pacientes apresentaram falha na estratificação (Figura 11).



**Figura 11. Sumário da estratificação de risco das LMAs** de acordo com o *Medical Research Council* (MRC) 2010, *European Leukemia Net* (ELN) 2010, ELN 2017 e *Adapted Genetic Risk* (AGR).

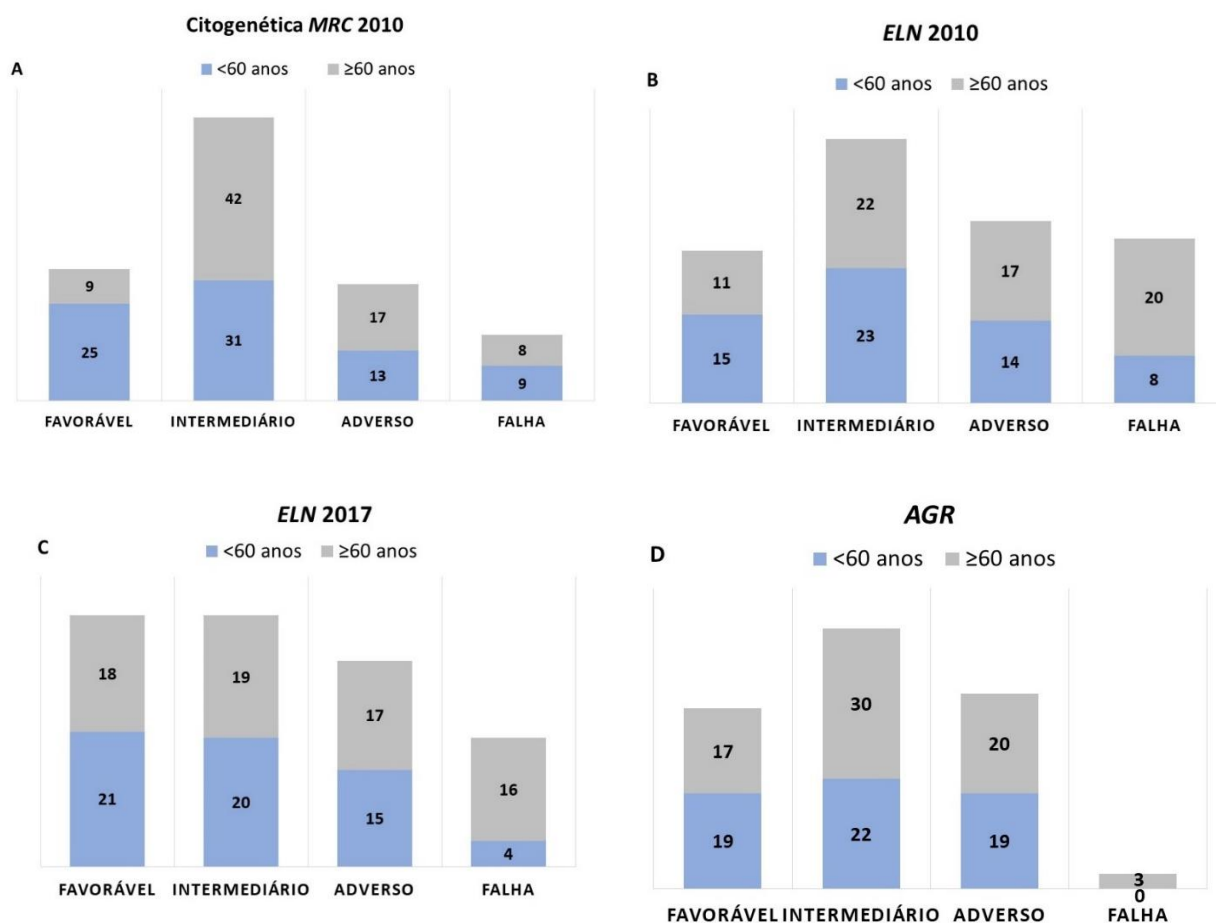
A estratificação de risco genético das LMAs foi realizada de acordo com 4 grupos de risco (risco citogenético pelo MRC 2010, ELN 2010 e 2017 e pelo AGR) e distribuída de acordo com a idade. Não houve diferença significativa para a estratificação de risco pelo ELN 2010, ELN 2017 e AGR entre o grupo de adultos jovens <60 anos e idosos  $\geq 60$  anos ( $P > 0,05$ ). O grupo de risco favorável definido pelo risco citogenético MRC 2010 foi significativamente menor para o grupo de pacientes idosos  $\geq 60$  anos quando comparado ao grupo de pacientes adultos jovens <60 anos ( $P = 0,0078$ ) [Tabela 10].

**Tabela 10. Estratificação de risco das LMAs de acordo com o grupo de risco e a idade**

	Total	<60 anos	≥60 anos	P*
<b>MRC 2010, n(%)</b>				
Favorável	34 (25%)	25 (36%)	9 (13%)	0,01
Intermediário	73 (53%)	31 (45%)	42 (62%)	
Desfavorável	30 (22%)	13 (19%)	17 (25%)	
<b>ELN 2010, n(%)</b>				
Favorável	26(25%)	15 (29%)	11 (22%)	0,64
Intermediário	45 (44%)	23 (44%)	22 (44%)	
Desfavorável	31 (31%)	14 (27%)	17 (34%)	
<b>ELN 2017, n(%)</b>				
Favorável	39 (35%)	21 (38%)	18 (33%)	0,84
Intermediário	39 (35%)	20 (36%)	19 (35%)	
Desfavorável	32 (30%)	15 (26%)	17 (32%)	
<b>AGR</b>				
Favorável	36 (28%)	19 (31,5%)	17 (25%)	0,61
Intermediário	52 (41%)	22 (37%)	30 (45%)	
Desfavorável	39 (31%)	19 (31,5%)	20 (30%)	

Abreviações: LMA, leucemia mieloide aguda; LPA, leucemia promielocítica aguda; N, número de pacientes na população; (%), porcentagem; MRC, Medical Research Council; ELN, European Leukemia Net; AGR, Adapted Genetic Risk;  
\* teste  $X^2$

O MRC apresentou risco favorável para 25 pacientes com <60 anos e 9 pacientes ≥ 60 anos; risco intermediário para 31 pacientes <60 anos e 42 pacientes ≥ 60 anos; risco desfavorável para 13 pacientes com idade <60 anos e 17 pacientes ≥60 anos; e falha para 9 pacientes <60 anos e 8 pacientes ≥60 anos. O ELN 2010 apresentou risco favorável para 15 pacientes <60 anos e 11 pacientes ≥ 60 anos; risco intermediário para 23 pacientes <60 anos e 22 pacientes ≥60 anos; risco desfavorável para 14 pacientes <60 anos e 17 pacientes ≥60 anos; e falha para 8 pacientes <60 anos e 20 pacientes ≥60 anos. O ELN 2017 apresentou risco favorável para 21 pacientes <60 anos e 18 pacientes ≥60 anos; risco intermediário para 20 pacientes <60 anos e 19 pacientes ≥ 60 anos; risco desfavorável para 15 pacientes <60 anos e para 17 pacientes ≥60 anos; e falha para 4 pacientes <60 anos e 16 pacientes ≥60 anos. O AGR apresentou risco favorável para 19 pacientes <60 anos e 17 pacientes ≥ 60 anos; risco intermediário para 22 pacientes <60 anos e 30 pacientes ≥ 60 anos; risco desfavorável para 19 pacientes <60 anos e 20 pacientes ≥60 anos; e falha para 3 pacientes ≥60 anos (Figura 12).



**Figura 12. Estratificação de risco das LMAs distribuídas de acordo com a idade. (A)** Grupo de risco citogenético *MRC 2010*. **(B)** Grupo de risco *ELN 2010*. **(C)** Grupo de risco *ELN 2017*. **(D)** Grupo de risco *AGR*.

#### 4.4 Estratificação de risco das LPAs

As LPAs foram classificadas como risco favorável, risco intermediário e risco desfavorável (Miguel A. Sanz et al. 2009) de acordo com a contagem de leucócitos e plaquetas (Tabela 11).

**Tabela 11. Estratificação de risco das LPAs (n=24)**

Grupo de risco	Total	18 a 59 anos	≥60 anos
Favorável	7 (29%)	4 (22%)	3 (50%)
Intermediário	9 (38%)	9 (50%)	∅
Desfavorável	8 (33%)	5 (28%)	3 (50%)

Abreviações: LPA, leucemia promielocítica aguda; N, número de pacientes na população; (%), porcentagem.

#### 4.5 Análises para desfechos clínicos de pacientes com LMA

Para a análise de desfecho, os pacientes foram distribuídos em quatro grupos de acordo com cariótipo e terapia de indução curativa: (i) todos os pacientes do estudo



(n=154), (ii) todos os pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa (n=103), (iii) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (n=79) e (iv) pacientes com cariótipo normal que realizaram terapia de indução curativa (n=30). A sobrevida livre de evento foi avaliada apenas para o grupo de pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (n=61) (grupo *iii*). A distribuição dos dados demográficos, clínicos, laboratoriais, citogenéticos e moleculares de cada grupo analisado estão detalhados na Tabela 12.

**Tabela 12. Distribuição dos dados demográficos, clínicos, laboratoriais, citogenéticos e moleculares nos quatro grupos avaliados para desfecho**

Variáveis	Pacientes que receberam terapia curativa			
	Todos os pacientes n=154 (%)	Todos os pacientes n=103 (%)	LMA não LPA n=79 (%)	LMA com cariótipo normal n=30 (%)
<b>Sexo</b>				
Feminino	73(47)	52(51)	42(53)	13(43)
Masculino	81(53)	51(49)	37(47)	17(57)
<b>Idade<sup>#</sup></b>	59(20-89)	51(20-69)	50(20-68)	51(21-65)
<b>Idade</b>				
≥60	76(49)	26(25)	20(25)	08(27)
<60	78(51)	77(75)	59(75)	22(73)
<b>Lecócito<sup>#</sup></b>	7,5(0,3-318,9)	7,7(0,3-318,9)	10,5(0,3-318,9)	10(1-319)
<b>Leucócito</b>				
≥ 50 x10 <sup>9</sup> /L	36(23)	23(22)	17(22)	07(23)
<50 x10 <sup>9</sup> /L	118(77)	80(78)	62(78)	23(77)
<b>Leucocito</b>				
≥ 100 x10 <sup>9</sup> /L	17(11)	09(09)	09(11)	04(13)
<100 x10 <sup>9</sup> /L	137(89)	94(91)	70(89)	26(87)
<b>Neutrófilo<sup>#</sup></b>	1,1 (0-69,9)	1(0-52,8)	1,3(0-49,6)	2,05(0-30,9)
<b>Hemoglobina<sup>#</sup></b>	8 (3,9-13,5)	8,1(3,9-13,5)	8(3,9-12,3)	8,1(4,2-12)
<b>Contagem de plaquetas<sup>#</sup></b>	48,5 (1-500)	48(3-500)	48(3-500)	46,5(8-500)
<b>% blastos MO<sup>#</sup></b>	63 (14-100)	74(14-100)	58(14-100)	60(18-96)
<b>Albumina <sup>#</sup></b>	3,7 (2,3-5)	3,85(2,4-4,9)	3,82(2,4-4,7)	3,85(2,5-4,7)
<b>Albumina</b>				
<3,8g/dL	77(50)	45(44)	35(44)	13(43)
≥3,8g/dL	70(45)	54(52)	43(55)	16(54)
Não avaliado	07(5)	04(4)	01(1)	01(3)
<b>FLT3 ITD</b>				
AUSENTE	100(65)	65(82)	65(82)	22(73)
PRESENTE	17(11)	14(18)	14(18)	08(27)
Não avaliado	37(24)	0	0	0
<b>Mutação NPM1</b>				
AUSENTE	83(54)	58(56)	58(73)	20(66)
PRESENTE	27(18)	16(16)	16(20)	09(30)
Não avaliado	44(28)	29(28)	05(7)	01(4)
<b>PML-RARA (t(15;17))</b>				
AUSENTE	130(84)	79(77)	79(100)	30(100)
PRESENTE	24(16)	24(23)	0	0
<b>MUTAÇÃO BIALÉLICA</b>				0
<b>CEBPA</b>				
AUSENTE	48(31)	45(44)	45(57)	17(57)
PRESENTE	04(3)	04(4)	04(5)	03(10)
Não avaliado	102(66)	54(52)	30(38)	10(33)
<b>RUNX1-RUNXIT1 - t(8;21)</b>				
AUSENTE	117(76)	78(76)	78(99)	30(100)
PRESENTE	02(1)	01(1)	01(1)	0
Não avaliado	35(23)	24(23)	0	0
<b>CBFB-MYH11 (inv16)</b>				
AUSENTE	109(71)	72(70)	72(91)	30(100)
PRESENTE	08(5)	06(6)	06(8)	0
Não avaliado	37(24)	25(24)	1(1)	0
<b>Terapia curativa</b>				
Não	51(33)	0	0	0
Sim	103(67)	103 (100)	79 (100)	30 (100)
<b>TCTH</b>				
Não	121(79)	70(68)	46(58)	16(53)
Sim	33(21)	33(32)	33(42)	14(47)

<b>Autólogo</b>	13(38)	13(38)	13(38)	06(43)
<b>Alogênico</b>	20(62)	20(62)	20(62)	08(57)
<b>Alogênico - doador aparentado</b>	13(65)	13(65)	13(65)	05(63)
<b>Alogênico - doador não aparentado</b>	01(5)	01(5)	01(5)	01(12)
<b>Alogênico - doador haploidentico</b>	06(30)	06(30)	06(30)	02(25)
<b>Risco citogenético</b>				
<b>Favorável</b>	34(22)	31(30)	07(9)	0
<b>Intermediário</b>	73(48)	45(44)	45(57)	30(100)
<b>Desfavorável</b>	30(19)	18(17)	18(23)	0
<b>Inconclusivo</b>	17(11)	9(9)	9(11)	0

# mediana (mínimo – máximo).

#### 4.5.1 Sobrevida global em pacientes com LMA de acordo com fatores demográficos e laboratoriais

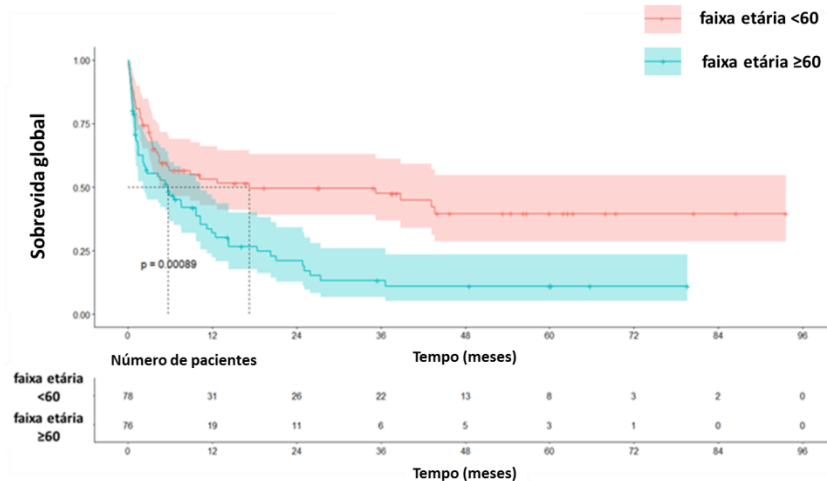
Inicialmente, todas as análises de sobrevida foram realizadas por meio de curvas de sobrevida construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank. Cada variável foi testada em todos os grupos de paciente, conforme apropriado.

De acordo com a estratificação por idade, pacientes idosos  $\geq 60$  anos apresentaram uma pior sobrevida global quando comparados a pacientes adultos jovens  $< 60$  anos ( $P=0,00089$ ), quando todos os pacientes foram incluídos na análise (Figura 13 A). A sobrevida global foi semelhante entre os pacientes  $\geq 60$  anos e  $< 60$  anos para o grupo de pacientes que realizaram terapia de indução curativa e para o grupo de pacientes LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (Figura 13 B e C).

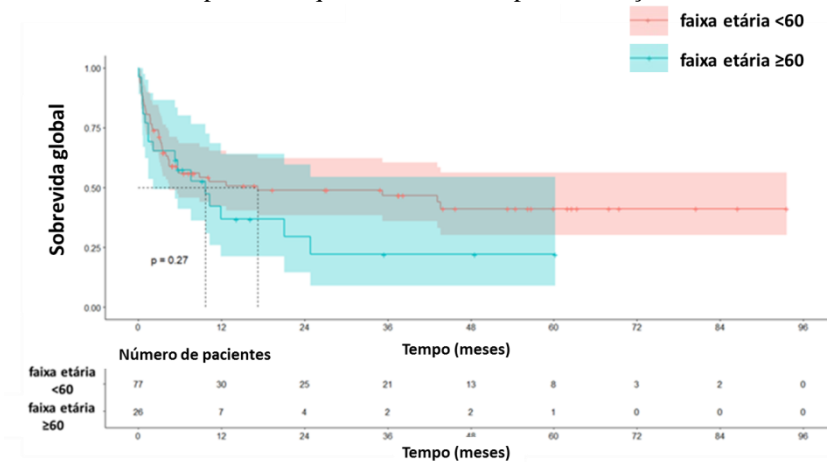
De acordo com a estratificação por contagem de leucócitos totais, pacientes com valores de leucócitos totais  $\geq 50 \times 10^9/L$  apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global quando a avaliação foi realizada para o grupo de todos os pacientes do estudo ( $P < 0,0001$ ) (Figura 14 A) e para os pacientes que realizaram terapia de indução curativa ( $P=0,0051$ ) (Figura 14 B), mas não foi significativo para os pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (Figura 14 C).

De acordo com a estratificação por valores de albumina, pacientes com albumina sérica  $< 3,8g/dL$  apresentaram uma pior sobrevida global no grupo que inclui todos os pacientes ( $P = 0,012$ ) (Figura 15 A), no grupo de pacientes que realizaram terapia de indução curativa ( $P = 0,025$ ) (Figura 15 B) e no grupo de pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa ( $P = 0,00097$ ) (Figura 15 C).

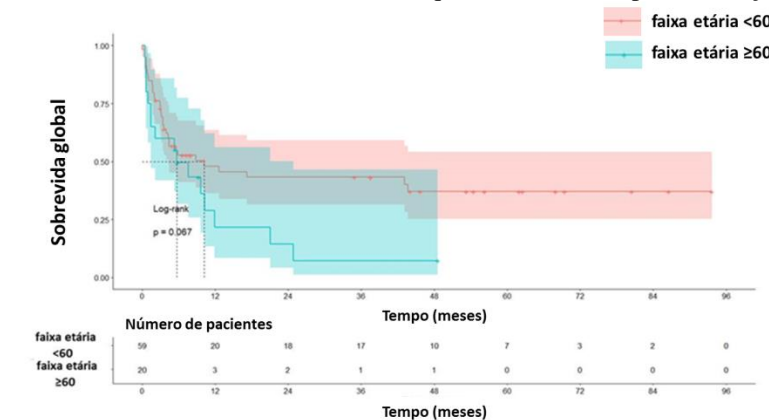
## A. Todos os pacientes do estudo



## B. Todos os pacientes que realizaram terapia de indução curativa

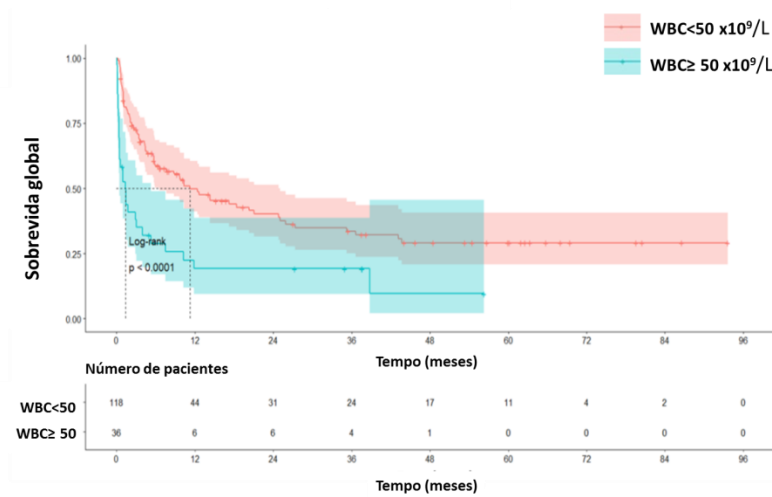


## C. Pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa

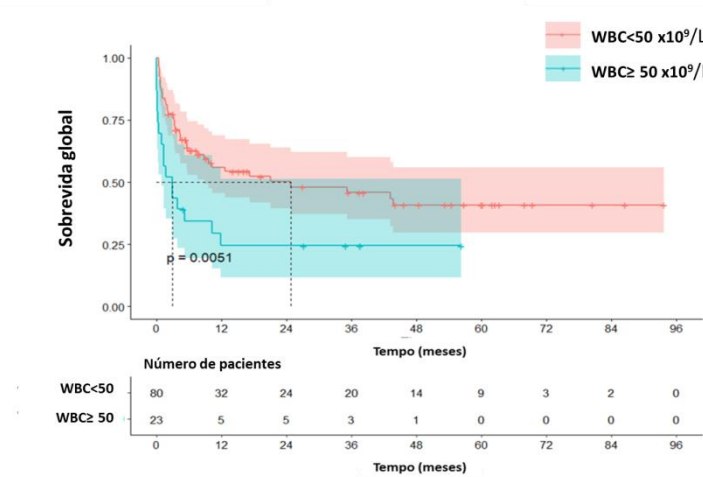


**Figura 13. Análise da sobrevida global de acordo com a faixa etária.** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes  $\geq 60$  anos apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global quando foi avaliado todos os pacientes do estudo ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

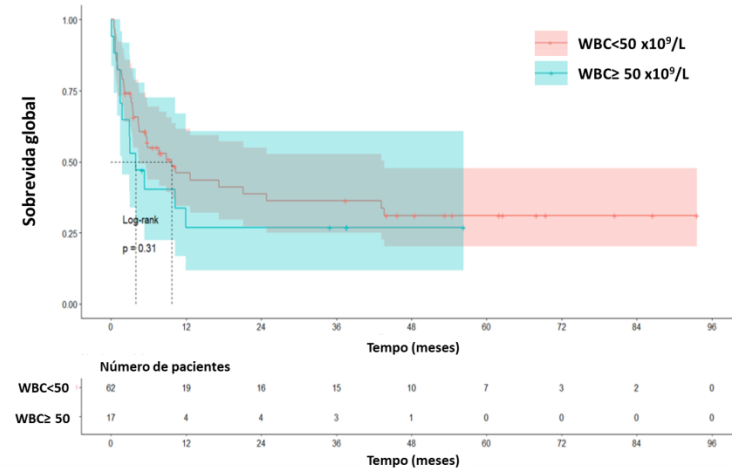
## A. Todos os pacientes do estudo



## B. Todos os pacientes que realizaram terapia de indução curativa

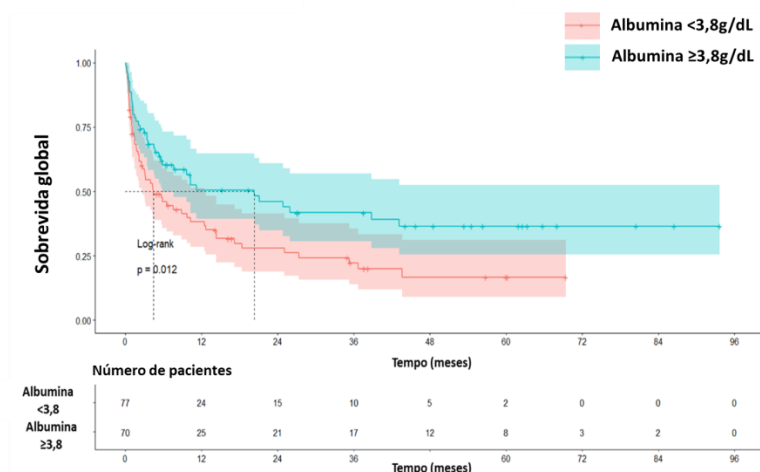


## C. Pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa

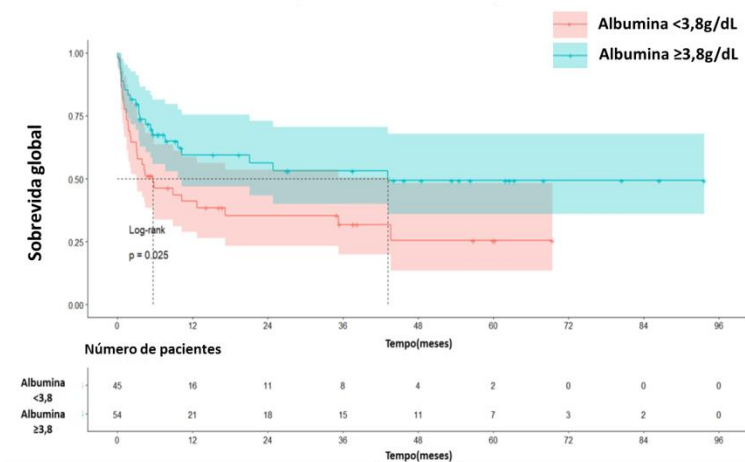


**Figura 14. Análise da sobrevida global de acordo com a contagem de leucócitos.** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes com contagem de leucócitos  $\geq 50 \times 10^9/L$  apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global para o grupo que incluiu todos os pacientes do estudo e para o grupo de pacientes que receberam terapia de indução curativa ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

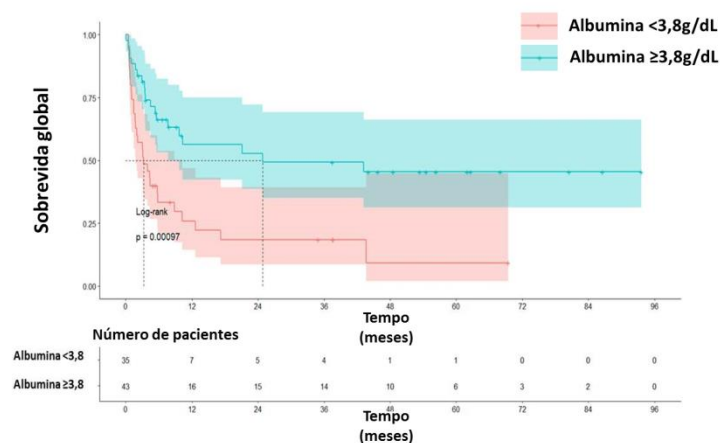
## A. Todos os pacientes do estudo



## B. Todos os pacientes que realizaram terapia de indução curativa



## C. Pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa

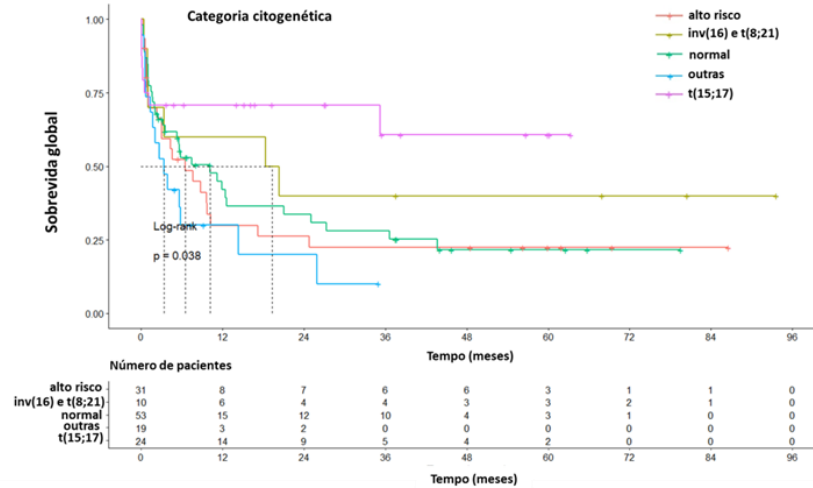


**Figura 15. Análise de sobrevida global de acordo com a albumina.** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa, (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes com valores de albumina <3,8 g/dL apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global nos três grupos avaliados ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

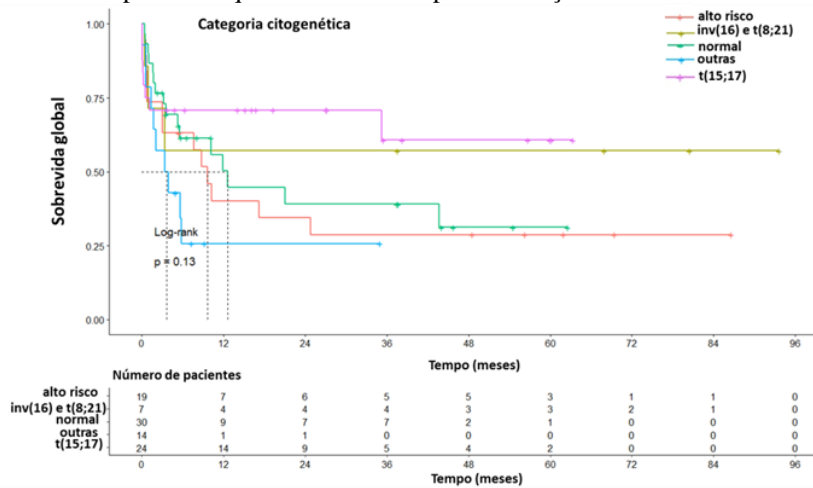
#### **4.5.2 Sobrevida global em pacientes com LMA de acordo com a citogenética**

Foi realizada a avaliação do impacto da citogenética na sobrevida global. Para a análise da categoria citogenética, as anormalidades cromossômicas foram distribuídas em cinco grupos: t(15;17), o grupo CBF que inclui a t(8;21) e inv(16), cariótipo normal, outras anormalidades e o grupo que apresenta anormalidades que definem alto risco (cariótipo complexo, cariótipo tetraploide, del(5q), del(7q),-7, anormalidades em 17p, t(6;9) e t(9;22)). Foi observado diferença significativa para a sobrevida global em relação a categoria citogenética quando todos os pacientes do estudo foram incluídos na análise. Pacientes que apresentaram a categoria t(15;17) apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global ( $P=0,038$ ) (Figura 16 A). Não foi observado diferença significativa para a sobrevida global em relação a categoria citogenética para os pacientes que realizaram terapia de indução curativa (Figura 16 B) e para pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (Figura 16 C).

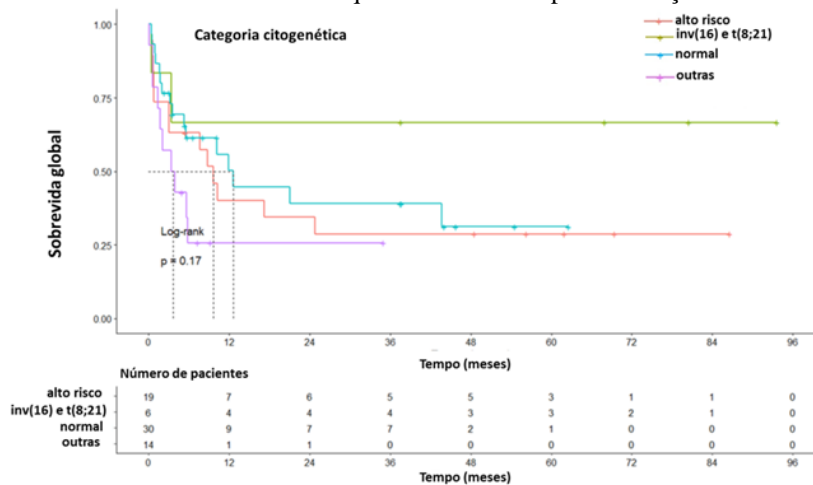
## A. Todos os pacientes do estudo



## B. Todos os pacientes que realizaram terapia de indução curativa



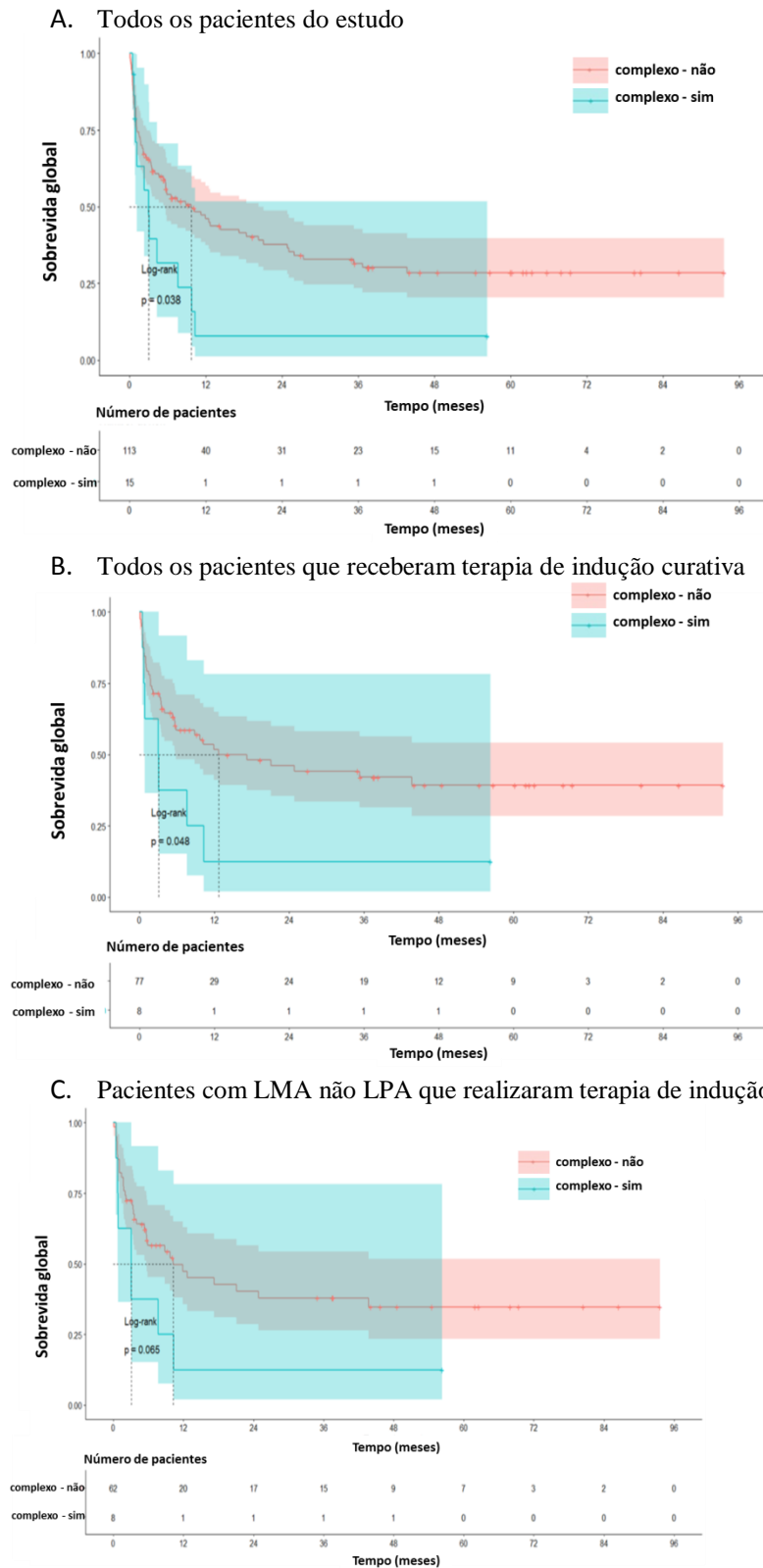
## C. Pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa



**Figura 16. Análise de sobrevida global de acordo com a categoria citogenética.** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução. Pacientes com a categoria t(15;17) apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-rank.



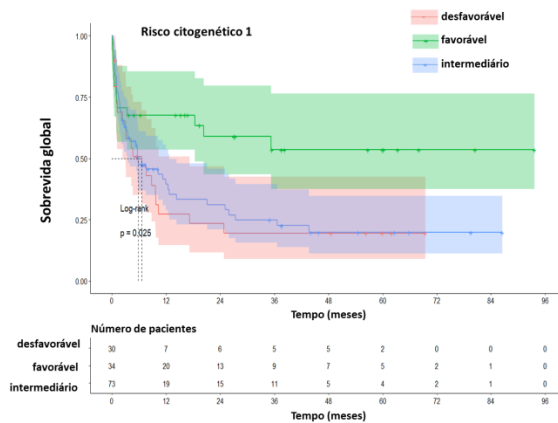
De acordo com a estratificação de acordo com a presença ou ausência de cariótipo complexo, pacientes com cariótipo complexo apresentaram uma pior sobrevida global no grupo que inclui todos os pacientes ( $P = 0,038$ ) (Figura 17 A), e no grupo de pacientes que realizaram terapia de indução curativa ( $P = 0,048$ ) (Figura 17 B). Não foi observado diferença significativa na sobrevida global quanto ao cariótipo complexo para o grupo de pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução (Figura 17 C).



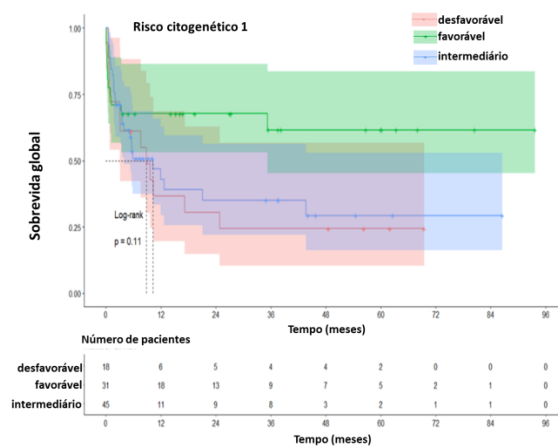
**Figura 17. Análise de sobrevida global de acordo com o cariótipo complexo.** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução. Pacientes com o cariótipo complexo apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo e para o grupo que incluiu os pacientes que realizaram terapia de indução curativa ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

A seguir, o impacto dos diferentes grupos de risco citogenéticos definidos pelo MRC 2010 na sobrevida global foi avaliado. Os riscos citogenéticos foram comparados de três diferentes formas. A comparação entre risco favorável *versus* risco intermediário *versus* risco desfavorável (risco citogenético 1) teve impacto significativo na sobrevida no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo ( $P=0,025$ ) (Figura 18). A comparação entre risco favorável *versus* outros (risco citogenético 2) evidenciou que pacientes com risco citogenético favorável apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo ( $P=0,0074$ ) e no grupo de pacientes que realizaram terapia de indução curativa ( $P=0,043$ ) (Figura 19). A comparação entre grupo de risco desfavorável *versus* outros (risco citogenético 3) evidenciou que não há diferença significativa de sobrevida global entre risco citogenético desfavorável *versus* outros para os três grupos de pacientes avaliados (Figura 20).

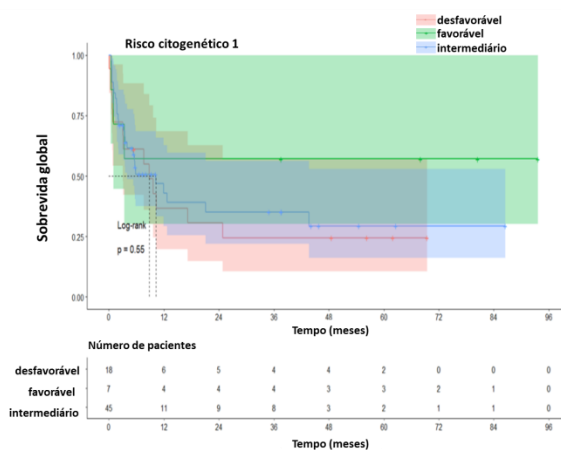
### A. Todos os pacientes do estudo



### B. Todos os pacientes que receberam terapia de indução curativa

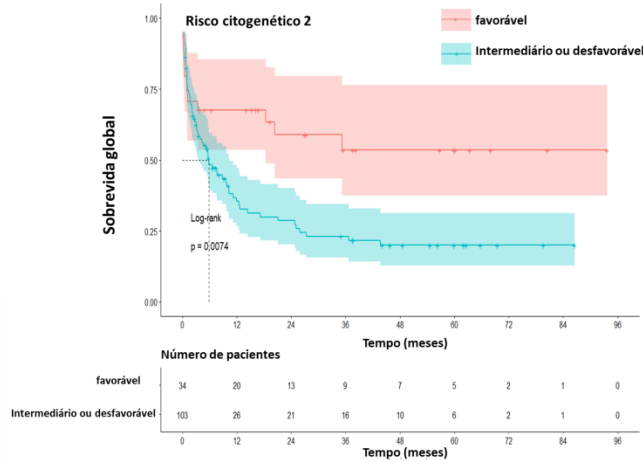


### C. Pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa

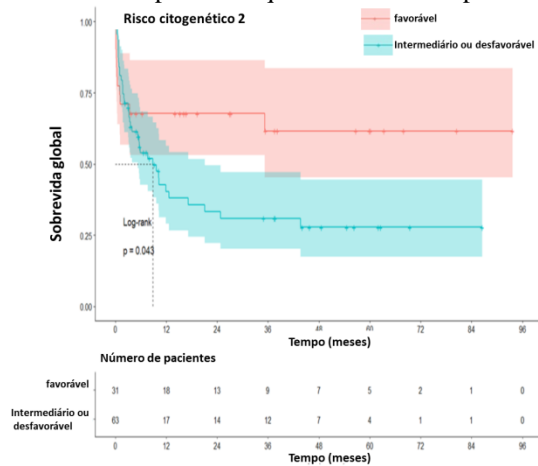


**Figura 18. Análise de sobrevida global de acordo com o risco citogenético 1 (grupo de risco favorável versus grupo de risco intermediário versus grupo de risco desfavorável).** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. O risco citogenético teve impacto significativo na sobrevida no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

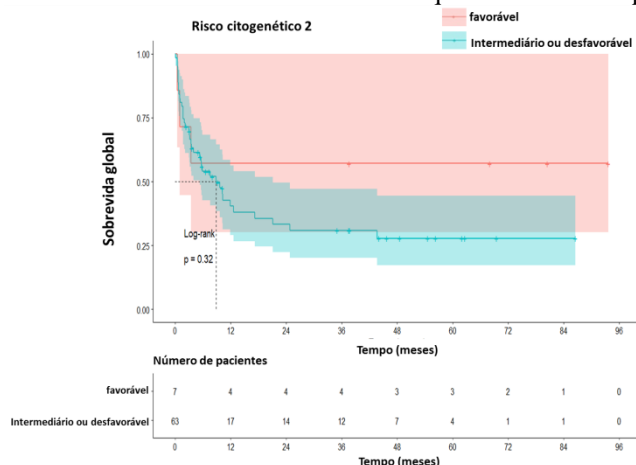
### A. Todos os pacientes do estudo



### B. Todos os pacientes que receberam terapia de indução curativa

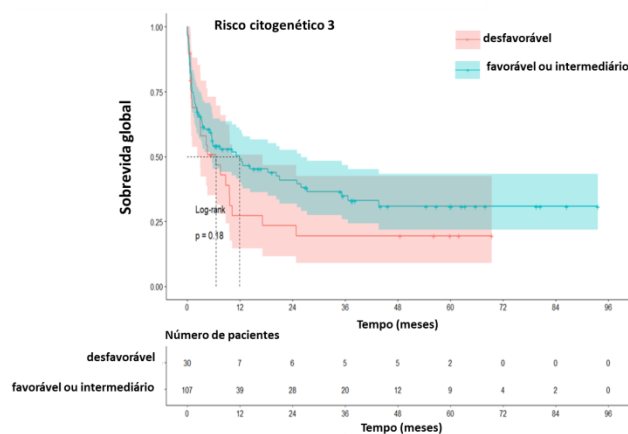


### C. Pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa

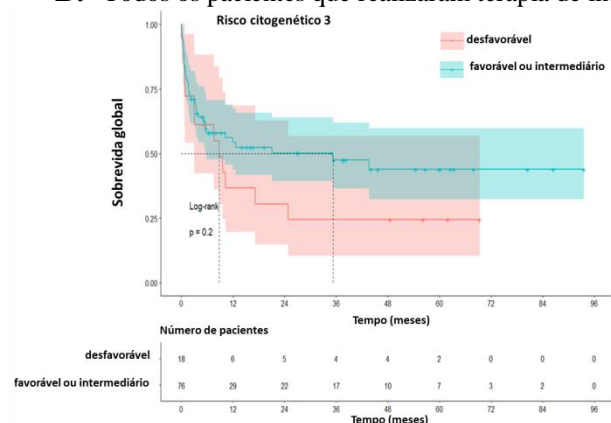


**Figura 19. Análise de sobrevida global de acordo com o risco citogenético 2 (grupo de risco favorável versus outros).** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes do grupo de risco citogenético favorável apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global no grupo que incluiu todos os pacientes do estudo e no grupo de pacientes que realizaram terapia de indução curativa ( $P < 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

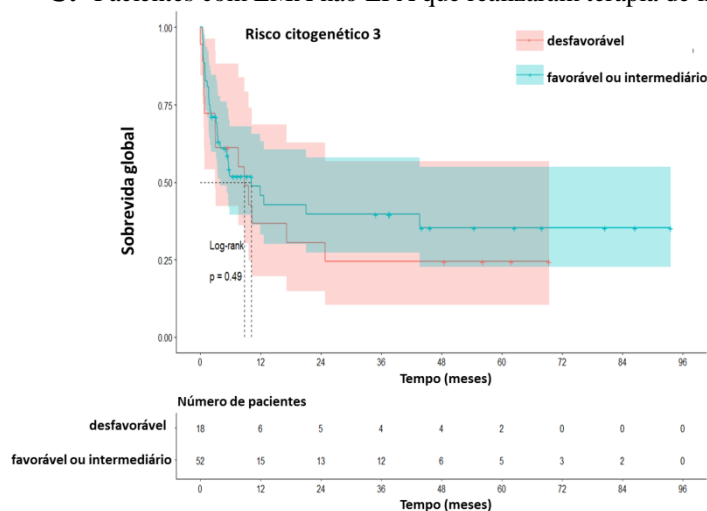
### A. Todos os pacientes do estudo



### B. Todos os pacientes que realizaram terapia de indução curativa



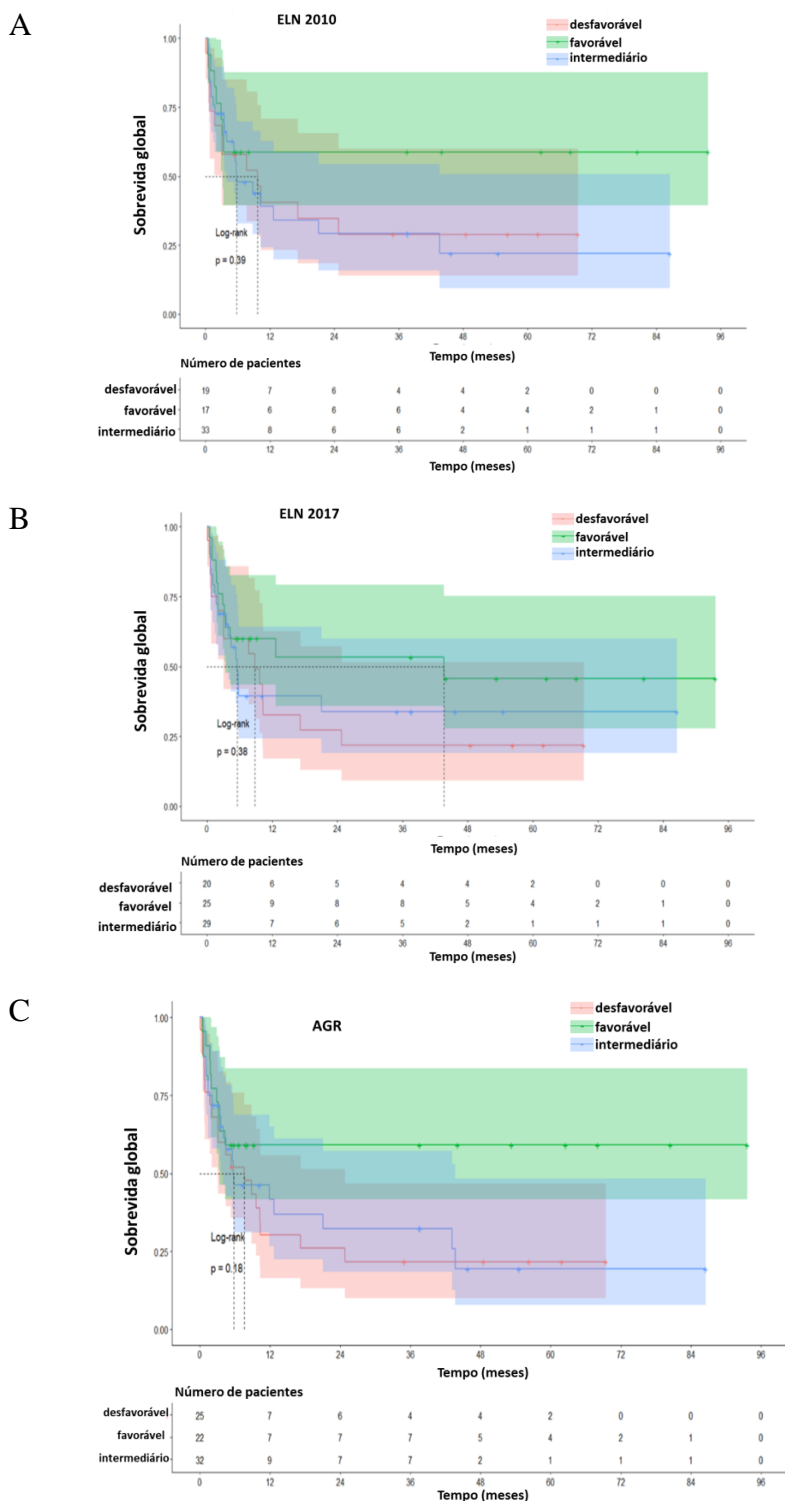
### C. Pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa



**Figura 20. Análise de sobrevida global de acordo com o risco citogenético 3 (grupo de risco desfavorável versus outros).** (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Não foi observado diferença significativa em relação ao risco citogenético 3 para os três grupos de pacientes avaliados ( $P \geq 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

### **4.5.3 Sobrevida global em pacientes com LMA de acordo com a estratificação genética**

Foi avaliada a estratificação de risco genético pelo *European Leukemia Net* (ELN) 2010, *European Leukemia Net* (ELN) 2017 (sem considerar as mutações em RUNX1, ASXL1 e TP53) e *Adapted Genetic Risk* (AGR) para o grupo de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa e não foi observado diferença significativa para a sobrevida global nos três grupos de risco genético avaliados ( $P \geq 0,05$ ) (Figura 21).



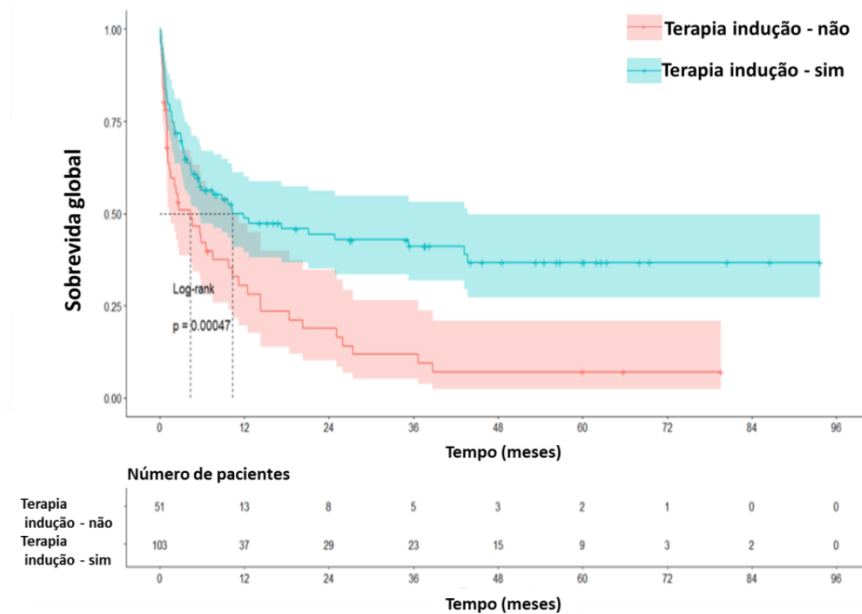
**Figura 21. Análise de sobrevida global de acordo com a estratificação do risco genético para o grupo de pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. (A) estratificação de risco pelo *European Leukemia Net* (ELN) 2010 (B) estratificação de risco pelo ELN 2017 sem considerar as mutações em RUNX1, ASXL1 e TP53, e (C) estratificação de risco pelo *Adapted Genetic Risk* (AGR). Não foi observado diferença significativa para a sobrevida global para os três grupos de risco genético ( $P \geq 0,05$ ). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.**



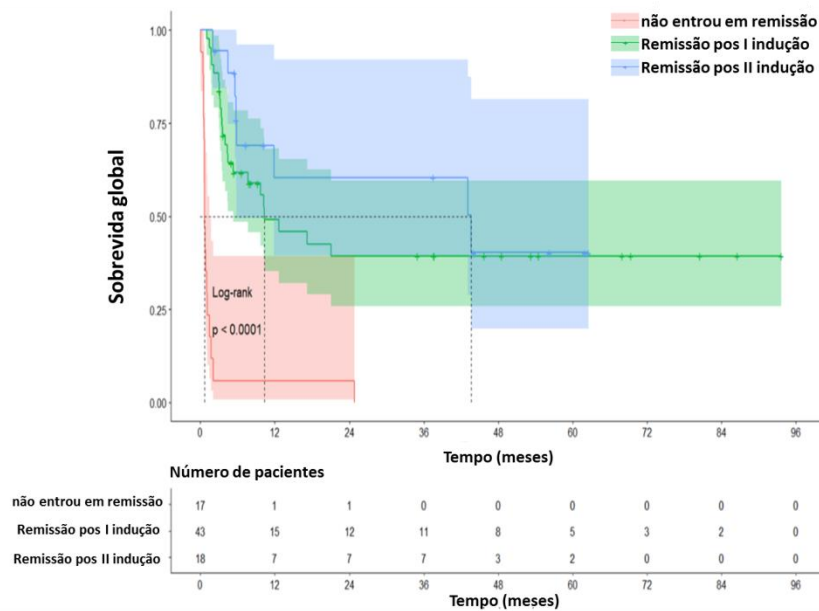
#### 4.5.4 Sobrevida global em pacientes com LMA de acordo com o tratamento

Foi avaliada a terapia de indução curativa para todos os pacientes do estudo (pacientes que realizaram terapia de indução curativa *versus* pacientes que não realizaram terapia de indução curativa). Observamos que os pacientes que realizaram a terapia de indução curativa apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global ( $P=0,00047$ ) (Figura 22). O momento em que o paciente atingiu a remissão após a terapia de indução curativa foi avaliado nos pacientes com LMA não LPA. A sobrevida global foi significativamente diferente entre pacientes que atingiram remissão após a I indução *versus* remissão após a II indução *versus* não entrou em remissão ( $P<0,0001$ ) (Figura 23).

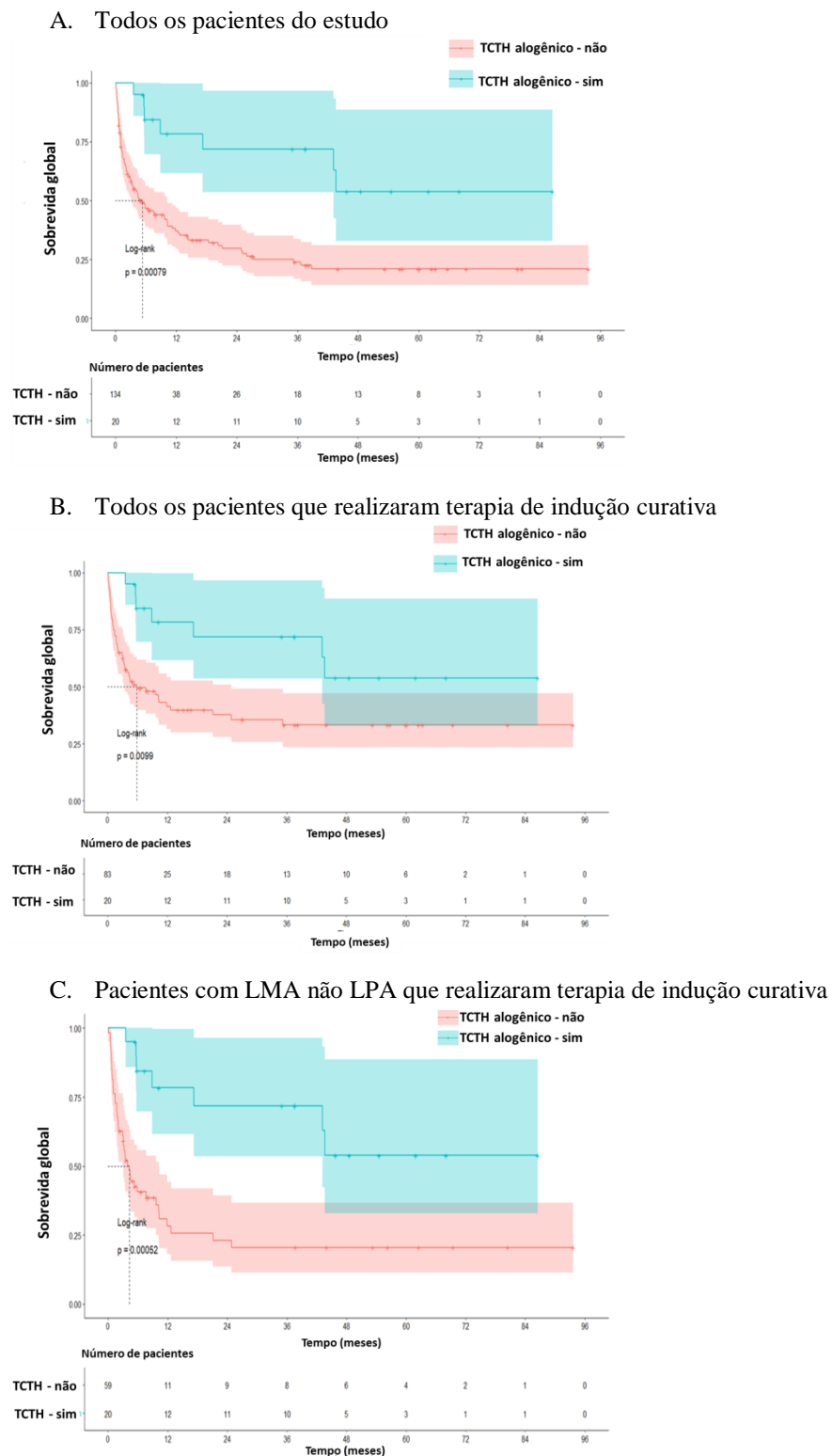
Vinte pacientes foram submetidos a TCTH alogênico; 15 pacientes na primeira remissão, 5 pacientes na segunda remissão. O impacto do TCTH alogênico na sobrevida global foi avaliado em todos os pacientes do estudo, pacientes que realizaram terapia de indução curativa e pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. A análise do TCTH alogênico nos três grupos de pacientes evidenciou que pacientes submetidos a TCTH alogênico apresentaram um melhor desfecho na sobrevida global quando comparados a pacientes que não realizaram o TCTH alogênico ( $P<0,05$ ) (Figura 24). Entretanto, vale destacar que o grupo de pacientes que não foi submetido ao TCTH alogênico inclui todos os pacientes que evoluíram a óbito antes de concluírem o tratamento para a LMA: pacientes que evoluíram a óbito antes da remissão ( $n=17$ ), pacientes que evoluíram a óbito em remissão antes do término do tratamento ( $n=15$ ) e pacientes que recidivaram antes do término do tratamento ( $n=5$ ). Dessa forma, análises complementares foram realizadas, para fins de melhor entender o impacto do TCTH alogênico na sobrevida dos pacientes com LMA, especialmente no grupo de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa.



**Figura 22. Análise da sobrevida global de acordo com a terapia de indução curativa para o grupo que incluiu todos os pacientes do estudo. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.**



**Figura 23. Análise de sobrevida global de acordo com o momento que o paciente atingiu remissão (após primeira indução ou segunda indução). As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.**



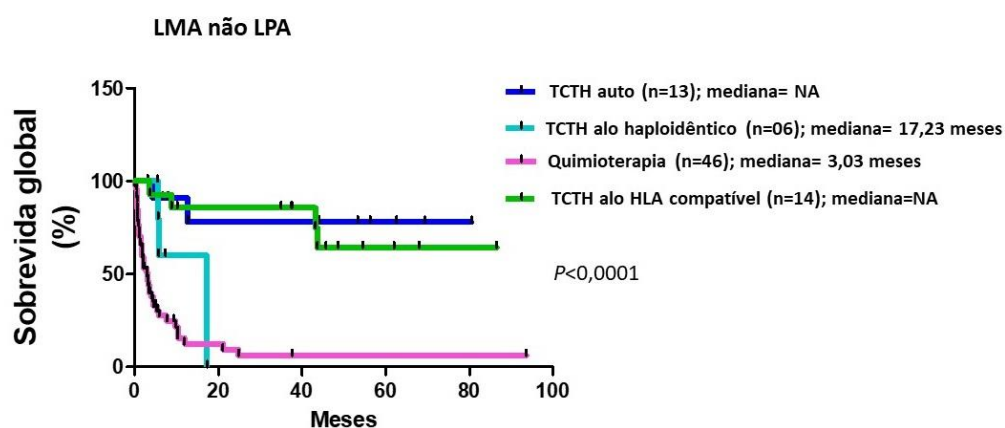
**Figura 24. Análise de sobrevida global de acordo com o TCTH alogênico em (A) todos os pacientes do estudo, (B) pacientes que realizaram terapia de indução curativa e (C) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa. Pacientes que realizaram o TCTH alogênico apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.**

#### 4.5.5 Sobrevida global em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução, categorizados de acordo com a modalidade de terapia de consolidação

Para fins de melhor entendermos o impacto do TCTH alogênico na sobrevida de pacientes com LMA, aprofundamos as análises de sobrevida. Primeiramente, analisamos toda a coorte independente do momento em que o TCTH alogênico foi realizado (15 em primeira remissão, 5 em segunda remissão). O TCTH autólogo foi realizado em primeira remissão em todos os casos que receberam essa modalidade de consolidação.

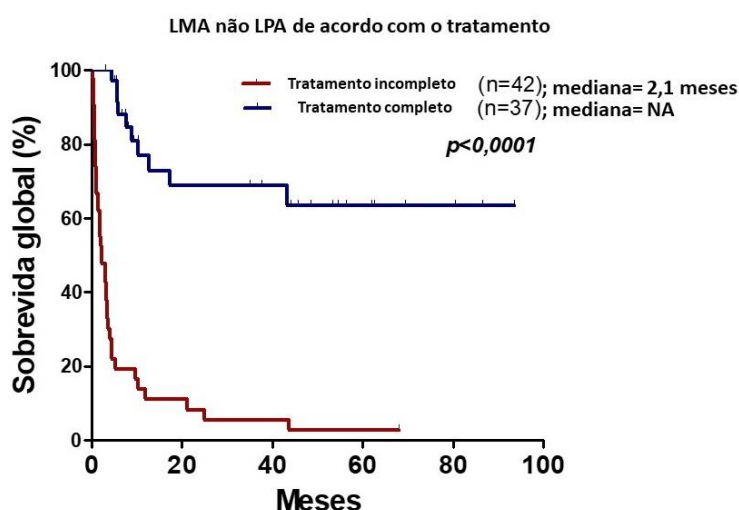
Considerando o grupo de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia curativa, 20 pacientes foram submetidos a TCTH alogênico, sendo 13 TCTH alogênico de doador aparentado HLA compatível, 1 TCTH alogênico de doador não aparentado HLA compatível e 6 TCTH alogênico de doador haploidêntico. Treze pacientes realizaram o TCTH autólogo e 46 realizaram o tratamento com quimioterapia.

Observamos que a mediana de sobrevida global foi de 3,03 meses para os pacientes que receberam quimioterapia e 17,23 meses para os pacientes que foram submetidos a TCTH alogênico com doador haploidêntico, e não atingida para os pacientes submetidos a TCTH autólogo e TCTH alogênico de doadores aparentados ou não aparentados HLA compatíveis ( $P < 0,0001$ ) (Figura 25).



**Figura 25.** Análise de sobrevida global na coorte de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa. O transplante de células tronco hematopoiético (TCTH) realizado em qualquer fase do tratamento foi considerado de acordo com a modalidade do doador: autólogo (auto), alogênico (alo) HLA compatível e alogênico haploidêntico. Pacientes que não foram submetidos ao TCTH entraram no grupo de quimioterapia. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

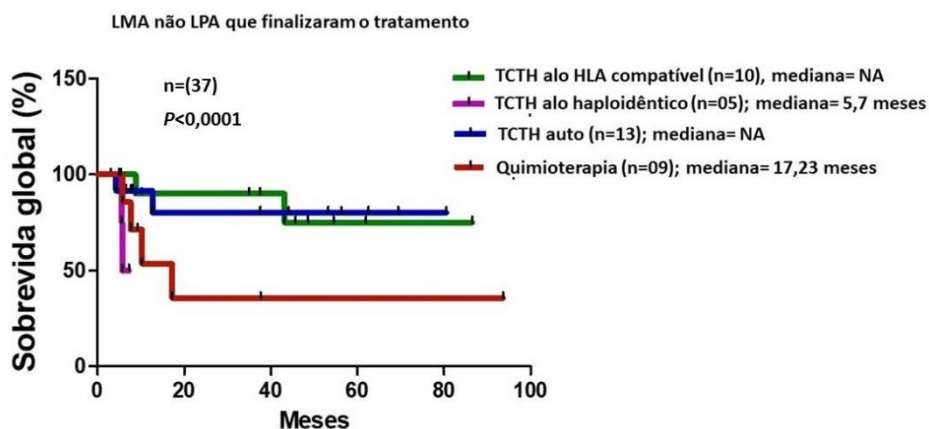
Destacamos que o grupo de pacientes categorizados como o grupo de quimioterapia, inclui 37 pacientes que não completaram o tratamento, pois inclui pacientes que evoluíram a óbito antes da remissão ( $n=17$ ), pacientes que evoluíram a óbito em remissão antes do término do tratamento ( $n=15$ ) e pacientes que recidivaram antes do término do tratamento ( $n=5$ ). Categorizamos os pacientes em dois grupos: pacientes que completaram o tratamento (mediana de sobrevida= não atingida) e pacientes que não completaram o tratamento (mediana de sobrevida= 2,1 meses). Como era de se esperar, a sobrevida global foi significativamente inferior no grupo de pacientes que não completaram o tratamento ( $P<0,0001$ ) (Figura 26).



**Figura 26. Análise de sobrevida global de pacientes com LMA não LPA de acordo com o tratamento realizado: completo versus incompleto.** As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

O próximo passo foi analisar o efeito da terapia final de consolidação apenas para os pacientes que completaram o tratamento ( $n=37$ ). Para esta análise, apenas o TCTH alogênico realizado em primeira remissão foi computado. Dez pacientes realizaram TCTH alogênico com doador aparentado HLA compatível, 05 pacientes foram submetidos ao TCTH alogênico de doador haploidêntico, 13 pacientes realizaram o TCTH autólogo e 09 pacientes foram submetidos a quimioterapia como modalidade de terapia final de consolidação em primeira remissão. Observamos que a mediana de sobrevida global foi de 17,23 meses para pacientes que realizaram o tratamento com quimioterapia e de 5,7 meses para pacientes que foram submetidos ao TCTH alogênico de doador haploidêntico. A mediana de sobrevida global não foi atingida para pacientes

que foram submetidos ao TCTH alogênico com doador aparentado HLA compatível e para pacientes submetidos ao TCTH autólogo (Figura 27).



**Figura 27.** Análise de sobrevida global para pacientes com LMA não LPA que completaram o tratamento, de acordo com a modalidade de terapia final de consolidação. Apenas o transplante de células tronco hematopoiético (TCTH) realizado em primeira remissão foi computado, e categorizado de acordo com a modalidade do doador: autólogo (auto), alogênico (alo) HLA compatível e alogênico haploidêntico. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

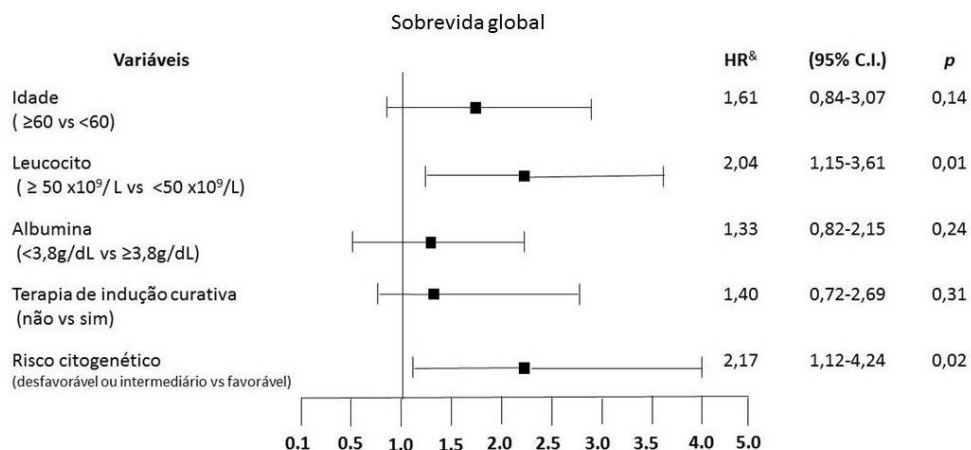
#### 4.5.6 Análises univariada e multivariada para a sobrevida global em pacientes com LMA

Ao realizar a análise univariada através do modelo proporcionais de risco de Cox em todos os pacientes do estudo (n=154) foi observado que variáveis como a idade, leucócito, albumina, cariótipo complexo, risco citogenético, terapia curativa e o TCTH alogênico apresentaram valores significativos para a sobrevida global. A partir das variáveis com significância prognóstica identificadas na análise univariada, foi realizada a análise multivariada. O TCTH alogênico foi excluído das análises multivariadas, pois optamos por privilegiar as análises de variáveis obtidas ao diagnóstico em detrimento de tratamentos específicos, pois nem todos os pacientes tiveram a oportunidade de TCTH alogênico por óbito em fases anteriores do tratamento. Utilizando como confundidores a idade, a albumina e terapia curativa, observamos que o leucócito (Hazard ratio 2,04; IC95%: 1,15-3,61; P=0,01) e risco citogenético (Hazard ratio 2,17; IC95%: 1,12-4,24; P=0,02) foram preditores independentes de sobrevida global. O leucócito  $\geq 50 \times 10^9 /L$  foi preditor independente de pior prognóstico para a sobrevida global. O risco citogenético favorável foi preditor independente de bom prognóstico para a sobrevida

global. As variáveis analisadas e resultados da análise de regressão de Cox de todos os pacientes do estudo estão apresentados na Tabela 13. A análise multivariada de todos os pacientes do estudo está representada na Figura 28.

<b>Tabela 13. Análises para sobrevida global em todos os pacientes do estudo (n=154)</b>						
<b>Variáveis</b>	<b>Univariada</b>			<b>Multivariada</b>		
	<b>HR<sup>&amp;</sup></b>	<b>(95% C.I.)</b>	<b>p</b>	<b>HR</b>	<b>(95% C.I.)</b>	<b>p</b>
<b>Sexo</b>						
F vs. M	0,94	0,64-1,39	<b>0,78</b>			
<b>Idade*</b>	1,02	1,01-1,04	<b>0,00</b>			
<b>Idade ( ≥60 vs &lt;60)</b>	1,95	1,30-2,93	<b>0,00</b>	1,61	0,84-3,07	<b>0,14</b>
<b>Leucocito*</b>	1,00	1,00-1,01	<b>0,00</b>			
<b>Leucocito ( ≥ 50 x10<sup>9</sup>/L vs &lt;50 x10<sup>9</sup>/L)</b>	2,32	1,50-3,59	<b>0,00</b>	2,04	1,15-3,61	<b>0,01</b>
<b>Leucocito ( ≥ 100 x10<sup>9</sup> /L vs &lt;100 x10<sup>9</sup> /L)</b>	3,63	2,05-6,4	<b>0,00</b>			
<b>Hemoglobina<sup>†</sup></b>	0,94	0,85-1,04	<b>0,21</b>			
<b>Contagem de plaquetas<sup>†</sup></b>	0,99	0,99-1,00	<b>0,23</b>			
<b>% blastos MO*</b>	1,00	0,99-1,01	<b>0,83</b>			
<b>Albumina<sup>†</sup></b>	2,65	1,74-4,05	<b>0,00</b>			
<b>Albumina (&lt;3,8g/dL vs ≥3,8g/dL)</b>	1,69	1,12-2,56	<b>0,01</b>	1,33	0,82-2,15	<b>0,24</b>
<b>FLT3 ITD #</b>	1,19	0,66-2,11	<b>0,55</b>			
<b>NPM1 MUT #</b>	0,91	0,53-1,56	<b>0,73</b>			
<b>PML-RARA - t(15;17) #</b>	0,47	0,20-1,08	<b>0,07</b>			
<b>Mutação bialélica CEBPA #</b>	0,70	0,17-2,93	<b>0,63</b>			
<b>RUNX1-RUNX1T1 - t(8;21) e CBFβ-MYH11 (inv16) #</b>	0,85	0,39-1,85	<b>0,68</b>			
<b>Cariótipo complexo #</b>	1,90	1,62-3,53	<b>0,04</b>			
<b>TCTH alogênico (não vs sim)</b>	3,45	1,60-7,47	<b>0,00</b>			
<b>Terapia curativa (não vs sim)</b>	2,00	1,35-2,98	<b>0,00</b>	1,40	0,72-2,69	<b>0,31</b>
<b>Risco citogenético</b>						
<b>Risco alto ou intermediário vs baixo</b>	2,16	1,21-3,84	<b>0,01</b>	2,17	1,12-4,24	<b>0,02</b>
<b>Risco alto vs baixo e intermediário</b>	1,38	0,85-2,25	<b>0,19</b>			

\*O aumento nos valores para a variável contínua apresenta um pior prognóstico;  
<sup>†</sup> A diminuição nos valores da variável contínua apresenta um pior prognóstico;  
# presente *versus* ausente  
<sup>&</sup> HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada  
HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada  
Abreviações: HR, Hazard ratio; Vs, *versus*



**Figura 28. Análise multivariada para a sobrevida global em todos os pacientes do estudo.** O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. <sup>&</sup> HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada, HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada. Abreviações: HR, Hazard ratio; vs, *versus*.

Através da análise univariada para os pacientes que realizaram terapia de indução curativa (n=103), variáveis como leucócito, albumina, risco citogenético e TCTH alogênico apresentaram valores significativos para a sobrevida global. A partir das variáveis com significância prognóstica identificadas na análise univariada, foi realizada a análise multivariada. Utilizando o leucócito como confundidor, observamos que o risco citogenético (Hazard ratio 2,77; IC95%: 1,27-6,04; P=0,01) e a albumina (Hazard ratio 1,88; IC95%: 1,02-3,57; P=0,04) foram preditores independentes de sobrevida global. O risco citogenético favorável foi preditor independente de bom prognóstico para a sobrevida global. A albumina <3,8g/dL foi um fator preditor independente de prognóstico desfavorável. As variáveis analisadas e resultados da análise de regressão de Cox dos pacientes que realizaram terapia de indução curativa estão apresentados na Tabela 14. A análise multivariada dos pacientes que realizaram terapia de indução está representada na Figura 29.



**Tabela 14. Análises para sobrevida global em pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa (n=103)**

Variáveis	HR <sup>&amp;</sup>	Univariada		Multivariada		
		(95% C.I.)	<i>p</i>	HR	(95% C.I.)	<i>p</i>
<b>Sexo</b>	1,01	0,60-1,69	<b>0,98</b>			
F vs. M						
<b>Idade*</b>	1,02	0,99-1,04	<b>0,10</b>			
<b>Idade ( ≥60 vs &lt;60)</b>	1,38	0,78-2,44	<b>0,27</b>			
<b>Leucocito*</b>	1,01	1,00-1,01	<b>0,01</b>			
<b>Leucocito ( ≥ 50 x10<sup>9</sup>/L vs &lt;50 x10<sup>9</sup>/L)</b>	2,21	1,25-3,91	<b>0,01</b>	1,27	0,63-2,59	<b>0,50</b>
<b>Leucocito ( ≥ 100 x10<sup>9</sup> /L vs &lt;100 x10<sup>9</sup> /L)</b>	2,89	1,35-6,18	<b>0,01</b>			
<b>Hemoglobina<sup>†</sup></b>	0,93	0,78-1,11	<b>0,42</b>			
<b>Contagem de plaquetas<sup>†</sup></b>	1,00	0,99-1,00	<b>0,61</b>			
<b>% blastos MO*</b>	1,00	0,99-1,00	<b>0,92</b>			
<b>Albumina<sup>†</sup></b>	2,86	1,64-5,26	<b>0,00</b>			
<b>Albumina (&lt;3,8g/dL vs ≥3,8g/dL)</b>	1,85	1,08-3,23	<b>0,03</b>	1,88	1,02-3,57	<b>0,04</b>
<b>FLT3 ITD #</b>	1,36	0,69-2,66	<b>0,38</b>			
<b>NPM1 MUT #</b>	0,55	0,25-1,24	<b>0,15</b>			
<b>PML-RARA - t(15;17) #</b>	0,60	0,25-1,42	<b>0,25</b>			
<b>Mutação bialélica CEBPA #</b>	0,76	0,18-3,21	<b>0,71</b>			
<b>RUNX1-RUNX1T1 - t(8;21) e CBFβ-MYH11- (inv16) #</b>	0,91	0,33-2,55	<b>0,86</b>			
<b>Cariótipo complexo #</b>	2,20	0,98-4,93	<b>0,06</b>			
<b>TCTH alogênico (não vs sim)</b>	2,78	1,23-6,25	<b>0,01</b>			
<b>Risco citogenético</b>						
<b>Risco alto ou intermediário vs baixo</b>	1,98	1,01-3,88	<b>0,04</b>	2,77	1,27-6,04	<b>0,01</b>
<b>Risco alto vs baixo e intermediário</b>	1,50	0,80-2,83	<b>0,20</b>			

\*O aumento nos valores para a variável contínua apresenta um pior prognóstico;

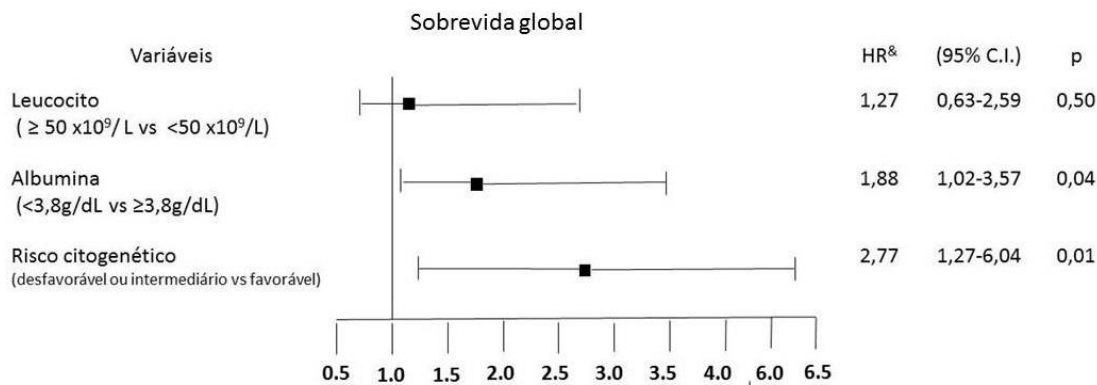
† A diminuição nos valores da variável contínua apresenta um pior prognóstico;

# presente *versus* ausente;

& HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada;

HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada;

Abreviações: HR, Hazard ratio; Vs, *versus*.



**Figura 29. Análise multivariada para sobrevida global em pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa.** O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. <sup>&</sup> HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada, HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada. Abreviações: HR, Hazard ratio; vs, *versus*.

Para o grupo de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa (n=79), as variáveis que apresentaram valores significativos para a sobrevida global através da análise univariada foram a idade, albumina, TCTH alogênico, remissão completa e terapia final de consolidação. A partir das variáveis com significância prognóstica identificadas na análise univariada, foi realizada a análise multivariada. Utilizando a idade como confundidor, observamos que a albumina (Hazard ratio 2,56; IC95%: 1,32-4,95;  $P=0,01$ ), a remissão completa (Hazard ratio 5,18; IC95%: 2,32-11,59;  $P=0,00$ ) e terapia final de consolidação (Hazard ratio 6,80; IC95%: 3,05-15,16;  $P=0,00$ ) foram preditores independentes de sobrevida global. A albumina  $<3,8g/dL$  e a terapia final de consolidação incompleta foram preditores de prognóstico desfavorável. A remissão completa foi preditor independente de bom prognóstico. As variáveis analisadas e resultados da análise de regressão de Cox dos pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa estão apresentados na Tabela 15. A análise multivariada dos pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução está representada na Figura 30.

**Tabela 15. Análises para sobrevida global em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (n=79)**

Variáveis	Univariada			Multivariada		
	HR <sup>&amp;</sup>	(95% C.I.)	p	HR	(95% C.I.)	p
<b>Sexo</b>						
F vs. M	1,27	0,72-2,23	<b>0,39</b>			
<b>Idade *</b>	1,03	1,01-1,06	<b>0,00</b>			
Idade (≥60 vs <60)	1,74	0,95-3,19	<b>0,07</b>	1,06	0,5-2,27	<b>0,86</b>
<b>Leucocito *</b>	1,00	0,99-1,01	<b>0,06</b>			
Leucocito (≥ 50 x10 <sup>9</sup> /L vs <50 x10 <sup>9</sup> /L)	1,39	0,72-2,68	<b>0,31</b>			
Leucocito (≥ 100 x10 <sup>9</sup> /L vs <100 x10 <sup>9</sup> /L)	0,64	0,25-1,63	<b>0,35</b>			
<b>Hemoglobina<sup>†</sup></b>	0,94	0,83-1,08	<b>0,42</b>			
Contagem de plaquetas <sup>†</sup>	0,99	0,99-1,00	<b>0,59</b>			
<b>% blastos MO*</b>	1,00	0,99-1,01	<b>0,65</b>			
<b>Albumina<sup>†</sup></b>	4,32	2,31-8,09	<b>0,00</b>			
Albumina (<3,8g/dL vs ≥3,8g/dL)	2,57	1,43-4,61	<b>0,00</b>	2,56	1,32-4,95	<b>0,01</b>
<b>FLT3 ITD #</b>	1,35	0,69-2,65	<b>0,37</b>			
<b>NPM1 MUT #</b>	0,55	0,25-1,23	<b>0,15</b>			
<b>Mutação bialélica CEBPA #</b>	0,76	0,18-3,21	<b>0,71</b>			
<b>RUNX1-RUNX1T1 - t(8;21) e CBFβ-MYH11 (inv16) #</b>	0,91	0,32-2,54	<b>0,86</b>			
<b>Cariótipo complexo #</b>	2,11	0,93-4,78	<b>0,07</b>			
<b>TCTH alogênico (não vs sim)</b>	3,79	1,69-8,50	<b>0,00</b>			
<b>Remissão (não atingiu remissão vs atingiu remissão)</b>	2,67	1,79-3,99	<b>0,00</b>	5,18	2,32-11,59	<b>0,00</b>
<b>Terapia final de consolidação (incompleto vs completo)</b>	9,43	4,61-19,28	<b>0,00</b>	6,80	3,05-15,16	<b>0,00</b>
<b>Risco citogenético</b>						
<b>Risco alto ou intermediário vs baixo</b>	1,79	0,55-5,84	<b>0,33</b>			
<b>Risco alto vs baixo ou intermediário</b>	1,26	0,65-2,42	<b>0,49</b>			
<b>Risco ELN 2010</b>						
<b>Risco alto ou intermediário vs baixo</b>	1,75	0,77-3,96	<b>0,17</b>			
<b>Risco alto vs baixo ou intermediário</b>	1,17	0,60-2,27	<b>0,63</b>			
<b>Risco ELN 2017</b>						
<b>Risco alto ou intermediário vs baixo</b>	1,56	0,80-3,04	<b>0,18</b>			
<b>Risco alto vs baixo ou intermediário</b>	1,36	0,72-2,54	<b>0,33</b>			
<b>Risco AGR</b>						
<b>Risco alto ou intermediário vs baixo</b>	1,92	0,93-3,97	<b>0,07</b>			
<b>Risco alto vs baixo ou intermediário</b>	1,42	0,80-2,53	<b>0,23</b>			

\*O aumento nos valores para a variável contínua apresenta um pior prognóstico;

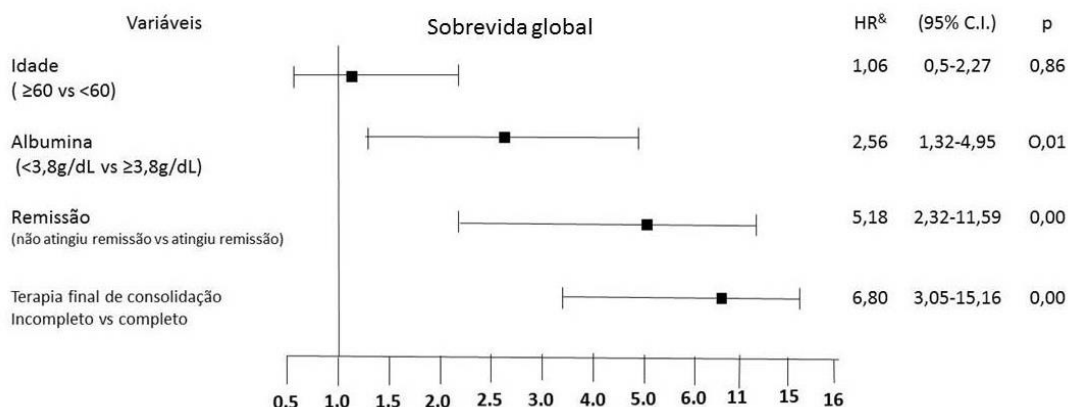
† A diminuição nos valores da variável contínua apresenta um pior prognóstico;

# presente *versus* ausente;

& HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada;

HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada;

Abreviações: HR, Hazard ratio; Vs, *versus*.



**Figura 30. Análise multivariada para sobrevida global em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa.** O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. <sup>&</sup> HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada, HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada. Abreviações: HR, Hazard ratio; vs, *versus*.

Em pacientes que realizaram terapia de indução curativa com cariótipo normal (n=30), as variáveis significativas para a sobrevida global através da análise univariada foram a idade, o leucócito e a albumina. A partir das variáveis com significância prognóstica identificadas na análise univariada, foi realizada a análise multivariada. Utilizando o leucócito como confundidor, observamos que a idade (Hazard ratio 1,06; IC95%: 1,01-1,11;  $P=0,03$ ) e a albumina (Hazard ratio 4,31; IC95%: 2,58-7,90;  $P=0,00$ ) foram preditores independentes de sobrevida global. O aumento nos valores da idade para a variável contínua apresentou um pior prognóstico para a sobrevida global. A diminuição nos valores de albumina para a variável contínua apresentou um pior prognóstico para a sobrevida global. As variáveis analisadas e resultados da análise de regressão de Cox dos pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa com o cariótipo normal estão apresentados na Tabela 16. A análise multivariada dos pacientes que realizaram terapia de indução curativa com o cariótipo normal está representada na Figura 31.

**Tabela 16. Análises para sobrevida global em pacientes com LMA com cariótipo normal que realizaram terapia de indução curativa (n=30)**

Variáveis	Univariada			Multivariada		
	HR <sup>&amp;</sup>	(95% C.I.)	p	HR	(95% C.I.)	p
<b>Sexo</b>						
F vs. M	1,74	0,63-4,86	<b>0,29</b>			
<b>Idade *</b>	1,05	1,00-1,10	<b>0,04</b>	1,06	1,01-1,11	<b>0,03</b>
<b>Idade (≥60 vs &lt;60)</b>	2,62	0,92-7,44	<b>0,07</b>			
<b>Leucocito*</b>	1,00	1,00-1,01	<b>0,02</b>	1,00	0,99-1,01	<b>0,52</b>
<b>Leucocito (≥ 50 x10<sup>9</sup>/L vs &lt;50 x10<sup>9</sup>/L)</b>	2,81	0,99-7,95	<b>0,05</b>			
<b>Leucocito (≥ 100 x10<sup>9</sup> /L vs &lt;100 x10<sup>9</sup> /L)</b>	3,83	1,17-12,57	<b>0,03</b>			
<b>Hemoglobina †</b>	1,05	0,83-1,32	<b>0,69</b>			
<b>Contagem de plaquetas †</b>	1,00	0,99-1,01	<b>0,35</b>			
<b>% blastos MO*</b>	1,00	0,98-1,03	<b>0,56</b>			
<b>Albumina<sup>†</sup></b>	1,53	3,10-7,59	<b>0,00</b>	1,43	2,58-7,90	<b>0,00</b>
<b>Albumina (&lt;3,8g/dL vs ≥3,8g/dL)</b>	3,82	1,29-11,29	<b>0,01</b>			
<b>FLT3 ITD #</b>	2,26	0,84-6,10	<b>0,11</b>			
<b>NPM1 MUT #</b>	0,79	0,25-2,50	<b>0,69</b>			
<b>Mutação bialélica CEBPA #</b>	0,66	0,08-5,22	<b>0,69</b>			
<b>TCTH alogênico (não vs sim)</b>	0,33	0,10-1,33	<b>0,15</b>			

\*O aumento nos valores para a variável contínua apresenta um pior prognóstico;

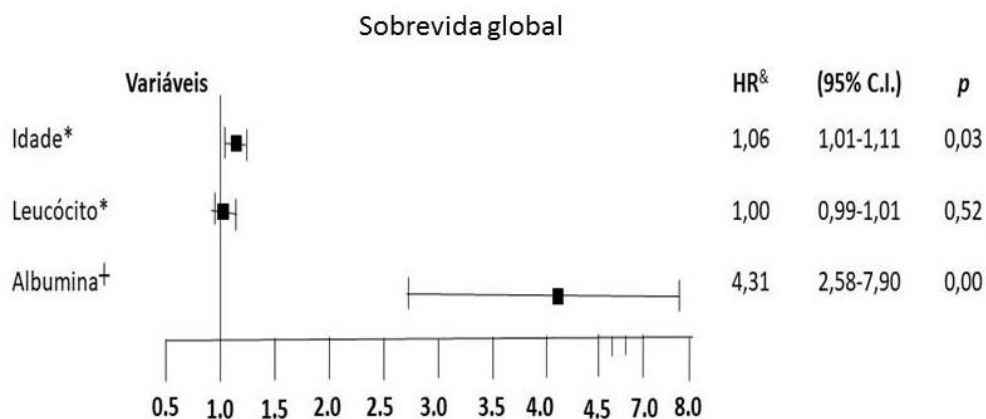
† A diminuição nos valores da variável contínua apresenta um pior prognóstico;

# presente *versus* ausente;

& HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada;

HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada;

Abreviações: HR, Hazard ratio; Vs, *versus*.

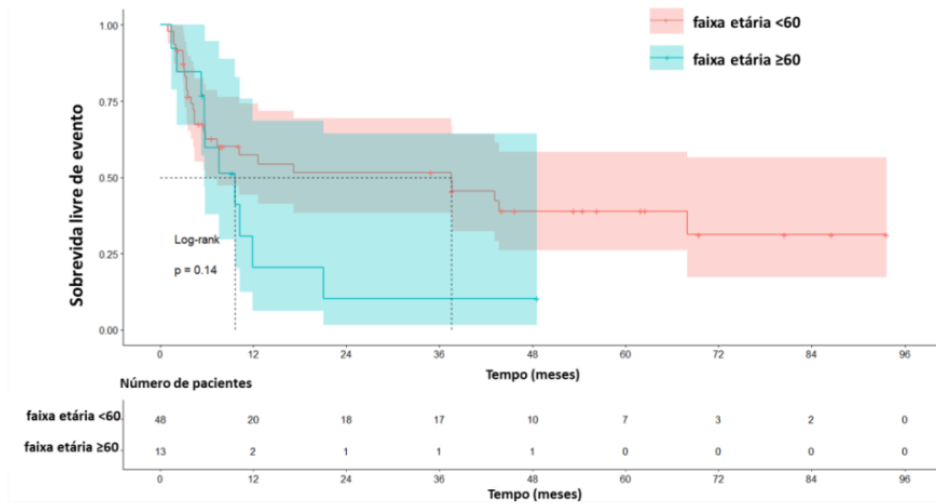


**Figura 31. Análise multivariada para sobrevida global em pacientes com LMA com cariótipo normal que realizaram terapia de indução curativa.** O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. \*O aumento nos valores para a variável contínua apresenta um pior resultado; † A diminuição nos valores da variável contínua apresenta um pior resultado. & HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada, HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada. Abreviações: HR, Hazard ratio.

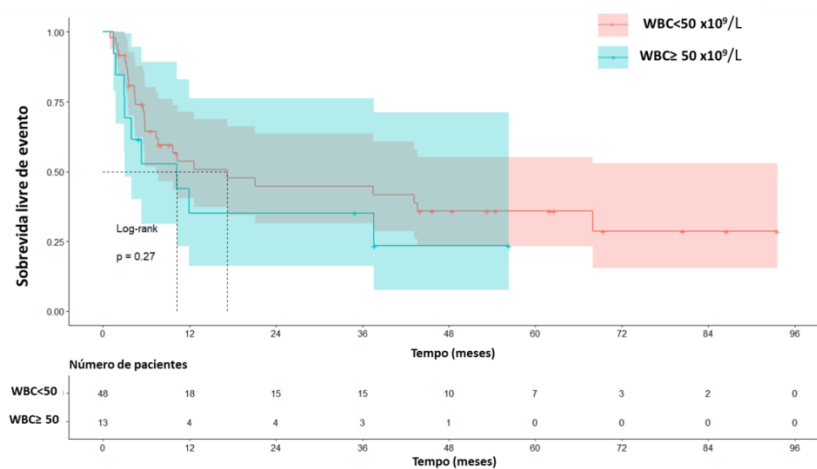
#### 4.5.7 Sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa

Para o grupo de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa, avaliamos o impacto de fatores demográficos e laboratoriais, risco citogenético, estratificação genética e modalidades terapêuticas na sobrevida livre de evento. A sobrevida livre de evento foi calculada como a diferença em meses entre a data da remissão completa e a data da recidiva ou a data da última avaliação, considerando a recidiva ou o óbito como evento. Apenas pacientes que entraram em remissão (n=61) foram considerados na análise de sobrevida livre de evento. Dos pacientes que foram considerados para a análise de sobrevida livre de evento, o evento computado foi recidiva (n=17) e óbito (n=19).

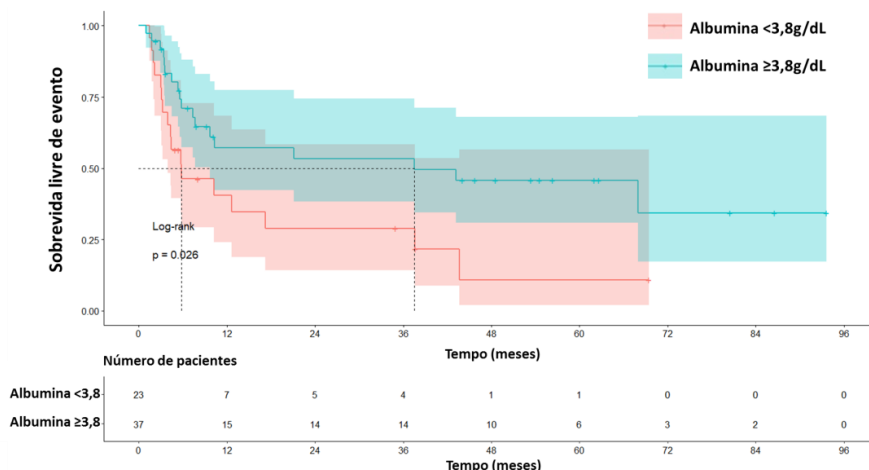
Para o grupo de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa, não foi observado diferença significativa para a sobrevida livre de evento em relação a idade (Figura 32) e leucócito (Figura 33). Pacientes com os valores de albumina <3,8g/dL apresentaram um pior desfecho para a sobrevida livre de evento (Figura 34).



**Figura 32. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com a faixa etária.** Não foi observado diferença significativa em relação a idade para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.



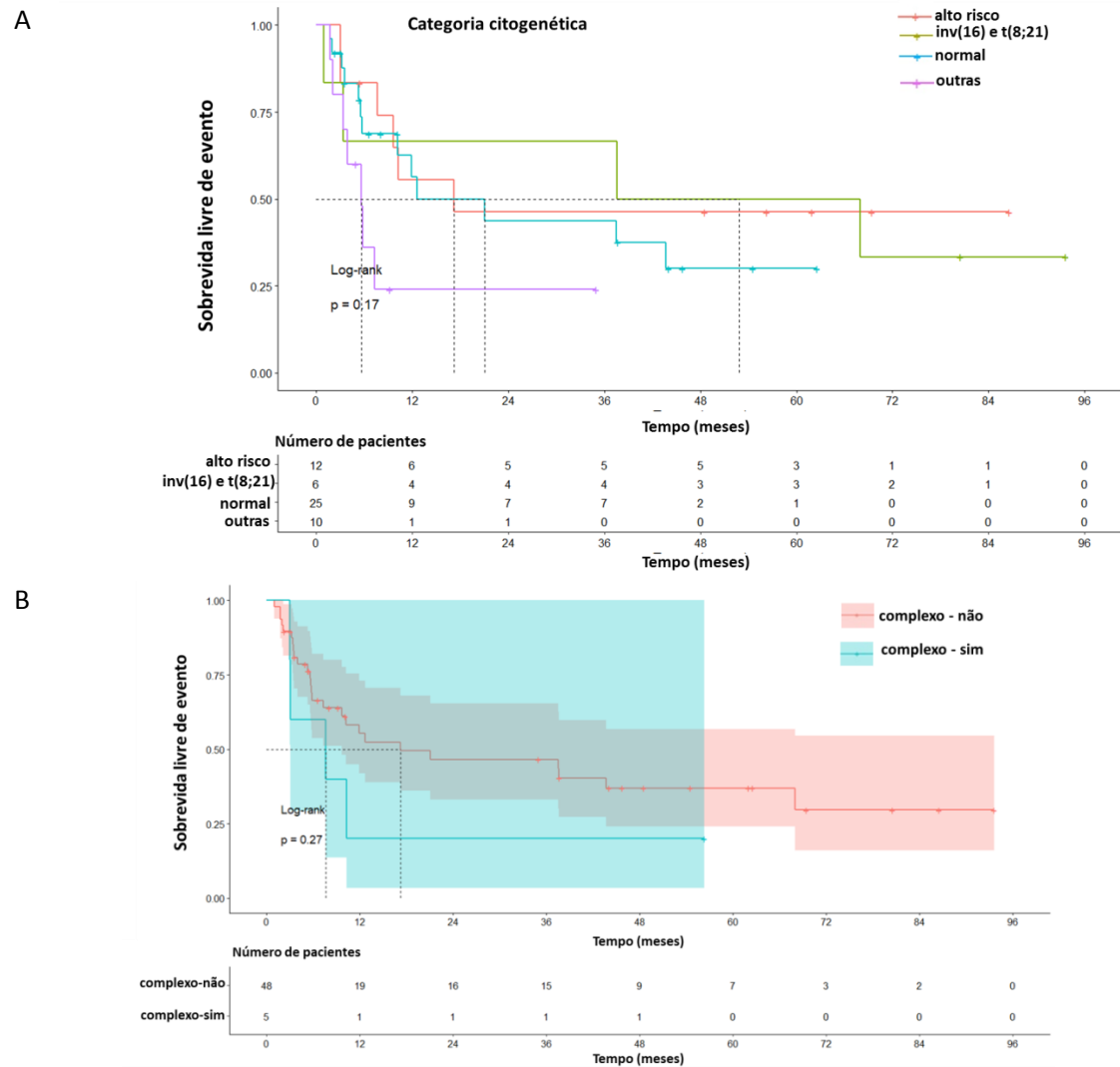
**Figura 33. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o leucócito.** Não foi observado diferença significativa em relação ao leucócito para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.



**Figura 34. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com a albumina.** Pacientes com valores de albumina  $<3,8g/dL$  apresentaram um pior desfecho para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

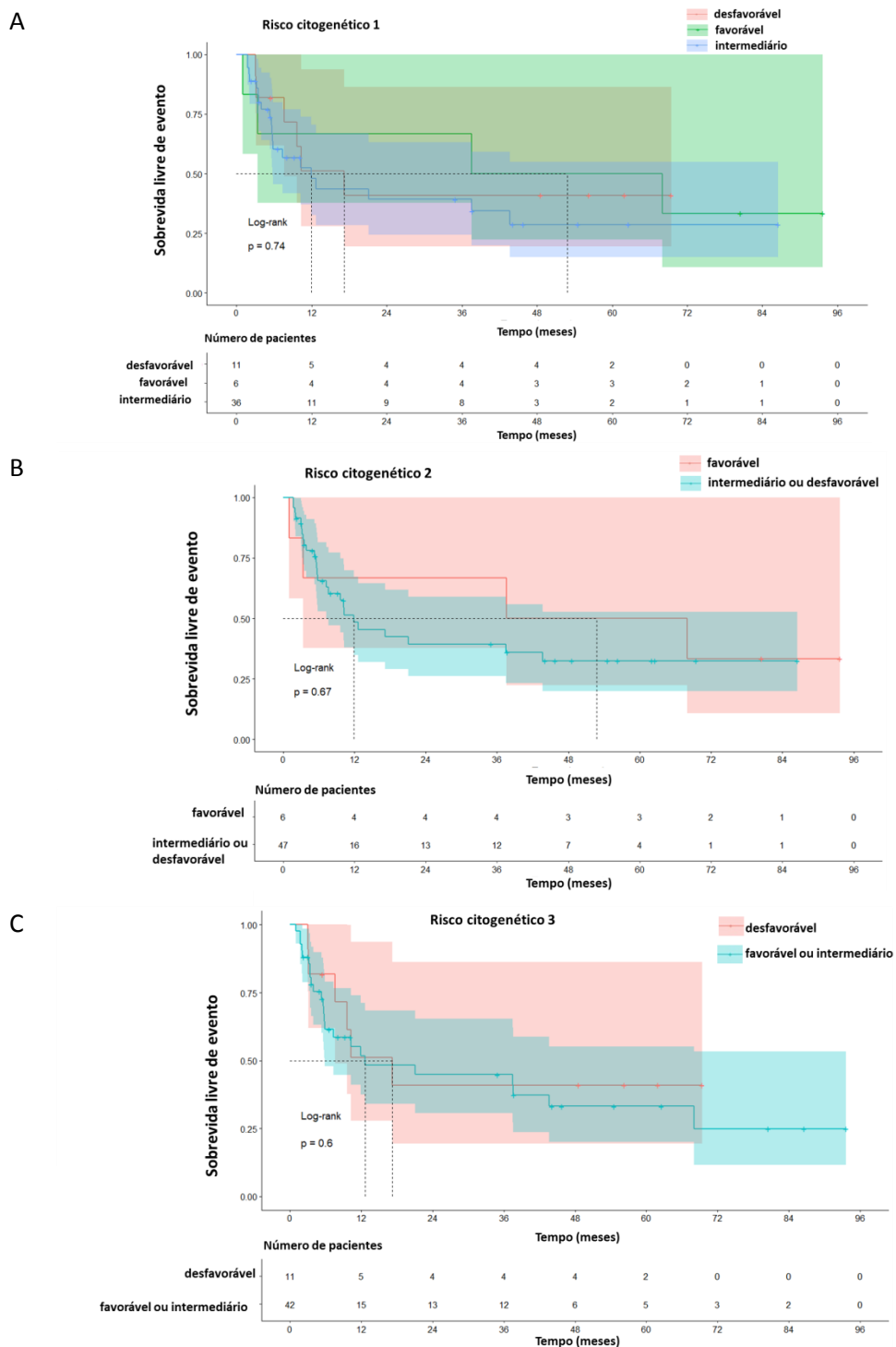
Foi realizada a análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução de acordo com a categoria citogenética e com o risco citogenético (MRC 2010)(D. Grimwade 2010). Para a análise da categoria citogenética, as anormalidades cromossômicas foram distribuídas em quatro grupos: o grupo CBF que inclui a  $t(8;21)$  e  $inv(16)$ , cariótipo normal, outras anormalidades e o grupo que apresenta anormalidades que definem alto risco (cariótipo complexo, cariótipo tetraploide,  $del(5q)$ ,  $del(7q)$ ,  $-7$ , anormalidades em  $17p$ ,  $t(6;9)$  e  $t(9;22)$ ). Foi avaliada a categoria cariótipo complexo *versus* as outras anormalidades. Não foi observado diferença significativa em relação a categoria citogenética (Figura 35 A) e a categoria cariótipo complexo (Figura 35 B) para a sobrevida livre de evento.





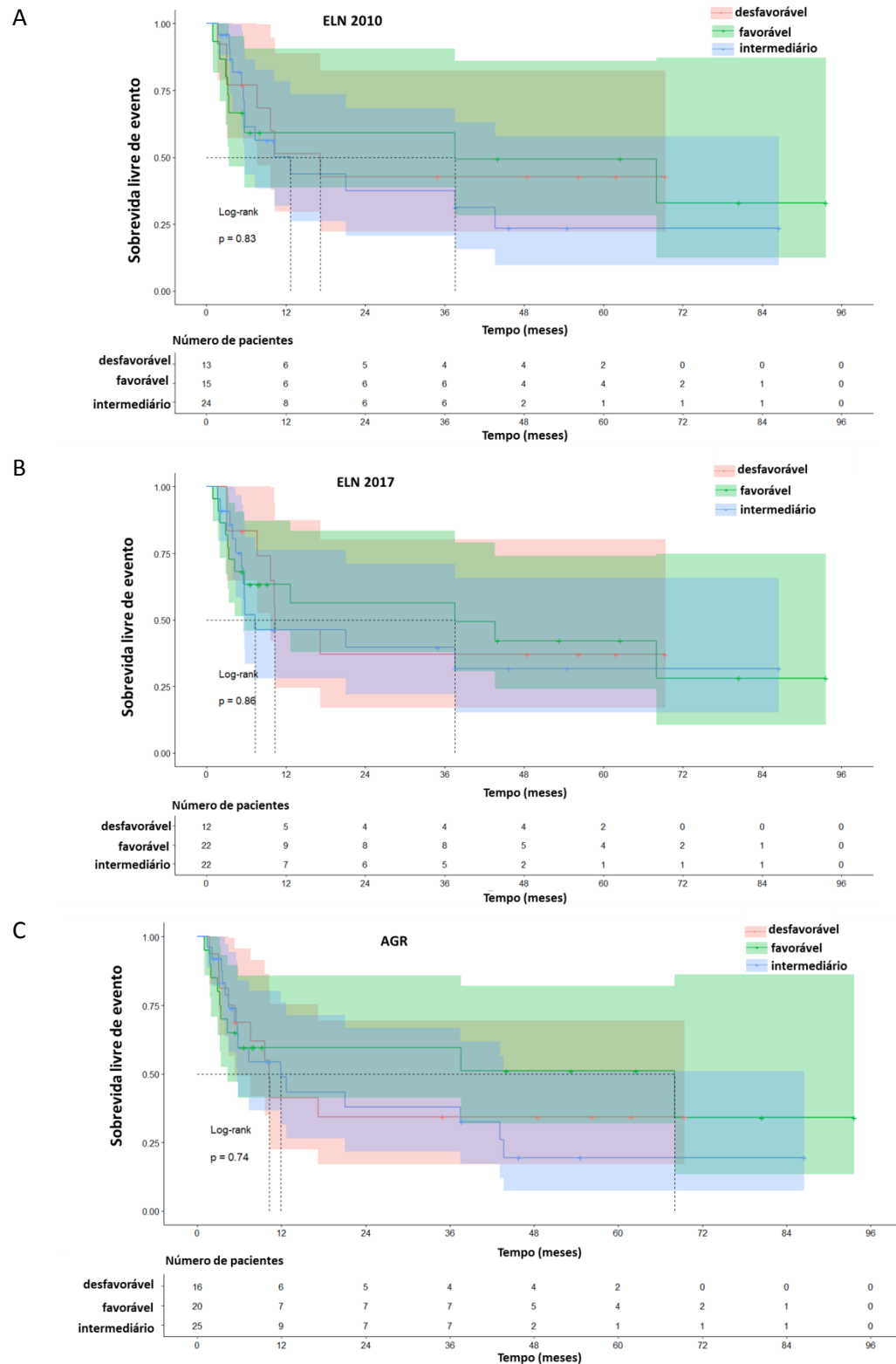
**Figura 35. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com a (A) categoria citogenética e a (B) categoria cariótipo complexo. Não foi observado diferença significativa em relação a categoria citogenética para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.**

A seguir, o risco citogenético foi distribuído de acordo com três grupos de risco, sendo o risco citogenético 1 (grupo de risco favorável *versus* grupo de risco intermediário *versus* grupo de risco desfavorável), o risco citogenético 2 (grupo de risco favorável *versus* outros) e o risco citogenético 3 (grupo de risco desfavorável *versus* outros). Não foi observado diferença significativa quanto ao risco citogenético 1 (Figura 36 A), risco citogenético 2 (Figura 36 B) e risco citogenético 3 (Figura 36 C) em pacientes com LMA não LPA para a sobrevida livre de evento.



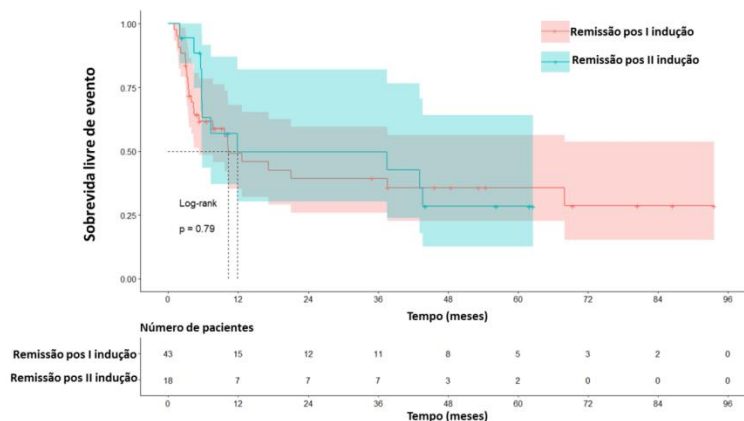
**Figura 36. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o (A) risco citogenético 1(B) risco citogenético 2 e (C) risco citogenético 3. Não foi observado diferença significativa em relação ao risco citogenético para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.**

Foi avaliada a estratificação de risco genético pelo ELN 2010, ELN 2017 (sem considerar mutações RUNX1, ASXL1 e TP53) e AGR para o grupo de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução e não foi observado diferença significativa para a sobrevida livre de evento nos três grupos de risco genético avaliados ( $P>0,05$ ) (Figura 37).



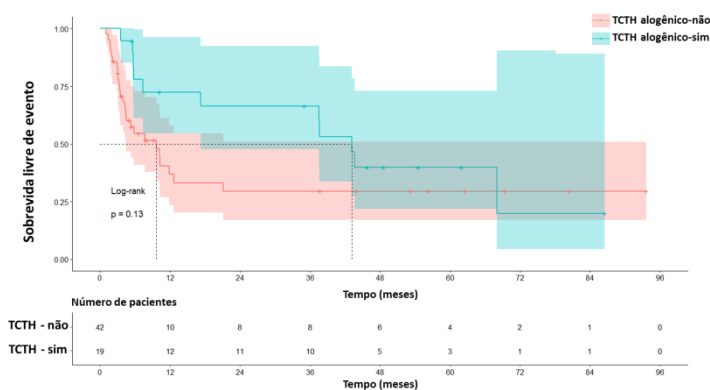
**Figura 37. Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o (A) ELN 2010 (B) ELN 2017 e (C) AGR. Não foi observado diferença significativa em relação ao risco genético para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.**

A sobrevida livre de evento não diferiu entre os pacientes que atingiram remissão pós I indução *versus* remissão pós II indução (Figura 38).



**Figura 38.** Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o tempo para atingir remissão. Não foi observado diferença significativa em relação tempo para atingir remissão para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

Considerando toda a coorte de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa, avaliamos a sobrevida livre de evento entre os pacientes que receberam TCTH alogênico em qualquer fase do tratamento e os pacientes que não receberam TCTH alogênico; não houve diferença significativa na sobrevida livre de evento entre os dois grupos avaliados (Figura 39).



**Figura 39** Análise de sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa de acordo com o TCTH alogênico. Não foi observado diferença significativa em relação ao TCTH alogênico para a sobrevida livre de evento. As curvas de sobrevida foram construídas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank.

#### **4.5.8 Análises univariada e multivariada para sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa**

Ao avaliar a sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA através do modelo proporcional de risco de Cox observamos que a idade, albumina e a terapia final de consolidação apresentaram impacto significativo na análise univariada. A partir das variáveis com significância prognóstica identificadas na análise univariada, foi realizada a análise multivariada. Utilizando a albumina como confundidor, a idade (Hazard ratio 1,04; IC95%: 1,01-1,07;  $P=0,01$ ) e a modalidade final da terapia de consolidação (Hazard ratio 5,20; IC95%: 2,45-11,04;  $P=0,00$ ) foram preditores independentes de sobrevida livre de evento. O aumento nos valores da idade para a variável contínua apresentou um pior prognóstico para a sobrevida livre de evento. A terapia final de consolidação incompleta foi preditor independente de pior prognóstico para a sobrevida livre de evento. As variáveis analisadas e resultados da análise de regressão de Cox dos pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa estão apresentados na Tabela 17. A análise multivariada dos pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução está representada na Figura 40.

Tabela 17. Análises para sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa (n=61)

Variáveis	Univariada			Multivariada		
	HR <sup>&amp;</sup>	(95% C.I.)	p	HR*	(95% C.I.)	p
<b>Sexo</b>						
F vs. M	1,32	0,68-2,55	0,39			
<b>Idade *</b>	1,04	1,02-1,07	0,00	1,04	1,01-1,07	<b>0,01</b>
Idade (≥60 vs <60)	1,59	0,76-3,35	0,21			
<b>Leucocito*</b>	1,00	0,99-1,01	0,69			
Leucocito (≥ 50 x10 <sup>9</sup> /L vs <50 x10 <sup>9</sup> /L)	1,27	0,60-2,71	0,53			
Leucocito (≥ 100 x10 <sup>9</sup> /L vs <100 x10 <sup>9</sup> /L)	1,61	0,56-4,60	0,36			
<b>Hemoglobina<sup>†</sup></b>	0,98	0,85-1,14	0,88			
Contagem de plaquetas <sup>†</sup>	0,99	0,99-1,00	0,48			
<b>% blastos MO*</b>	0,99	0,97-1,00	0,20			
<b>Albumina<sup>†</sup></b>	2,07	0,90-4,73	0,08			
Albumina (<3,8g/dL vs ≥3,8g/dL)	1,96	1,00-3,85	0,04	1,90	0,92-3,89	<b>0,08</b>
<b>FLT3 ITD #</b>	1,24	0,56-2,73	0,59			
<b>NPM1 MUT #</b>	0,59	0,24-1,43	0,25			
<b>Mutação bialélica CEBPA #</b>	0,54	0,73-4,08	0,55			
<b>RUNX1-RUNX1T1 - t(8;21) e CBFβ-MYH11 (inv16) #</b>	1,19	0,42-3,39	0,73			
<b>Cariótipo complexo #</b>	1,59	0,55-4,56	0,39			
<b>TCTH alogênico (não vs sim)</b>	1,44	0,70-2,94	0,32			
<b>Terapia final de consolidação (incompleto vs completo)</b>	6,67	1,40-3,17	0,00	5,20	2,45-11,04	<b>0,00</b>
<b>Risco citogenético</b>						
Risco alto ou intermediário vs baixo	0,88	0,31-2,53	0,81			
Risco alto vs baixo ou intermediário	0,64	0,26-1,58	0,34			
<b>Risco ELN 2010</b>						
Risco alto ou intermediário vs baixo	1,00	0,41-2,13	0,89			
Risco alto vs baixo ou intermediário	0,78	0,33-1,84	0,58			
<b>Risco ELN 2017</b>						
Risco alto ou intermediário vs baixo	1,00	0,48-2,06	0,99			
Risco alto vs baixo ou intermediário	0,82	0,35-1,91	0,65			
<b>Risco AGR</b>						
Risco alto ou intermediário vs baixo	1,17	0,56-2,44	0,65			
Risco alto vs baixo ou intermediário	1,00	0,44-1,89	0,81			

\*O aumento nos valores para a variável contínua apresenta um pior prognóstico;

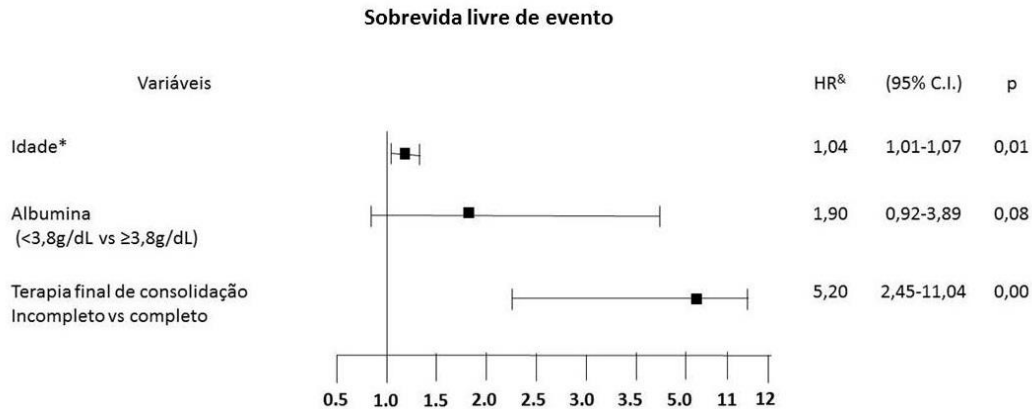
† A diminuição nos valores da variável contínua apresenta um pior prognóstico;

# presente *versus* ausente;

& HR>1 indica pior sobrevida para a primeira variável categórica indicada;

HR<1 indica melhor sobrevida para a primeira variável categórica indicada;

Abreviações: HR, Hazard ratio; Vs, *versus*.



**Figura 40. Análise multivariada para sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa.** O hazard ratio e intervalos de confiança (CI) são indicados com um quadrado preto e uma linha, respectivamente. \*O aumento nos valores para a variável contínua apresenta um pior resultado; O primeiro fator para a variável categórica apresenta um pior resultado; <sup>&</sup> HR>1 indica pior sobrevida. Abreviações: HR, Hazard ratio; Vs, *versus*.

O resumo dos resultados das análises multivariadas de regressão de Cox para sobrevida global e sobrevida livre de evento nos grupos: (i) todos os pacientes com LMA incluídos no estudo, (ii) todos os pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa, (iii) pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa e (iv) pacientes com cariótipo normal que realizaram terapia de indução curativa está ilustrado na Figura 41.



**Figura 41. Imagem representativa de fatores preditivos independentes de prognóstico em pacientes adultos jovens e idosos com LMA.** Os quadros em azul indicam valores de *P* significativos obtidos nas análises multivariadas de regressão de Cox; as variáveis testadas como confundidores em cada grupo são definidas no texto.



# ***DISCUSSÃO***

## 5 DISCUSSÃO

As anormalidades citogenéticas em LMA são marcadores diagnósticos e prognósticos estabelecidos, sugerindo que as anormalidades genéticas adquiridas desempenham um papel essencial na leucemogênese. O cariótipo normal ocorre em aproximadamente 45% dos pacientes com LMA de acordo com a citogenética convencional ao diagnóstico, no entanto, uma mutação somática pode ser identificada em 97,3% dos casos. O sequenciamento de última geração tem permitido a identificação de várias mutações que predizem informações prognósticas (Racevskis et al. 2012).

Em nosso estudo, avaliamos uma coorte de LMA em um centro de referência entre 2014 e 2021. Foi realizado a avaliação de 154 pacientes com LMA  $\geq 18$  anos, incluindo as LPAs. O cariótipo apresentou resultado conclusivo em 137/154 (89%) pacientes, com um resultado normal em 53/137 (39%) pacientes e alterado em 84/137 (61%) pacientes. A análise de citogenética permitiu a definição do diagnóstico de LMA independente da porcentagem de blastos através da t(15;17) em LPA (n=24) e no grupo *core-binding factor (CBF)*, que inclui a t(8;21) (n=2) e a inv(16) (n=8). Além disso, a citogenética permitiu a classificação da LMA pela OMS em 40 pacientes como “LMA com anormalidades genéticas recorrentes”, que incluem LMA com a t(15;17) [24], LMA com a t(8;21) [n=2], LMA com inv(16) [n=8], LMA com t(6;9) [n=1], LMA com a t(9;11) [n=1], LMA com a t(9;22) [n=4] e como “LMA com alterações mielodisplásicas” em 13 pacientes.

Frederick R. Appelbaum e colaboradores (Appelbaum et al. 2006) realizaram uma análise retrospectiva de 968 adultos com LMA e avaliaram 4 grupos de acordo com a idade, sendo <56, 56-65, 66-75 e >75. Foi observado que não houve diferença na distribuição da idade e sexo entre os grupos; houve um aumento significativo na contagem de leucócitos e % de blastos no sangue periférico em pacientes com idade < 56 anos. A análise de citogenética foi realizada em 759 pacientes, onde o grupo de risco desfavorável teve um aumento significativo para pacientes com idade >75 anos (Appelbaum et al. 2006). G Rossi e colaboradores avaliaram 2 grupos de LMA de acordo com a idade, sendo pacientes adultos jovens com idade < 65 anos e pacientes idosos com idade de 65 a 85 anos. Os dois grupos não apresentaram diferença significativa para os índices hematimétricos, no entanto, houve um aumento significativo de anormalidades citogenéticas complexas em pacientes idosos com LMA quando comparados ao grupo de

adultos jovens (Rossi et al. 2000). Em nosso estudo, avaliamos dois grupos de acordo com a idade, sendo um grupo de pacientes adultos jovens <60 anos (n=78) e um grupo de pacientes idosos  $\geq 60$  anos (n=76). Observamos que não houve diferença significativa na distribuição do sexo, nos índices hematiméticos e % de blastos na medula óssea entre os dois grupos. Os valores da albumina foram significativamente menores no grupo de idosos quando comparado ao grupo de adultos jovens. Em relação a citogenética, o grupo de risco favorável definido pelo risco citogenético MRC 2010 (D. Grimwade 2010) foi significativamente menor para o grupo de pacientes idosos  $\geq 60$  anos quando comparado ao grupo de pacientes adultos jovens <60 anos.

As anormalidades citogenéticas definem três grupos de risco (favorável, intermediário e desfavorável) e são consideradas como fator de maior impacto no prognóstico em LMA (D. Grimwade 2010). O refinamento da estratificação do prognóstico dos pacientes com o cariótipo normal é particularmente importante devido ao fato de representarem cerca de 45% dos casos e de sua responsividade à terapia ser heterogênea. No grupo de pacientes LMA com cariótipo normal, o significado prognóstico de mutações em FLT3, NPM1 e CEBPA foi demonstrado de forma consistente (M. Wang et al. 2017). Apesar do progresso na definição de marcadores prognósticos para LMA, há uma heterogeneidade considerável no resultado para pacientes individuais em cada grupo de risco (Racevskis et al. 2012) (M. Wang et al. 2017). Estudos recentes identificaram que mutações somáticas em TET2 (Abdel-Wahab et al. 2009), ASXL (Metzeler et al. 2011), IDH1 ou IDH2 (M. Wang et al. 2017), DNMT3A (Yan et al. 2011) e PHF6 (Van Vlierberghe et al. 2011) apresentaram significado prognóstico em LMA, no entanto, essas mutações ainda não foram validadas para a prática clínica. Além disso, devido ao alto custo, a avaliação das mutações em LMA ainda é limitada em muitos serviços de saúde (Racevskis et al. 2012)(David Grimwade 2012).

Em nosso estudo, realizamos a estratificação de risco das LMAs baseada em quatro grupos de risco de acordo com as limitações de custo em nosso serviço de saúde e de acordo com as mutações disponíveis para a LMA. Avaliamos a estratificação de risco de acordo com o risco citogenético (MRC 2010) (D. Grimwade 2010) baseado na análise do cariótipo (incluindo as LPAs). O MRC 2010 permitiu a classificação de 34/154 (22%) pacientes como risco favorável, 73/154 (47%) como risco intermediário, 30/154 (20%) como risco desfavorável e 17/154 (11%) apresentaram falha na estratificação por apresentarem ausência de metáfases para a análise. A estratificação de risco pelo ELN

2010 (Döhner et al. 2010) foi realizada de acordo com o cariótipo e mutações no NPM1, CEBPA e FLT3-ITD. As mutações em NPM1 e mutações bialélicas em CEBPA definem baixo risco e o FLT3-ITD define risco intermediário na presença do cariótipo normal. O ELN 2010 apresentou 26/130 (20%) pacientes com o risco favorável, 45/130 (35%) com o risco intermediário, 31/130 (24%) com o risco desfavorável e 28/130 (21%) com falha na estratificação. Para a avaliação do risco do ELN 2017 (Döhner et al. 2017) foi avaliado o risco do cariótipo e as mutações disponíveis e realizadas no Laboratório de Hematologia de nossa instituição, sendo mutações em NPM1, mutação bialélica em CEBPA e a avaliação de FLT3-ITD e a respectiva razão alélica. O ELN 2017 permitiu a classificação de 39/130 (30%) pacientes como risco favorável, 39/130 (30%) pacientes como risco intermediário, 32/130 (25%) pacientes como risco desfavorável e 20/130 (15%) pacientes apresentaram falha.

A classificação de risco do AGR (Silveira et al. 2020) foi realizada de acordo com o cariótipo e mutações em NPM1, mutação bialélica em CEBPA e FLT3-ITD e permite a classificação de risco dos pacientes com LMA com ausência de dados citogenéticos ou moleculares. No estudo do AGR foram analisados 167 pacientes da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e duas coortes de teste independentes (145 pacientes da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e 157 pacientes da Universidade de Oxford [Oxford University Hospitals- OUH]) para a validação dos dados. Nota-se que 43 pacientes incluídos na casuística do presente estudo foram também incluídos no estudo do AGR (Silveira et al. 2020). Em nosso estudo, o AGR permitiu classificar 36/130 (28%) pacientes como risco favorável, 52/130 (40%) como risco intermediário, 39/130 (30%) como risco desfavorável e apenas 3/130 (2%) pacientes apresentaram falha na estratificação.

As LPAs foram estratificadas de acordo com a contagem de leucócitos e a contagem de plaquetas, o que permite estratificar os pacientes em três grupos de risco, sendo baixo risco (leucócitos  $\leq 10 \times 10^9/L$  e plaquetas  $>40 \times 10^9/L$ ) risco intermediário (leucócitos  $\leq 10 \times 10^9/L$  e plaquetas  $\leq 40 \times 10^9/L$ ) e alto risco (leucócitos  $>10 \times 10^9/L$ ). Observamos que 7 (29%) pacientes apresentaram risco favorável, 9 (38%) apresentaram risco intermediário e 8 (33%) pacientes apresentaram risco desfavorável.

Os fatores prognósticos relacionados às características do paciente e à sua condição de saúde geral são particularmente relevantes na predição da mortalidade relacionada ao tratamento e torna-se mais importante com o aumento da idade do paciente (David Grimwade 2012). O prognóstico tende a piorar com a idade muitas vezes a

despeito de outros fatores importantes, como a ocorrência simultânea de comorbidades, maior frequência de alterações citogenéticas de alto risco e leucemia secundária. Em nosso estudo, observamos que pacientes idosos  $\geq 60$  anos apresentaram um pior desfecho para sobrevida global para o grupo que inclui todos os pacientes do estudo. A idade foi um preditor independente de prognóstico desfavorável para a sobrevida global no grupo de pacientes com cariótipo normal que realizaram terapia de indução curativa. Além disso, a idade foi preditor independente de pior prognóstico para sobrevida livre de evento em pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa.

Em LMA, em torno de 5 a 20 % dos pacientes apresentam um quadro de hiperleucocitose. A hiperleucocitose, geralmente é definida como  $WBC > 100 \times 10^9 / L$ , no entanto, estudos têm mostrado que níveis de leucócitos abaixo desse valor podem causar complicações relacionadas a hiperleucocitose. O aumento no número de leucócitos pode causar 3 complicações principais: coagulação intravascular disseminada, síndrome de lise tumoral e leucostase. Estudos recentes mostraram que a hiperleucocitose está relacionada com o óbito precoce e é um fator prognóstico independente em LMA (Canaani et al. 2017) (Döhner et al. 2017) (Röllig and Ehninger 2015). Realizamos a avaliação da contagem de leucócitos como variável contínua e de duas variáveis categóricas ( $< vs \geq 50 \times 10^9 / L$  e  $< vs \geq 100 \times 10^9 / L$ ) em pacientes adultos jovens  $< 60$  anos e idosos  $\geq 60$  anos. A contagem de leucócitos como variável contínua e as duas categorias avaliadas apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global no grupo que inclui todos os pacientes do estudo. A contagem de leucócitos  $\geq 50 \times 10^9 / L$  foi preditor independente de prognóstico desfavorável para a sobrevida global em todos os pacientes do estudo. No grupo de pacientes que realizaram terapia de indução curativa, a contagem de leucócitos como variável contínua e categórica ( $< vs \geq 50 \times 10^9 / L$  e  $< vs \geq 100 \times 10^9 / L$ ) apresentou um pior desfecho para a sobrevida global. No grupo de pacientes que realizaram terapia de indução com o cariótipo normal a contagem de leucócitos contínua e categórica ( $< vs \geq 100 \times 10^9 / L$ ) foi preditor de pior desfecho para a sobrevida global.

A albumina é a proteína circulatória mais abundante no organismo e níveis séricos de albumina podem variar de acordo com o grau do catabolismo durante a homeostase normal e na presença de alguma doença. Estudos têm mostrado que a hipoalbuminemia é um preditor independente negativo de morbidade e mortalidade em neoplasias hematológicas, incluindo LMA (Kharfan-Dabaja et al. 2011). Kimberley Doucette e colaboradores realizaram uma análise retrospectiva de 756 pacientes com LMA e observaram que a hipoalbuminemia ( $< 3.5 \text{ g/dL}$ ) apresentou significativamente associada

a uma pior sobrevida global quando comparada a pacientes que apresentaram níveis normais de albumina ( $\geq 3.5\text{g/dL}$ ) (Doucette et al. 2021). Silveira e colaboradores, no estudo do AGR (Silveira et al. 2020), observaram que a albumina ( $< \text{vs} \geq 3,8\text{g/dL}$ ) foi um fator independente para sobrevida global em pacientes com LMA (Silveira et al. 2020). O efeito da hipoalbuminemia na sobrevida pode estar relacionada com sua função de marcador inflamatório e uma medida do estado nutricional. A LMA é uma doença inflamatória e tentativas de incorporar proteínas de fase aguda em modelos preditivos têm sido realizadas (Sorrer et al. 2017)(Buckley et al. 2015). Em nosso estudo, avaliamos a albumina como variável contínua e categórica ( $< \text{vs} \geq 3,8\text{g/dL}$ ). Observamos que a albumina contínua e valores de albumina  $< 3,8\text{g/dL}$  apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global em pacientes adultos jovens  $< 60$  anos e idosos  $\geq 60$  anos nos quatro grupos avaliados para desfecho. A albumina foi um preditor independente de prognóstico desfavorável para a sobrevida global nos pacientes que realizaram terapia de indução curativa, pacientes com LMA não LPA que realizaram terapia de indução curativa e para o grupo que de pacientes com LMA com cariótipo normal que realizou terapia de indução curativa.

As anormalidades cromossômicas adquiridas definidas ao diagnóstico são preditores independentes de remissão completa, sobrevida livre de doença e sobrevida global em LMA. A análise cromossômica é usada para determinar o risco e estratégias de tratamento para os pacientes, incluindo o TCTH alogênico na primeira remissão completa (Bejar et al. 2014) (Döhner et al. 2010). Em nosso estudo, avaliamos a categoria citogenética para o grupo de todos os pacientes do estudo, pacientes que receberam terapia de indução curativa e pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa. Observamos que pacientes com a categoria  $t(15;17)$  apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global quando avaliamos todos os pacientes do estudo. Ao avaliar a categoria cariótipo complexo *versus* as outras anormalidades observamos que pacientes com o cariótipo complexo apresentaram um pior desfecho para a sobrevida global em todos os pacientes do estudo e para os pacientes que receberam terapia de indução curativa. Avaliamos três grupos de risco para a citogenética, sendo risco citogenético 1 (favorável *versus* intermediário *versus* alto), risco citogenético 2 (baixo *versus* outros) e risco citogenético 3 (alto *versus* outros). O risco citogenético apresentou impacto prognóstico no grupo que inclui todos os pacientes do estudo e para os pacientes que realizaram terapia de indução. Ao avaliar os pacientes com LMA cariótipo normal que realizaram terapia de indução curativa, a idade e a albumina foram preditores

independentes de prognóstico desfavorável para a sobrevida global.

Desfechos clínicos de acordo com a estratificação de risco genético (ELN 2010, ELN 2017 e AGR) baseada no cariótipo e mutações FLT3-ITD, mutações em NPM1 e mutações bialélicas em CEBPA foram realizados para o grupo de pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa, mas não apresentaram valores significativos. FLT3-ITD foi detectado em 14/79 (18%) e ausente em 65/79 (82%) pacientes. Para o NPM1, observamos que 58/79 (74%) pacientes apresentaram negativos e 16/79 (20%) pacientes foram positivos para a mutação; 05/79 (6%) pacientes não foram avaliados para a mutação em NPM1. Ao avaliar a mutação bialélica em CEBPA, observamos 45/79 (57%) pacientes negativos, 4/79 (5%) pacientes positivos e 30/79 (38%) pacientes não foram avaliados para a mutação em CEBPA.

Para o tratamento da LMA, a indução de terapia convencional é baseada em citarabina e antraciclina, como a daunorrubicina ou idarrubicina, também conhecida como terapia 3+7. Recentemente, estudos permitiram um melhor entendimento da patogênese de LMA através da descoberta de alterações genéticas adquiridas e a seleção da terapia de precisão tem sido realizada de acordo com a elegibilidade e características específicas de cada paciente. No entanto, esta abordagem depende da disponibilidade de painéis genéticos e de drogas recentemente aprovadas. Em serviços de saúde com recursos limitados, a indução de remissão geralmente é realizada com a terapia convencional, o que expõe os pacientes a longos períodos de neutropenia, risco de infecção e morte durante a fase de indução (Hackl, Astanina, and Wieser 2017) (Tallman, Gilliland, and Rowe 2005) (Mendes et al. 2021). Em nosso estudo, 79 pacientes (59 pacientes adultos jovens <60 anos e 20 pacientes idosos ≥60) com LMA não LPA receberam a terapia de indução curativa convencional. Ao avaliar todos os pacientes do estudo, observamos que pacientes que realizaram a terapia de indução curativa apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global, comparados a quem não recebeu terapia de indução curativa.

O desfecho de pacientes com leucemia promielocítica aguda (LPA) melhorou notavelmente nas últimas duas décadas, devido à introdução do ATRA associado a regimes de quimioterapia e, mais recentemente, ao advento do trióxido de arsênio (ATO). O ATO é um agente eficaz em LPA e, usado sozinho ou em combinação com ATRA ou ATRA e quimioterapia de intensidade reduzida, resulta em maior eficácia com consideravelmente menos toxicidade hematológica. O diagnóstico genético por meio da identificação da translocação t(15,17) e/ou do gene de fusão PML::RARA permanece

obrigatório para a elegibilidade do paciente para o tratamento baseado em ATRA ou ATO (Rego et al. 2013). Em nosso estudo, 24 pacientes com LPA foram tratados com o protocolo do ATRA associado a regimes de quimioterapia, sendo 18 pacientes adultos jovens <60 anos e 6 pacientes idosos  $\geq 60$  anos. Observamos que pacientes com a categoria citogenética t(15;17) apresentaram um melhor desfecho para a sobrevida global ao avaliar o grupo que inclui todos os pacientes do estudo.

O TCTH autólogo é uma opção terapêutica factível como terapia de consolidação em pacientes com LMA. O TCTH autólogo pode substituir a quimioterapia convencional baseada em altas doses de citarabina, mas a escolha entre quimioterapia e TCTH autólogo fica a critério dos centros de referências, a depender da infraestrutura e experiência dos profissionais. Não há definição precisa na literatura sobre qual das opções (quimioterapia ou TCTH autólogo) está associado a melhor prognóstico. As vantagens do TCTH autólogo seria a oferta de terapia mieloablativa e um menor tempo de citopenias. A mobilização de células tronco hematopoiéticas pode ser um fator limitante em alguns pacientes e ser um fator impeditivo para esta modalidade de tratamento (Gimemaaml- et al. 2003)(Zittoun et al. 1995)(Harousseau et al. 1997)(J. Wang et al. 2010).

O TCTH alogênico é uma opção curativa para pacientes com LMA, pois garante uma terapia mieloablativa além de um efeito do enxerto contra a leucemia. O TCTH alogênico com doador HLA compatível é indicado como primeira linha de tratamento, na fase de consolidação, para pacientes com risco genético intermediário e adverso (Cornelissen and Blaise 2016). No entanto, o TCTH alogênico requer infraestrutura específica e equipe multidisciplinar especializada, além de requerer internações prolongadas e ser um procedimento de alto custo (Uyl-de Groot et al. 2001). Complicações do TCTH alogênico incluem toxicidade do condicionamento, falha de enxertia, perda do enxerto, e doença do enxerto versus hospedeiro (Rowe 2009). A disponibilidade de doador para TCTH alogênico com doador HLA idêntico é um fator limitante, mas tem sido superada pela disponibilidade de doador não aparentado HLA compatível viabilizado pelo Registro Nacional de Doadores Voluntários de Medula Óssea (REDOME) no Brasil. O uso de doadores haploidênticos ampliou as opções de doadores para o TCTH alogênico (Rowe 2009). Em um estudo brasileiro apenas 9 dos 196 pacientes (5%) de uma coorte multicêntrica foram submetidos ao TCTH na primeira remissão completa, comparados a 50% em um hospital universitário da França (Bertoli et al. 2017). Em nosso estudo, 20 (13%) pacientes foram submetidos ao TCTH alogênico (13 pacientes realizaram TCTH alogênico aparentado, 01 paciente realizou TCTH



alogênico não aparentado e 06 pacientes realizaram TCTH alogênico haploidêntico), sendo que 15 pacientes receberam TCTH alogênico em primeira remissão e 5 em segunda remissão. Em uma análise inicial, observamos que pacientes submetidos a TCTH alogênico apresentaram uma sobrevida superior comparados aos pacientes que não receberam o TCTH alogênico. Entretanto, consideramos o fato de que o grupo de pacientes que não receberam o TCTH alogênico incluía todos os pacientes que tiveram óbito precoce antes da remissão ou óbito em remissão (relacionado a toxicidade da terapia). Na tentativa de melhor entendermos o impacto do TCTH alogênico como modalidade de consolidação, selecionamos apenas os pacientes que tiveram a oportunidade de receberem uma terapia de consolidação, seja quimioterapia, TCTH autólogo ou TCTH alogênico (HLA compatível ou haploidêntico). Observamos que TCTH autólogo e TCTH alogênico HLA compatível estão relacionados a sobrevida equivalente e superior aos pacientes que receberam TCTH haploidêntico ou quimioterapia. Nota-se que a mortalidade precoce antes da remissão e a mortalidade relacionada a toxicidade da terapia não são desprezíveis na coorte estudada, e avaliações futuras sobre causas de óbito e propostas de intervenção para reduzir a mortalidade precoce e a mortalidade relacionada a terapia são necessárias.

As limitações do presente estudo para as análises de sobrevida devem-se principalmente ao fato de ser um estudo retrospectivo e com número limitado de pacientes incluídos. Estudos prospectivos, randomizados e multicêntricos são necessários para confirmação dos achados aqui descritos. No Brasil, o estudo do Consórcio Internacional de Leucemia Aguda (*International Consortium of Acute Leukemia [ICAL]*), têm como centro de referência o HC FMRP-USP, representa uma iniciativa que foi criada tendo como objetivos, dentre outros, criar um centro de referência para diagnóstico e estratificação de risco molecular e comparar os desfechos de pacientes com LMA de risco baixo ou intermediário tratados na fase 2 de consolidação com citarabina *versus* TCTH autólogo. Entretanto, destacamos a importância da análise da coorte da Instituição do HC FMRP USP, que representa uma oportunidade de reflexão sobre o cenário atual de tratamento dos pacientes com LMA e podem auxiliar em decisões terapêuticas futuras.

# ***CONCLUSÃO***

## 6 CONCLUSÃO

- 1) O exame de citogenética convencional foi conclusivo em 89% dos pacientes e detectou alterações citogenéticas em 61% dos pacientes com LMA do HC FMRP USP;
- 2) O número de pacientes com risco citogenético favorável foi maior em pacientes adultos jovens < 60 anos comparados com pacientes  $\geq 60$  anos em pacientes com LMA;
- 3) Fatores preditivos independente de pior prognóstico para sobrevida global para os pacientes com LMA adultos jovens e idosos variaram de acordo com a coorte estudada:
  - a) Fatores preditivos independentes de pior sobrevida global, considerando todos os pacientes com LMA estudados, foram: leucócitos  $\geq 50 \times 10^9/L$  e risco citogenético;
  - b) Fatores preditivos independentes de pior sobrevida global, considerando os pacientes com LMA que realizaram terapia de indução curativa, foram: albumina <3,8g/dL e risco citogenético;
  - c) Fatores preditivos independentes de pior sobrevida global, considerando pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa foram: albumina <3,8g/dL, remissão completa e terapia final de consolidação;
  - d) Fatores preditivos independentes de pior sobrevida global, considerando pacientes com LMA com cariótipo normal que receberam terapia de indução curativa foram: idade e albumina;
  - e) Fatores preditivos independentes de pior sobrevida livre de evento, considerando pacientes com LMA não LPA que receberam terapia de indução curativa foram: idade e terapia final de consolidação.

Em conclusão, o presente estudo viabilizou a oferta do exame de citogenética convencional para pacientes com LMA do HC FMRP USP, sendo que o exame de citogenética convencional foi conclusivo em 89% dos pacientes e detectou alterações citogenéticas em 61% dos pacientes com LMA. A citogenética convencional permite identificar subgrupos biologicamente distintos de LMA, auxilia na definição das

abordagens terapêuticas e é um preditor independente de sobrevida global em pacientes adultos jovens e idosos com LMA. Fatores demográficos, clínicos e laboratoriais apresentam impacto prognóstico em LMA e podem auxiliar na conduta terapêutica em um centro com recursos limitados.

# ***REFERÊNCIAS***

**REFERÊNCIAS**

- Abdel-Wahab, Omar et al. 2009. “Genetic Characterization of TET1, TET2, and TET3 Alterations in Myeloid Malignancies.” *Blood* 114(1): 144–47.
- Appelbaum, Frederick R. et al. 2006. “Age and Acute Myeloid Leukemia.” *Blood* 107(9): 3481–85.
- Arber, Daniel A. et al. 2016. “The 2016 Revision to the World Health Organization Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia.” *Blood* 127(20): 2391–2405.
- Bejar, R. et al. 2014. “Somatic Mutations Predict Poor Outcome in Patients With Myelodysplastic Syndrome After Hematopoietic Stem-Cell Transplantation.” *Journal of Clinical Oncology* 32(25): 1–9.
- Benicio, Mariana Tereza de Lira et al. 2017. “Evaluation of the European LeukemiaNet Recommendations for Predicting Outcomes of Patients with Acute Myeloid Leukemia Treated in Low- and Middle-Income Countries (LMIC): A Brazilian Experience.” *Leukemia Research* 60(March): 109–14.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2017.07.005>.
- Bertoli, Sarah et al. 2017. “Improved Outcome for AML Patients over the Years 2000–2014.” *Blood Cancer Journal* 7(12): 635.
- Buckley, S A, M Othus, E H Estey, and R B Walter. 2015. “The Treatment-Related Mortality Score Is Associated with Non-Fatal Adverse Events Following Intensive AML Induction Chemotherapy.” *Blood Cancer Journal* 5(1): e276–e276.  
<http://www.nature.com/articles/bcj201497>.
- Canaani, Jonathan et al. 2017. “Long Term Impact of Hyperleukocytosis in Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia Patients Undergoing Allogeneic Stem Cell Transplantation: An Analysis from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT.” *American Journal of Hematology* 92(7): 653–59.
- Cornelissen, Jan J., and Didier Blaise. 2016. “Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with AML in First Complete Remission.” *Blood* 127(1): 62–70.
- Döhner, Hartmut et al. 2010. “Diagnosis and Management of Acute Myeloid Leukemia in Adults: Recommendations from an International Expert Panel, on Behalf of the European LeukemiaNet.” *Blood* 115(3): 453–74.
- . 2017. “Diagnosis and Management of AML in Adults: 2017 ELN Recommendations from an International Expert Panel.” *Blood* 129(4): 424–47.

- <https://ashpublications.org/blood/article/129/4/424/36196/Diagnosis-and-management-of-AML-in-adults-2017-ELN>.
- Doucette, Kimberley et al. 2021. "Hypoalbuminemia as a Prognostic Biomarker for Higher Mortality and Treatment Complications in Acute Myeloid Leukemia." *Hematological Oncology* (July): hon.2925. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hon.2925>.
- Gimemaaml-, Eortc et al. 2003. "Allogeneic Compared with Autologous Stem Cell Transplantation in the Treatment of Patients Younger than 46 Years with Acute Myeloid Leukemia ( AML ) in First Complete Remission ( CR1 ): An Intention-to-Treat Analysis of The." *Blood* 102(4): 1232–40.
- Grimwade, D. 2010. 116 *Blood Refinement of Cytogenetic Classification in Acute Myeloid Leukemia: Determination of Prognostic Significance of Rare Recurring Chromosomal Abnormalities among 5876 Younger Adult Patients Treated in the United Kingdom Medical Research Council Trials*.
- Grimwade, David et al. 1998. "The Importance of Diagnostic Cytogenetics on Outcome in AML: Analysis of 1,612 Patients Entered into the MRC AML 10 Trial." *Blood* 92(7): 2322–33. <http://dx.doi.org/10.1182/blood.V92.7.2322>.
- . 2012. 25 Best Practice and Research: Clinical Haematology *The Changing Paradigm of Prognostic Factors in Acute Myeloid Leukaemia*. Elsevier Ltd. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beha.2012.10.004>.
- Grimwade, David, and Krzysztof Mrózek. 2011. "Diagnostic and Prognostic Value of Cytogenetics in Acute Myeloid Leukemia." *Hematology/Oncology Clinics of North America* 25(6): 1135–61.
- Hackl, Hubert, Ksenia Astanina, and Rotraud Wieser. 2017. "Molecular and Genetic Alterations Associated with Therapy Resistance and Relapse of Acute Myeloid Leukemia." *Journal of Hematology and Oncology* 10(1): 1–16.
- Harousseau, Jean Luc et al. 1997. "Comparison of Autologous Bone Marrow Transplantation and Intensive Chemotherapy as Postremission Therapy in Adult Acute Myeloid Leukemia." *Blood* 90(8): 2978–86.
- Kelly, Louise M., and D. Gary Gilliland. 2002. "Genetics of Myeloid Leukemias." *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 3: 179–98.
- Kharfan-Dabaja, Mohamed A. et al. 2011. "Severe Hypoalbuminemia at Day 90 Predicts Worse Nonrelapse Mortality and Overall Survival after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic

- Syndrome.” *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 17(3): 384–93. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083879110003022>.
- King, Rebecca L. et al. 2011. “A Comparative Analysis of Molecular Genetic and Conventional Cytogenetic Detection of Diagnostically Important Translocations in More than 400 Cases of Acute Leukemia, Highlighting the Frequency of False-Negative Conventional Cytogenetics.” *American Journal of Clinical Pathology* 135(6): 921–28.
- De La Serna, Javier et al. 2008. “Causes and Prognostic Factors of Remission Induction Failure in Patients with Acute Promyelocytic Leukemia Treated with All-Trans Retinoic Acid and Idarubicin.” *Blood* 111(7): 3395–3402.
- Levsky, Jeffrey M., and Robert H. Singer. 2003. “Fluorescence in Situ Hybridization: Past, Present and Future.” *Journal of Cell Science* 116(14): 2833–38.
- McGowan-Jordan, J., Simon, A., Schmid M. 2016. *ISCN 2016. An International System for Human Cytogenomic Nomenclature*.
- Mendes, Fernanda Rodrigues et al. 2021. “Predictive Factors Associated with Induction-Related Death in Acute Myeloid Leukemia in a Resource-Constrained Setting.” *Annals of Hematology* (0123456789): 3–10. <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04687-6>.
- Metzeler, Klaus H. et al. 2011. “ASXL1 Mutations Identify a High-Risk Subgroup of Older Patients with Primary Cytogenetically Normal AML within the ELN Favorable Genetic Category.” *Blood* 118(26): 6920–29.
- Ministério da Saúde. 2018. *Ministério Da Saúde (2018) Estimativas 2018 - Incidência de Câncer No Brasil 2018th Ed. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes Da Silva (INCA) (Ed) Rio de Janeiro*. 2018th ed. ed. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Rio de Janeiro.
- Morrisette, Jennifer J.D., and Adam Bagg. 2011. “Acute Myeloid Leukemia: Conventional Cytogenetics, FISH, and Moleculocentric Methodologies.” *Clinics in Laboratory Medicine* 31(4): 659–86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2011.08.006>.
- Mrózek, Krzysztof, Nyla A. Heerema, and Clara D. Bloomfield. 2004. “Cytogenetics in Acute Leukemia.” *Blood Reviews* 18(2): 115–36.
- Nassereddine, Samah, Coen J. Lap, Faysal Haroun, and Imad Tabbara. 2017. “The Role of Mutant IDH1 and IDH2 Inhibitors in the Treatment of Acute Myeloid Leukemia.” *Annals of Hematology* 96(12): 1983–91.
- Papaemmanuil, Elli et al. 2016. “Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid



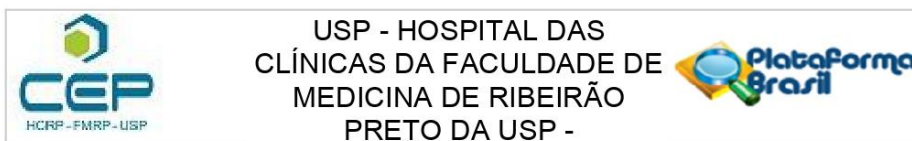
- Leukemia.” *New England Journal of Medicine* 374(23): 2209–21.
- Racevskis, Janis et al. 2012. “Prognostic Relevance of Integrated Genetic Profiling in Acute Myeloid Leukemia.” : 1079–89.
- Rego, Eduardo M. et al. 2013. “Improving Acute Promyelocytic Leukemia (APL) Outcome in Developing Countries through Networking, Results of the International Consortium on APL.” *Blood* 121(11): 1935–43.
- Röllig, Christoph, and Gerhard Ehninger. 2015. “How I Treat Hyperleukocytosis in Acute Myeloid Leukemia.” *Blood* 125(21): 3246–52.  
[https://ashpublications.org/blood/article/125/21/3246/34025/How-I-treat-hyperleukocytosis-in-acute-myeloid.](https://ashpublications.org/blood/article/125/21/3246/34025/How-I-treat-hyperleukocytosis-in-acute-myeloid)
- Rossi, G. et al. 2000. “Cytogenetic Analogy between Myelodysplastic Syndrome and Acute Myeloid Leukemia of Elderly Patients.” *Leukemia* 14(4): 636–41.
- Rowe, Jacob M. 2009. “Optimal Induction and Post-Remission Therapy for AML in First Remission.” *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program*: 396–405.
- Sanz, M. A. et al. 2000. “Definition of Relapse Risk and Role of Nonanthracycline Drugs for Consolidation in Patients with Acute Promyelocytic Leukemia: A Joint Study of the PETHEMA and GIMEMA Cooperative Groups.” *Blood* 96(4): 1247–53.
- Sanz, Miguel A. et al. 2009. “Management of Acute Promyelocytic Leukemia: Recommendations from an Expert Panel on Behalf of the European LeukemiaNet.” *Blood* 113(9): 1875–91.
- Siegel, Rebecca L., Kimberly D. Miller, and Ahmedin Jemal. 2019. “Cancer Statistics, 2019.” *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 69(1): 7–34.
- da Silva, Fernanda Borges et al. 2017. “Acute Myeloid Leukemia with E1a2 BCR-ABL1 Fusion Gene: Two Cases with Peculiar Molecular and Clinical Presentations.” *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 39(4): 379–84.  
[http://dx.doi.org/10.1016/j.bjhh.2017.07.001.](http://dx.doi.org/10.1016/j.bjhh.2017.07.001)
- Silveira, Douglas R.A. et al. 2020. “Integrating Clinical Features with Genetic Factors Enhances Survival Prediction for Adults with Acute Myeloid Leukemia.” *Blood Advances* 4(10): 2339–50.
- Sorrer, Mohamed L. et al. 2017. “Development and Validation of a Novel Acute Myeloid Leukemia–Composite Model to Estimate Risks of Mortality.” *JAMA Oncology* 3(12): 1675.  
[http://oncology.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamaoncol.2017.2714.](http://oncology.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamaoncol.2017.2714)

- Steven Swerdlow, Elias Campo, Nancy Harris. 2017. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Revised 4t. Lyon: IARC.
- Tallman, Martin S., D. Gary Gilliland, and Jacob M. Rowe. 2005. "Drug Therapy for Acute Myeloid Leukemia." *Blood* 106(4): 1154–63.
- Tavor, Sigal et al. 2011. "Predictive Value of TP53 Fluorescence in Situ Hybridization in Cytogenetic Subgroups of Acute Myeloid Leukemia." *Leukemia and Lymphoma* 52(4): 642–47.
- Uyl-de Groot, C.A. et al. 2001. "Costs of Diagnosis, Treatment, and Follow Up of Patients with Acute Myeloid Leukemia in the Netherlands." *Journal of Hematotherapy & Stem Cell Research* 10(1): 187–92.
- Vardiman, James W et al. 2009. 114 *Blood The 2008 Revision of the World Health Organization (WHO) Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia: Rationale and Important Changes*.
- Van Vlierberghe, P. et al. 2011. "PHF6 Mutations in Adult Acute Myeloid Leukemia." *Leukemia* 25(1): 130–34.
- Walter, Roland B. et al. 2013. "Significance of FAB Subclassification of 'Acute Myeloid Leukemia, NOS' in the 2008 WHO Classification: Analysis of 5848 Newly Diagnosed Patients." *Blood* 121(13): 2424–31.
- Wang, Jing et al. 2010. "Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission: A Meta-Analysis of Randomized Trials." *Acta Haematologica* 124(2): 61–71.
- Wang, Mengning, Chuanwei Yang, Le Zhang, and Dale G. Schaar. 2017. "Molecular Mutations and Their Cooccurrences in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia." *Stem Cells International* 2017.
- Yan, Xiao Jing et al. 2011. "Exome Sequencing Identifies Somatic Mutations of DNA Methyltransferase Gene DNMT3A in Acute Monocytic Leukemia." *Nature Genetics* 43(4): 309–17.
- Zittoun, Robert A. et al. 1995. "Autologous or Allogeneic Bone Marrow Transplantation Compared with Intensive Chemotherapy in Acute Myelogenous Leukemia." *New England Journal of Medicine* 332(4): 217–23.

***ANEXOS***

## ANEXOS

## Anexo I. Comprovação do Comitê de Ética do HC FMRP USP



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

## DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação retrospectiva da sobrevida de pacientes com leucemia mieloide aguda em um centro de referência.

**Pesquisador:** Fernanda Borges da Silva

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 51837221.8.0000.5440

**Instituição Proponente:** Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.999.433

**Apresentação do Projeto:**

A leucemia mieloide aguda (LMA) compreende um grupo heterogêneo de doenças clonais da célula tronco hematopoética (CTH) de curso clínico grave. Os principais achados clínicos incluem neutropenia, plaquetopenia e anemia no sangue periférico, bem como do aumento de células mieloides imaturas na medula óssea e sangue. O acúmulo de evidências permitiu uma compreensão ampla a respeito da fisiopatologia da LMA, com destaque às alterações moleculares. Atualmente, esse conhecimento está compilado nas recomendações para diagnóstico e estratificação de risco preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Para além do que já se conhece, uma série de questões inerentes a cada serviço de saúde pode afetar os desfechos esperados, especialmente para países com recursos limitados, uma vez que nestes centros a proposição terapêutica e disponibilidade de ferramentas diagnósticas é dependente de infraestrutura e recursos humanos especializados.

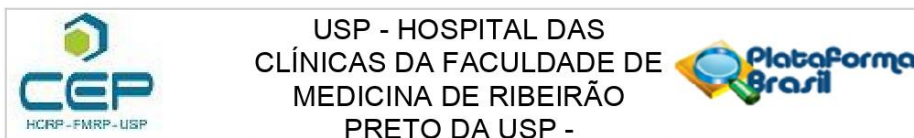
**Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar o impacto prognóstico de fatores demográficos, clínicos, citogenéticos e moleculares nos desfechos clínicos de pacientes com LMA.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: Os riscos ou desconfortos da pesquisa estão relacionados com o risco da quebra do sigilo de alguma informação. Informações sobre dados pessoais, condições de saúde e tratamentos,

**Endereço:** CAMPUS UNIVERSITÁRIO  
**Bairro:** MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900  
**UF:** SP **Município:** RIBEIRAO PRETO  
**Telefone:** (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 4.999.433

serão obtidas do prontuário do paciente. Todos os dados serão usados somente para a realização da pesquisa. Mas, mesmo os pesquisadores se comprometendo a fazer todos os esforços para que as normas éticas sejam seguidas, existe o risco da quebra do sigilo de alguma informação. Afim de minimizar os riscos de quebra de sigilo, apenas a equipe de pesquisa terá acesso ao prontuário médico.

**Benefícios:** O paciente não terá nenhum benefício imediato por participar do estudo. As informações obtidas por este trabalho poderão auxiliar na melhoria do tratamento futuro de LMA.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo observacional analítico, do tipo coorte longitudinal retrospectivo.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Documentos devidamente apresentados. Solicita a dispensa de aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Serão analisados dados já coletados e armazenados no prontuário médico (físico e eletrônico) dos pacientes. As pesquisadora garantem, segundo as normas de Boas Práticas em Pesquisa Clínica, o sigilo e a privacidade dos dados coletados e que os mesmos serão utilizados apenas com os fins de pesquisa e geração de conhecimento.

**Recomendações:**

não se aplica

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa versão 1 data 24/08/2021, assim como a solicitação de dispensa de aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

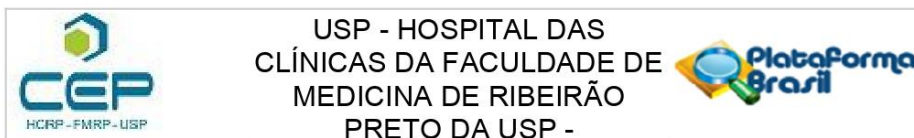
**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

**Endereço:** CAMPUS UNIVERSITÁRIO  
**Bairro:** MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900  
**UF:** SP **Município:** RIBEIRAO PRETO  
**Telefone:** (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 4.999.433

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1826012.pdf	15/09/2021 11:35:02		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_TCLE.pdf	15/09/2021 11:33:52	Fernanda Borges da Silva	Aceito
Orçamento	Documento_UPC.pdf	15/09/2021 11:32:37	Fernanda Borges da Silva	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_LMA_HCFMRPUSP_v1_24082021.pdf	15/09/2021 11:31:44	Fernanda Borges da Silva	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_assinada.pdf	15/09/2021 11:29:37	Fernanda Borges da Silva	Aceito
Orçamento	OrcamentoDetalhado_LMA_HCFMRPUSP_v1_27082021.pdf	14/09/2021 11:49:10	Fernanda Borges da Silva	Aceito
Cronograma	Cronograma_LMA_HCFMRPUSP_v1_27082021.pdf	14/09/2021 11:48:04	Fernanda Borges da Silva	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIBEIRAO PRETO, 27 de Setembro de 2021

Assinado por:  
**MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** CAMPUS UNIVERSITÁRIO  
**Bairro:** MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900  
**UF:** SP **Município:** RIBEIRAO PRETO  
**Telefone:** (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br