

MURILO CHERMONT AZEVEDO

Avaliação retrospectiva dos pacientes portadores de leucemia mielóide aguda tratados no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo entre 1978 e 2007

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Distúrbios do Crescimento Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia

Orientador: Prof. Dr. Pedro Enrique Dorlhiac Llacer

São Paulo

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Azevedo, Murilo Chermont

Avaliação retrospectiva dos pacientes portadores de leucemia mielóide aguda tratados no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo entre 1978 e 2007 / Murilo Chermont Azevedo. -- São Paulo, 2009.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Distúrbios do Crescimento Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia.

Orientador: Pedro Enrique Dorlhiac Llacer.

Descritores: 1.Leucemia mielóide aguda 2.Prognóstico 3.Análise citogenética
4.Citarabina/uso terapêutico 5.Análise de sobrevida

USP/FM/SBD-503/09

DEDICATÓRIA

Ao meu pai; o maior incentivador e exemplo, que através de mim vivencia as poucas realizações que a vida não lhe permitiu.

À minha mãe; pelo maior amor possível de se ter.

À Patrícia Ishak; pelo amor incondicional, cumplicidade e compreensão nos momentos em que estive ausente.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Pedro Enrique Dorlhiac Llacer, Orientador no sentido mais amplo do termo, pela confiança de que sozinho eu pudesse concluir um projeto desta magnitude. Esta tese representa a continuação natural de sua Livre-Docência, defendida em 1995.

Ao Dr. Dalton de Alencar Fischer Chamone, pelo incentivo para a realização deste estudo e pelos valiosos conselhos.

À Silmara e Terezinha, pela amizade, gentileza e auxílio durante estes 4 anos.

À Angélica e Rose, sempre solícitas.

Aos funcionários do Serviço de Arquivo Médico do HCFMUSP, principalmente Clarice, Sandra e Tomé, pela agilidade e colaboração durante a consulta dos mais de 600 prontuários.

Aos amigos do Laboratório de Imunopatologia, Graciela, Carla, Adriano, Dona Lucila, Dra. Juliana Pereira e Dra. Gracia Martinez, pelo apoio e interesse nos meses em que estive conciliando a tese com o aprendizado da Imunofenotipagem.

À Patrícia Ferreira, do Laboratório de Citogenética, pela grande ajuda com os cariótipos.

Ao Dr. Israel Bendit, Dra. Monika Conchon e mais uma vez Dra. Gracia Martinez, pelas considerações feitas e que em muito contribuíram para o resultado final.

A todos os Médicos Assistentes da Hematologia, que desempenharam papel fundamental na minha formação.

A todos que de alguma maneira participaram e que porventura eu tenha esquecido de mencionar aqui.

EPÍGRAFE

"Somente a consciência individual do agente dá testemunho dos atos sem testemunha, e não há ato mais desprovido de testemunha externa do que o ato de conhecer."

(Olavo de Carvalho)

Normatização Adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento da confecção desta tese:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)*

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. de Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª Ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	1
1.1	Introdução	2
1.2	Histórico e Considerações Gerais	3
1.3	Aspectos Epidemiológicos	6
1.4	Etiologia	8
1.4.1	Compostos Químicos e Drogas	9
1.4.2	Tabagismo	10
1.4.3	Radiação Ionizante	11
1.4.4	Fatores Genéticos e Cromossômicos	11
1.4.5	Vírus	12
1.5	Classificação das Leucemias Mielóides Agudas	12
1.6	Preditores de Resposta e Fatores Prognósticos	20
1.6.1	Aspectos Clínicos	20
1.6.2	Aspectos Citogenéticos e Moleculares	22
1.7	Manifestações Clínicas	32
1.8	Diagnóstico Laboratorial	35
1.8.1	Morfologia	35
1.8.2	Imunofenotipagem	36
1.8.3	Citogenética e Biologia Molecular	37
1.9	Tratamento das Leucemias Mielóides Agudas	38
1.9.1	Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas	38
1.9.2	Leucemias Mielóides Agudas em Idosos	43
1.9.3	Leucemias Promielocíticas Agudas	46
2	OBJETIVOS	49
3	MÉTODOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
4	RESULTADOS	60
4.1	Características Clínicas e Demográficas dos Pacientes	61
4.2	Índices	65
4.2.1	Remissão Completa	65
4.2.2	Óbito nos Primeiros 30 Dias da Quimioterapia	67
4.2.3	Recidiva da Doença	69
4.2.4	Refratariedade Primária	69
4.3	Análise Univariada de Sobrevida	70
4.3.1	Todos os Pacientes	70
4.3.2	Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas	74
4.3.3	Leucemias Mielóides Agudas Promielocíticas	78

4.3.4	Idade.....	82
4.3.5	Positividade dos Blastos para Peroxidase.....	86
4.3.6	Prognóstico Citogenético.....	90
4.3.7	Protocolo de Tratamento, todas as Leucemias Mielóides Agudas	94
4.3.8	Protocolo de Tratamento, Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas	100
4.3.9	Protocolo de Tratamento, Leucemias Promielocíticas Agudas, de acordo com o uso de ATRA	106
4.3.10	Classificação FAB	110
4.3.11	Consolidação com Altas Doses de Citarabina.....	116
4.3.12	Origem da Leucemia	122
4.4	Análise Multivariada de Sobrevida	126
4.4.1	Sobrevida Global	126
4.4.2	Sobrevida Livre de Doença	126
4.4.3	Sobrevida Livre de Eventos.....	127
5	DISCUSSÃO	128
5.1	Características Clínicas e Demográficas dos Pacientes	129
5.2	Índices.....	131
5.2.1	Remissão Completa	131
5.2.2	Óbito nos Primeiros 30 Dias da Quimioterapia.....	134
5.2.3	Recidiva da Doença	135
5.2.4	Refratariedade Primária	135
5.3	Análise Univariada de Sobrevida	135
5.3.1	Aspectos Gerais	135
5.3.2	Idade	136
5.3.3	Positividade dos Blastos para Peroxidase.....	137
5.3.4	Prognóstico Citogenético.....	138
5.3.5	Protocolo de Tratamento	138
5.3.6	Protocolo de Tratamento, Leucemias Promielocíticas Agudas, de acordo com o uso de ATRA	139
5.3.7	Classificação FAB	141
5.3.8	Consolidação com Altas Doses de Citarabina.....	141
5.3.9	Origem da Leucemia	143
5.4	Análise Multivariada de Sobrevida	144
5.4.1	Sobrevida Global	144
5.4.2	Sobrevida Livre de Doença	145
5.4.3	Sobrevida Livre de Eventos.....	146
6	CONCLUSÕES	147
7	REFERÊNCIAS	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação FAB das Leucemias Mielóides Agudas	15
Tabela 2 - Classificação WHO das Leucemias Mielóides Agudas ...	19
Tabela 3 - Correlações entre Subtipos Morfológicos de LMA e Translocações Cromossômicas Recorrentes	23
Tabela 4 - Fatores Prognósticos em Leucemias Mielóides Agudas	31
Tabela 5 - Achados cariotípicos em pacientes do HCFMUSP com o diagnóstico de LMA, entre 1996 e 2007	62
Tabela 6 - Características Clínicas e Demográficas dos Pacientes	64
Tabela 7 - Remissão Completa, por Protocolo	65
Tabela 8 - Distribuição da idade, positividade para peroxidase, prognóstico citogenético, protocolo de tratamento, uso de ATRA, classificação FAB e origem dos pacientes, segundo a remissão completa	66
Tabela 9 - Óbito nos Primeiros 30 Dias da QT, por Protocolo	67
Tabela 10 - Distribuição da idade, positividade para peroxidase, prognóstico citogenético, protocolo de tratamento, uso de ATRA, FAB e origem dos pacientes, segundo óbito nos primeiros 30 dias da QT	68
Tabela 11 - Dados de Sobrevida de Todos os Pacientes	70
Tabela 12 - Sobrevida dos Pacientes com Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas	74
Tabela 13 - Sobrevida dos Pacientes com Leucemias Promielocíticas Agudas	78

Tabela 14 - Sobrevida, de Acordo com a Idade.....	82
Tabela 15 - Sobrevida, de Acordo com a Positividade dos Blastos para Peroxidase	86
Tabela 16 - Sobrevida, de Acordo com o Prognóstico Citogenético	90
Tabela 17 - Sobrevida Global, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	94
Tabela 18 - Sobrevida Livre de Doença, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	95
Tabela 19 - Sobrevida Livre de Eventos, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	96
Tabela 20 - Sobrevida Global das LMA Não Promielocíticas, de Acordo com o Protocolo de Tratamento	100
Tabela 21 - Sobrevida Livre de Doença das LMA Não Promielocíticas, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	101
Tabela 22 - Sobrevida Livre de Eventos das LMA Não Promielocíticas, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	102
Tabela 23 - Sobrevida das Leucemias Promielocíticas Agudas, de Acordo com o uso de ATRA.....	106
Tabela 24 - Sobrevida Global, de Acordo com a Classificação FAB	110
Tabela 25 - Sobrevida Livre de Doença de Acordo com a Classificação FAB.....	111
Tabela 26 - Sobrevida Livre de Eventos de Acordo com a Classificação FAB.....	112
Tabela 27 - Sobrevida, de Acordo com a Consolidação com Altas Doses de Citarabina.....	117
Tabela 28 - Sobrevida, de Acordo com a Origem da Leucemia Mielóide Aguda	122

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Incidência de LMA de Acordo com a Idade nos EUA.....	7
Figura 2 -	Sobrevida Global dos Pacientes com Tratamento Curativo.....	71
Figura 3 -	Sobrevida Livre de Doença dos Pacientes com Tratamento Curativo	72
Figura 4 -	Sobrevida Livre de Eventos dos Pacientes com Tratamento Curativo	73
Figura 5 -	Sobrevida Global dos Pacientes com Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas com Tratamento Curativo	75
Figura 6 -	Sobrevida Livre de Doença dos Pacientes com Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas com Tratamento Curativo.....	76
Figura 7 -	Sobrevida Livre de Eventos dos Pacientes com Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas com Tratamento Curativo.....	77
Figura 8 -	Sobrevida Global dos Pacientes com Leucemias Promielocíticas Agudas com Tratamento Curativo.....	79
Figura 9 -	Sobrevida Livre de Doença dos Pacientes com Leucemias Promielocíticas Agudas com Tratamento Curativo.....	80
Figura 10 -	Sobrevida Livre de Eventos dos Pacientes com Leucemias Promielocíticas Agudas com Tratamento Curativo.....	81
Figura 11 -	Sobrevida Global dos Pacientes com Tratamento Curativo, de Acordo com a Idade.....	83

Figura 12 - Sobrevida Livre de Doença dos Pacientes com Tratamento Curativo, de Acordo com a Idade	84
Figura 13 - Sobrevida Livre de Eventos dos Pacientes com Tratamento Curativo, de Acordo com a Idade	85
Figura 14 - Sobrevida Global, de Acordo com os Blastos Positivos para Peroxidase.....	87
Figura 15 - Sobrevida Livre de Doença, de Acordo com os Blastos Positivos para Peroxidase	88
Figura 16 - Sobrevida Livre de Eventos, de Acordo com os Blastos Positivos para Peroxidase.....	89
Figura 17 - Sobrevida Global, de Acordo com o Prognóstico Citogenético	91
Figura 18 - Sobrevida Livre de Doença, de Acordo com o Prognóstico Citogenético	92
Figura 19 - Sobrevida Livre de Eventos, de Acordo com o Prognóstico Citogenético	93
Figura 20 - Sobrevida Global, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	97
Figura 21 - Sobrevida Livre de Doença, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	98
Figura 22 - Sobrevida Livre de Eventos, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	99
Figura 23 - Sobrevida Global dos Casos de Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	103
Figura 24 - Sobrevida Livre de Doença dos Casos de Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	104
Figura 25 - Sobrevida Livre de Eventos dos Casos de Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas, de Acordo com o Protocolo de Tratamento.....	105
Figura 26 - Sobrevida Global das Leucemias Promielocíticas Agudas, de Acordo com o Uso de ATRA.....	107

Figura 27 - Sobrevida Livre de Doença das Leucemias Promielocíticas Agudas, de Acordo com o Uso de ATRA.....	108
Figura 28 - Sobrevida Livre de Eventos das Leucemias Promielocíticas Agudas, de Acordo com o Uso de ATRA.....	109
Figura 29 - Sobrevida Global dos Pacientes com Tratamento Curativo, de Acordo com a Classificação FAB	113
Figura 30 - Sobrevida Livre de Doença dos Pacientes com Tratamento Curativo, de Acordo com a Classificação FAB	114
Figura 31 - Sobrevida Livre de Eventos dos Pacientes com Tratamento Curativo, de Acordo com a Classificação FAB	115
Figura 32 - Sobrevida Global dos Pacientes que Chegaram à Consolidação, de Acordo com as Doses de Citarabina Administradas	119
Figura 33 - Sobrevida Livre de Doença dos Pacientes que Chegaram à Consolidação, de Acordo com as Doses de Citarabina Administradas	120
Figura 34 - Sobrevida Livre de Eventos dos Pacientes que Chegaram à Consolidação, de Acordo com as Doses de Citarabina Administradas	121
Figura 35 - Sobrevida Global, de Acordo com a Origem da Leucemia Mielóide Aguda.....	123
Figura 36 - Sobrevida Livre de Doença, de Acordo com a Origem da Leucemia Mielóide Aguda	124
Figura 37 - Sobrevida Livre de Eventos, de Acordo com a Origem da Leucemia Mielóide Aguda.....	125

RESUMO

Azevedo MC. *Avaliação retrospectiva dos pacientes portadores de leucemia mielóide aguda tratados no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo entre 1978 e 2007* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009. 173 p.

A leucemia mielóide aguda ainda apresenta altos índices de mortalidade em adultos, exceção feita à leucemia promielocítica. A otimização dos protocolos de tratamento tem sido muito discutida há 3 décadas, com resultados ainda insatisfatórios. Fatores prognósticos como idade, cariótipo e tolerância à consolidação com altas doses de citarabina guardam relação com a melhor sobrevida. Com o objetivo de avaliar diferentes protocolos de tratamento e validar estes e outros fatores prognósticos, conduzimos um estudo retrospectivo no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, analisando prontuários médicos e os eventos relacionados à leucemia mielóide aguda, de 1978 a 2007. Analisamos 400 pacientes tratados curativamente e achamos que idade abaixo de 60 anos (27% vs 7%), cariótipo favorável (53% vs 28% vs 5%) e administração de doses totais de citarabina, principalmente se acima da mediana de 45,45 gramas (68% vs 44% vs 21%) tem impacto positivo na sobrevida global em 5 anos, sendo o uso de altas doses de citarabina um fator independente. A positividade para mieloperoxidase, classificação FAB e protocolo de tratamento não mostraram associação estatisticamente significativa para melhores índices de sobrevida. Pudemos concluir que, se os protocolos de indução não apresentam diferenças estatísticas, a consolidação intensiva com altas doses de citarabina em pacientes abaixo de 60 anos tem impacto independente na sobrevida global, com resultados ainda melhores quando a dose total é maior ou igual a 45,45 gramas. O cariótipo também foi validado em nossa população.

Descritores: 1 leucemia mielóide aguda 2 prognóstico 3 análise citogenética 4 citarabina/uso terapêutico 5 análise de sobrevida

SUMMARY

Azevedo MC. Retrospective evaluation of acute myeloid leukemia patients treated in University of Sao Paulo General Hospital between 1978 and 2007 [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2009. 173 p.

Acute myeloid leukemia in adults is still a highly fatal disease, except for acute promyelocytic leukemia. The optimization of treatment protocols has been debated for three decades, without satisfactory results. Prognostic factors like age, karyotype and consolidation with cytarabine in high dosis seem to correlact with a better overall survival. We conducted a retrospective study in the General Hospital of University of Sao Paulo analyzing medical records and acute myeloid leukemia outcomes to compare different treatment protocols used through 1978 to 2007. We also intended to validate international prognostic factors as the ones cited in our population. We analyzed 400 patients treated with curative intention and found better overall survival in 5 years regarding age less than 60 years (27% vs 7%), favorable karyotipe (53% vs 28% vs 5%) and high dosis cytarabine in consolidation, meanly if total dose was at least the median of 45,45 g (68% vs 44% vs 21%). Consolidation with high dosis cytarabine was an independent predictor of better overall survival. No estatistical differences were seen regarding myeloperoxidase positivity, induction protocol and FAB classification. We concluded that, if the induction protocols seem to be no different in results, consolidation with high dosis cytarabine for patients under 60 years has impact in overall survival, being even better when the total dosis is at least 45,45 g. Karyotipe has also been validated in our study population.

Descriptors: 1 acute myeloid leukemia 2 prognosis 3 cytogenetic analysis 4 cytarabine/therapeutic use 5 survivor analysis

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1 INTRODUÇÃO

A curiosidade em conhecer os números reais, os eventos e desdobramentos envolvendo pacientes com leucemia mielóide aguda (LMA), levou à realização deste estudo. Mas não apenas os dados internacionais, amplamente disponíveis na literatura. O que fascinava na idéia era identificar o perfil dos pacientes diagnosticados e tratados em uma instituição como o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), na qual a esmagadora maioria representa classes sociais menos favorecidas, com todas as condições adversas aí implicadas. Tentar obter um retrato fiel do que é possível de ser alcançado com uma estrutura subsidiada basicamente por recursos públicos, diante de uma moléstia com altos índices de mortalidade até mesmo em locais que não possuem limitações de qualquer espécie. A necessidade em se confirmar ou não impressões advindas da experiência, em submetê-las à frieza da análise baseada em evidências, trouxe-nos até aqui. Precisávamos de uma casuística que refletisse a nossa realidade.

Como seriam as estatísticas da enorme gama de pacientes com o diagnóstico de LMA que procuraram tratamento no HCFMUSP, em um período aproximado de 30 anos? Haveria diferenças significativas em relação à literatura internacional? E, nesta população em particular, poderiam ser constatados melhores resultados com as mudanças no tratamento ocorridas ao longo destes anos? As maiores doses de antraciclina e citarabina na indução teriam mostrado vantagens? E os ciclos de citarabina com altas doses na consolidação? As perguntas brotavam em solo fértil.

Para responder a estas e outras questões, foram analisados retrospectivamente todos os casos de LMA diagnosticados e tratados no HCFMUSP, no período de 1978 a 2007. Não constam nesta lista pacientes tratados em outros serviços e enviados ao HCFMUSP apenas e tão somente para transplante de medula óssea (TMO), cujos resultados merecem ser alvo de estudo específico.

O objetivo inicial do estudo foi comparar os protocolos de tratamento para LMA utilizados na instituição neste período, através das respectivas curvas de sobrevida global, e avaliar se houve melhora com as modificações de drogas e/ou doses implementadas ao longo deste intervalo de tempo.

Outros objetivos foram analisar variáveis de resposta ao tratamento, tais quais remissão completa, taxa de morte nos primeiros 30 dias da quimioterapia, sobrevida livre de doença, sobrevida livre de eventos, índices de recidiva e refratariedade. Ainda, variáveis que permitam conhecer o perfil do portador de LMA no HCFMUSP, como idade, sexo, classificação Franco-Americana-Britânica (FAB), leucemia primária ou secundária, protocolo de tratamento utilizado, alterações citogenéticas mais frequentes e percentual de blastos leucêmicos após coloração citoquímica com peroxidase no aspirado medular.

As respostas encontradas após esta extensa análise darão origem, sem dúvida, a várias outras perguntas. Felizmente. E estas, esperamos, a vários outros estudos. Assim caminha a ciência.

1.2 HISTÓRICO E CONSIDERAÇÕES GERAIS

As leucemias agudas são um grupo heterogêneo de doenças malignas do sistema hematopoético nas quais ocorre uma parada da diferenciação e proliferação clonal da célula-tronco progenitora (*stem cell* pluripotente), ou de células progenitoras linfóides ou ainda mielóides. Este acúmulo de

células imaturas na medula óssea resulta em prejuízo ao crescimento e à maturação dos elementos normais da hematopoese necessários à sobrevivência (Ferrara, 2004). Assim, surgem infecções devido à neutropenia, sangramentos são facilitados pela trombocitopenia e sintomas variados decorrentes da anemia. Pode-se dividir as leucemias agudas em basicamente dois grupos: mielóide (ou mielocítica) e linfóide (ou linfocítica). Ocasionalmente, pode haver leucemia com expressão de antígenos de ambas as linhagens, ou mesmo que manifeste-se como duas populações clonais distintas. As células malignas da leucemia mielóide aguda (LMA) são, em geral, de linhagem granulocítica, embora por vezes haja predomínio de blastos eritróides ou megacariocíticos (Russel, 1997; Béné et al., 1999; Lowenberg et al., 1999a; Schumacher et al., 2002; Kolitz, 2008).

A primeira descrição de leucemia é atribuída a Velpeau, em 1827, ao relatar um caso de um florista que “havia entregue a si mesmo ao abuso de álcool e mulheres sem que, contudo, tenha tornado-se sífilítico.” Seu sangue era espesso “como mingau . . . lembrando em consistência e cor a espuma do vinho tinto . . . tal qual pus misturado à uma substância enegrecida ao invés de sangue.” Casos semelhantes foram relatados por Barth e Craigie, que mandaram suas observações a patologistas treinados em microscopia. O primeiro à Alfred Donné, o fundador da microscopia clínica francesa, e o último à John H. Bennet, que havia estudado com Donné.

Apesar destes relatos preliminares, quem primeiramente reconheceu a leucemia como uma entidade clínica específica foi o patologista alemão Rudolf Virchow, em 1845. Sua primeira publicação foi praticamente simultânea à de Craigie e Bennet. Virchow cunhou o termo “sangue branco” (*weisses blut*) ao observar, em uma necrópsia, uma baixa relação de glóbulos vermelhos em relação aos leucócitos. A exemplo dos casos prévios, Virchow referiu que o paciente apresentava febre, exaustão, distensão abdominal, edema e sangramento, que haviam-no levado à morte. A necrópsia revelou esplenomegalia, cálculos de ácido úrico e “sangue branco e viscoso, como pus.” Em 1847, ele próprio usou o termo “leucemia” pela primeira vez.

Friedreich reconheceu as formas agudas e crônicas em 1857, e Neumann, em 1868, identificou a medula óssea como sendo o local de origem da doença. Oito anos mais tarde, Mosler iniciou a punção de medula óssea como método diagnóstico. O mérito da descoberta das diferentes linhagens de células foi concedido a Naegli, no início do século XX, que as denominou mieloblasto e linfoblasto. Ainda neste período, Erhlich usou a morfologia sob coloração de anilina para diagnosticar e classificar as leucemias (Piller, 2001).

Durante a primeira metade daquele século, a base para a classificação já era a microscopia óptica e a coloração citoquímica. Reschad e Schilling descreveram a leucemia monoblástica aguda em 1913; DiGugliemo relatou a eritroleucemia em 1917; Von Boros e Karenyi a leucemia megacarocítica em 1931; e Hilstad, a leucemia promielocítica em 1957. Esta abordagem basicamente morfológica culminou na famosa classificação Franco – Americo – Britânica (FAB), em 1976 (Bennet et al.). Modificações foram introduzidas posteriormente, na medida em que novas morfologias de células blásticas foram reconhecidas, incluindo a mínima diferenciação com expressão de antígenos mielóides por Lee et al em 1987.

A presença de número excessivo de blastos no sangue periférico ou na medula óssea permite o diagnóstico da doença. Classicamente, esperava-se encontrar percentual de blastos na medula óssea de pelo menos 30% das células nucleadas, para que fosse diagnosticada uma leucemia aguda. Entretanto, a classificação FAB tornou-se insuficiente por alguns aspectos. Permite a variabilidade entre observadores, falha ao não incorporar os dados citogenéticos e moleculares obtidos ao diagnóstico e apresenta correlação indefinida com o prognóstico clínico.

Ao longo das últimas décadas, avanços significativos ocorridos no campo da imunologia, citogenética e biologia molecular permitiram que o diagnóstico das leucemias agudas fosse cada vez mais preciso, bem como traçaram importantes implicações prognósticas. Isto propiciou um planejamento terapêutico cada vez mais individualizado, lançando mão,

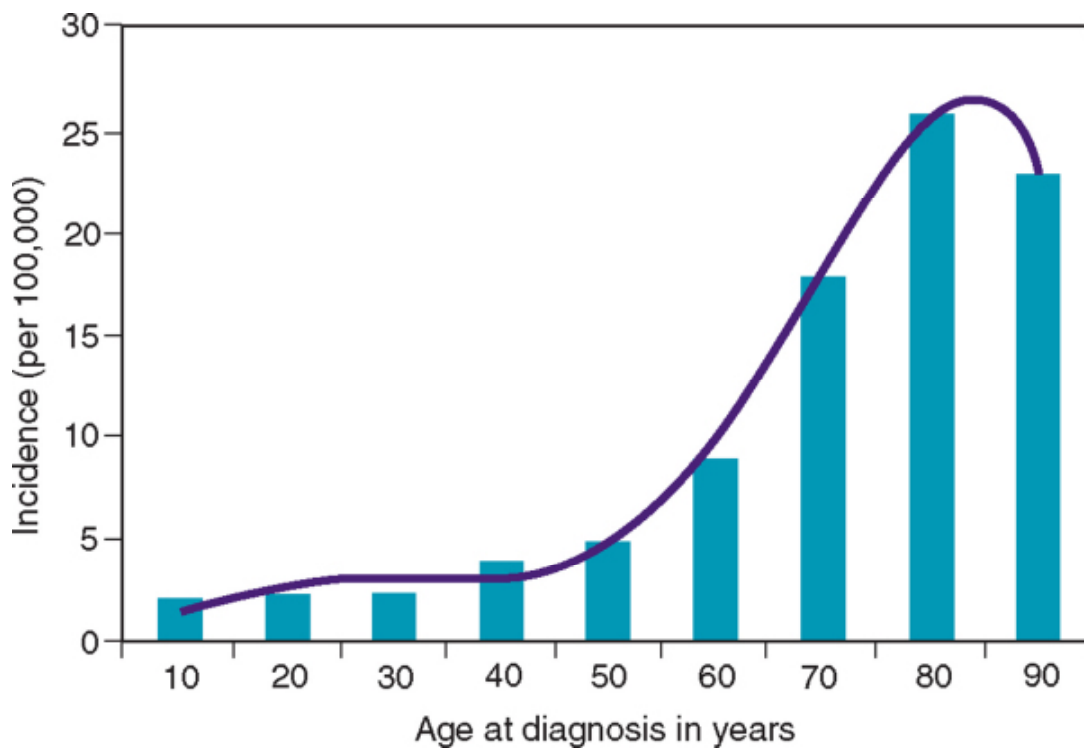
sempre que necessário do transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH).

1.3 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

As leucemias constituem aproximadamente 2,9% de todos os diagnósticos de câncer no mundo (Parkin et al., 1999). No que diz respeito à LMA, esta representa apenas 15 a 20 % das leucemias agudas na infância, faixa etária em que a leucemia linfóide aguda (LLA) é amplamente mais prevalente. Registre-se que, paradoxalmente, a leucemia aguda congênita é via de regra mielóide. Porém, a LMA tem sua prevalência aumentada conforme a idade, sendo responsável por 25 a 30% das leucemias agudas ocorridas entre 10 e 15 anos de idade e atingindo 80 a 90% das leucemias agudas em adultos acima de 45 anos. Tem uma mediana de 68 anos. Após os 60 anos, além da maior incidência, costuma apresentar pior prognóstico (Sandler et al., 1997a; Diller et al., 1998; Willman, 1999; Ries et al., 2002).

A incidência anual estimada de LMA é de 3.4/100.000/ano, que corresponde a aproximadamente 8.000 novos casos anuais (Jemal et al., 2002). Esta incidência tem se mantido estável, e é menor que 1/100.000/ano para pessoas abaixo de 30 anos, mas chega a alcançar 17/100.000/ano aos 75 anos.

A figura 1, a seguir, ilustra a incidência de acordo com a idade, nos Estados Unidos.



(from Hoffman: Hematology: Basic Principles and Practice, p. 1658, W.B. Saunders, 2008).

Figura 1 - Incidência de LMA de acordo com a idade nos EUA

A LMA representa cerca de 1,2% das causas de morte por câncer nos Estados Unidos (Jemal et al, 2006). Parece haver alguma predileção pelo sexo masculino, e é mais observada em indivíduos de raça branca do que em afro-descendentes. As taxas de incidência de LMA são também maiores em países desenvolvidos e em cidades industrializadas (Hernandez et al., 1995; Sandler et al., 1997a).

1.4 ETIOLOGIA

A maioria dos casos de LMA é esporádica, onde não é possível a identificação de uma causa. A doença tem como característica a aquisição de mutações somáticas nos progenitores hematopoéticos que conferem vantagens proliferativas e/ou de sobrevivência às células leucêmicas, além de bloquear sua diferenciação. Portanto, se a causa exata permanece desconhecida, sabe-se que o dano ao DNA da célula progenitora hematopoética é um evento chave para o surgimento da LMA.

Contudo, a análise de casos relacionados à exposição a agentes ambientais, como quimioterápicos e radiação ionizante, além de raras ocasiões em que a LMA é atribuída à herança genética, auxiliaram sobremaneira no estudo da etiologia. Assim, fatores ambientais, ocupacionais e genéticos podem contribuir para que a doença se desenvolva (Linnet, 1985; Sandler et al., 1997a; Linnet et al., 2002).

Entre os fatores de risco conhecidos, estão:

Compostos químicos

- Benzeno
- Diesel (?)
- Tolueno
- Pesticidas (particularmente inseticidas)

Drogas

- Melphalan
- Clorambucil
- Ciclofosfamida
- Antraciclinas
- Actinomicina
- Epipodofilotoxinas
- Fenilbutazona
- Sulfinpirazona

Tabagismo

Radiação Ionizante

Fatores genéticos e cromossômicos

- Síndrome de Down
- Síndrome de Klinefelter
- Defeitos nas enzimas de reparação do DNA
- Anemia de Fanconi
- Xeroderma pigmentoso
- Síndrome de Cockayne variante XP
- Ataxia telangiectasia
- Síndrome de Bloom
- Neurofibromatose

Vírus

- Epstein-Barr (EBV)

Na prática clínica, distingue-se a LMA *de novo* ou primária, quando não há fator de risco conhecido para que a doença tenha sido desencadeada, e a LMA secundária, que ocorre após exposição do paciente a agentes leucemogênicos. Nesta categoria enquadram-se ainda os casos de LMA que surgem após condição predisponente, como portadores de síndromes mielodisplásicas (SMD), mieloproliferativas (SMP) ou doenças hereditárias. A LMA secundária costuma ter pior prognóstico, pelas alterações citogenéticas comumente observadas (Lowenberg et al., 1999b; Heaney et al., 1999).

1.4.1 Compostos químicos e drogas

Está bem estabelecido que certos componentes químicos e drogas têm potencial leucemogênico. O benzeno e seu congênere tolueno são classicamente associados a diversos casos de LMA em trabalhadores expostos. No campo profissional, merecem atenção aqueles envolvidos com a indústria de calçados de couro, petroquímica e da borracha. O benzeno pode ser absorvido pela pele ou pulmões e fica armazenado em tecidos gordurosos e nervosos. A toxicidade é proporcional à dose acumulada (Aksoy, 1985; Rinsky et al., 1987; Yin et al., 1987; Greer et al., 2004). Sugeriu-se também um risco aumentado para operários expostos ao diesel, o que não foi comprovado (Boffetta, 2004).

Alguns quimioterápicos podem facilitar o surgimento da doença por induzir quebras na fita de DNA, resultando em mutações pontuais, deleções genômicas ou translocações cromossômicas associadas a transformações em progenitores hematopoéticos (Levine et al., 1992). As drogas mais frequentemente implicadas à LMA são os agentes alquilantes (melphalan, ciclofosfamida, clorambucil), procarbazina e nitrosuréias (Walpole, 1958; Pedersen-Bjergaard, 1991; Karp et al., 1997). Mais recentemente, um subtipo distinto de leucemia secundária foi descrito, após exposição a inibidores da topoisomerase II (antracíclicos, actinomicina e epipodofilotoxinas). A LMA relacionada à terapia, classicamente associada aos alquilantes, tem por hábito apresentar uma fase inicial mielodisplásica, que progride para displasia trilinear ao diagnóstico. As alterações citogenéticas mais comumente vistas são monossomia do cromossomo 7, deleção de parte do braço longo deste cromossomo, trissomia do 8 ou deleção de parte do braço longo do 5 (Karp et al., 2000). Já a LMA relacionada aos inibidores da topoisomerase II caracteriza-se por um intervalo menor entre a terapia com a droga e o surgimento da LMA, muitas vezes sem as alterações displásicas das 3 linhagens (Albain et al., 1990). Característicos são os rearranjos envolvendo o cromossomo 11, como a translocação 9;11, e ainda a translocação 8;21 (Pui et al., 2000). Outra droga incriminada com alguma frequência é a fenilbutazona e seus derivados, como a sulfinpirazona (Witwer et al., 1976; Doreen et al., 1986).

1.4.2 Tabagismo

Existe uma maior incidência de LMA entre fumantes, com *odds ratio* variando entre 1,4 a 2,4 nos estudos, e sempre estatisticamente significativa (Morris-Brown et al., 1992). A exemplo da leucemia aguda induzida por radiação, estes pacientes costumam apresentar antes da evolução quadros pré-leucêmicos e anomalias cromossômicas. A resposta à terapêutica tende a ser pobre e a sobrevida, curta.

1.4.3 Radiação ionizante

Exposição a doses de moderadas para altas aumenta a incidência de leucemia. Estudos feitos com sobreviventes japoneses da bomba atômica tiveram início em 1950 e proporcionaram subsídios para o efeito da radiação no sistema hematopoético. Acidentes radioativos mais recentes, como Chernobyl, corroboraram estes efeitos. Fetos e crianças pequenas expostos a pequenas doses de radiação também apresentam maior incidência de leucemia. A LMA pós-irradiação costuma apresentar a fase pré-leucêmica e aberrações cromossômicas, bem como tratamento insatisfatório e sobrevida baixa. A leucemia mielóide cônica (LMC), contudo, parece ser a leucemia mais comum nos sobreviventes da bomba atômica (Pierce et al., 1996; Doll, 1998).

1.4.4 Fatores genéticos e cromossômicos

Apesar de fatores ambientais desempenharem um importante papel na causa da leucemia, a susceptibilidade hereditária claramente tem um crítico papel adicional. Algumas leucemias da infância estão associadas à desordens cromossômicas, como síndrome de Down (trissomia do 21) e Klinefelter (47, XXY). Outras condições genéticas possuem defeitos nas enzimas de reparo do DNA, o que resulta em alta incidência de cânceres e leucemias. Exemplos são a anemia de Fanconi, xeroderma pigmentoso, síndrome de Cockayne variante XP e ataxia telangectásica (Bohr et al., 1989; Mizutani, 1998). A síndrome de Bloom, consequência primária de uma fragilidade cromossômica, também está relacionada a um defeito na DNA ligase. Os portadores de neurofibromatose apresentam anormalidades em um gene específico, o NF1, localizado no braço longo do cromossomo 17, que tem uma função de supressão tumoral. Isto os torna mais susceptíveis ao câncer, incluindo LMA e LMC, que tendem a aparecer na segunda década de vida, (Bader et al., 1978; Blatt et al., 1986; Gutmann et al., 1996; Taylor et al., 1996).

1.4.5 Vírus

Algumas leucemias e tumores sólidos em roedores são associadas a retrovírus do tipo C, que podem ter ação direta na oncogênese. Essa clara relação contrasta com o comportamento dos três tipos de vírus até aqui descritos nas leucemias humanas (Epstein-Barr, HTLV e HIV). O HTLV causa paraparesia espástica tropical, leucemia-linfoma de células T do adulto e outras condições (Takatsuki et al., 1996).

1.5 CLASSIFICAÇÃO DAS LEUCEMIAS MIELÓIDES AGUDAS

A tradicional classificação FAB, originada em 1976 e revista em algumas ocasiões, é baseada na morfologia e tem sido progressivamente substituída pela classificação da World Health Organization (WHO), que abrange aspectos morfológicos, clínicos, imunofenotípicos e citogenéticos. (Brunning et al., 2001; Vardiman et al., 2002). Contudo, pela frequência com que ainda é utilizada, vale destacar alguns conceitos da classificação FAB.

Nesta, as LMA são classificadas atualmente em oito subtipos morfológicos (de M0 a M7), usando em geral as colorações de Romanowsky ou Leishman e reações citoquímicas. O auxílio de métodos imunofenotípicos, citogenéticos e até moleculares é necessário para a definição de alguns subtipos, além de fornecer importantes informações prognósticas e até terapêuticas.

A LMA M0 é minimamente diferenciada e corresponde a 2 a 3% dos casos. As reações citoquímicas são todas negativas. Este subtipo requer o uso de métodos imunológicos para ser determinado.

Já o subtipo M1 exhibe alguma diferenciação nos blastos, porém mínima. A reação citoquímica com mieloperoxidase ou Sudan-Black deve ser positiva em mais de 3% dos blastos e em algumas ocasiões podem ser visualizados bastonetes de Auer. Corresponde a cerca de 20 % das LMA.

A LMA M2 é dita LMA com maturação, englobando células da linhagem granulocítica desde promielócitos até neutrófilos (mais de 10 % das células não eritróides). Os precursores monocíticos devem ser menos que 20 % na medula óssea e abaixo de 5000/mm³ no sangue periférico. Representa em torno de 25 a 30 % das LMA e é comum estar associada à translocação entre os cromossomos 8 e 21 (Ma et al., 1997; Nakamura et al., 1997).

A leucemia promielocítica aguda (LPA), como é conhecida a LMA M3, é encontrada em 5 a 10 % dos casos. É descrita uma variante morfológica, em que os grânulos citoplasmáticos são de difícil visualização à microscopia óptica, sem que haja diferença prognóstica. Ambas as formas exibem positividade para as colorações citoquímicas de linhagem granulocítica, como Sudan-Black (SBB) e Mieloperoxidase (MPO). Atualmente, considera-se que a translocação entre os cromossomos 15 e 17 esteja presente em virtualmente todas as LMA M3, envolvendo os genes PML e RAR α , respectivamente. Alguns casos apresentam cariótipos normais, mas são positivos para o rearranjo PMLRAR α quando investigados por técnicas moleculares. Caso estas não apontem o rearranjo, o diagnóstico do subtipo M3 deve ser reconsiderado.

A leucemia mielomonítica aguda ou LMA M4 representa de 20 a 25 % das LMA. Encontra-se tanto diferenciação granulocítica como monocítica, apresentando mais de 20 % de precursores monocíticos na medula. A contagem de monócitos no sangue periférico costuma exceder 5000/mm³. A variante eosinofílica é morfológicamente semelhante à M4 tradicional, exceto pela observação de um número abundante de eosinófilos com granações eosinofílicas e basofílicas grandes. Esta variante, via de regra, apresenta um cariótipo com alterações no cromossomo 16 (Arthur et al., 1983). Na citoquímica, a LMA M4 cora-se positivamente (maior ou igual a 20 % do total celular) para Alfa-Naftil-Acetato Estearase (ANAE).

A LMA M5 ou monocítica responde por 10 % das LMA, e consiste de duas diferentes formas: M5a, pobremente diferenciada (predomínio de monoblastos, com menos de 20 % de promonócitos ou monócitos) e M5b,

bem diferenciada (mais de 20% de promonócitos ou monócitos). Ambas costumam ser positivas para colorações citoquímicas com estearase.

O subtipo M6 (eritroleucemia) possui caráter morfológico heterogêneo, contribuindo com 5 % dos casos. Demonstra 50 % ou mais de precursores eritrocíticos na medula óssea, com displasia concomitante nesta linhagem. A M6a ou tradicional caracteriza-se por mais de 30 % dos blastos de linhagem não eritrocítica, enquanto a M6b ou pura é definida quando há mais de 30 % de pronormoblastos, de componente eritrocítico. Há ainda a M6c, quando existem mais que 30 % de blastos de ambas as linhagens, não eritrocítica e eritrocítica. Alguns estudos mostraram que estas variações podem comportar-se de formas diferentes e portanto requerir estratégias terapêuticas distintas (Schumacher et al., 1997; Kowal-Verm et al., 2000; Mazzella et al., 2000).

A leucemia megacarioblástica ou M7 representa 5 a 7% dos casos. É frequente a necessidade de biópsia de medula óssea neste subtipo, dada a fibrose intensa que pode dificultar o aspirado. Métodos imunológicos, como a imunofenotipagem por citometria de fluxo, são úteis e muito usados para estabelecer o diagnóstico de leucemia megacarioblástica. Cora-se positivamente para PAS.

A tabela 1, com a classificação FAB, pode ser vista a seguir (Schumacher et al., 2001).

Tabela 1 - Classificação FAB das leucemias mielóides agudas

M0 > 30% blastos
Colorações citoquímicas negativas ou < 3% blastos positivos
Evidência de linhagem mielóide por imunofenotipagem ou imunoquímica
M1 > 30% blastos
>3% blastos MPO ou SBB positivos
≤ 10% granulócitos maduros (de promielócitos em diante) mais monócitos
M2 > 30% blastos
> 10% granulócitos maduros
< 20% células monocíticas
M3 > 30% blastos e promielócitos
Promielócitos com morfologia anormal (reniforme ou núcleo bilobado)
Bastonetes de Auer muitas vezes proeminentes
Variante hipogranular
M4 > 30% blastos
> 20% linhagem granulocítica *
> 20% linhagem monocítica ‡
M4Eo como a M4, exceto por >_ 5% eosinófilos anormais
M5a > 80% monoblastos
< 20% linhagem granulocítica
M5b > 80% monoblastos /promonócitos/ monócitos
M6c > 50% do TCN são células eritróides nucleadas
Se ≥ 30% do TCN são mieloblastos, então é LMA M6a*
Se < 30% do TCN são mieloblastos, recalcule a contagem dos blastos como uma porcentagem das CNE
Se ≥ 30% das CNE são mieloblastos, então é LMA M6a*
Se < 30% das CNE são mieloblastos, então é síndrome mielodisplásica
Se ≥ 30% do TCN são proeritroblastos, então é M6†
Se < 30% do TCN são proeritroblastos, recalcule a contagem dos blastos como uma porcentagem do componente eritróide total
Se ≥ 30% do componente eritróide total são proeritroblastos, então é M6†
Se < 30% do componente eritróide total são proeritroblastos, então é síndrome mielodisplásica
M7 > 30% megacarioblastos
Blastos identificados como megacarioblastos por imunofenotipagem (expressão de CD41, CD42, CD61) ou por microscopia eletrônica

Percentagens são para o total de células nucleadas, exceto para a M6.

* Mieloblastos, promielócitos, mielócitos, metamielócitos e neutrófilos

† Monoblastos, promonócitos e monócitos. A contagem monocitária no sangue periférico é geralmente de 5000/mm³ ou mais. Se menor que isso, ou a lisozima sérica-urinária deve estar elevada 3 vezes acima do normal ou a citoquímica usando estearase deve confirmar a linhagem monocítica medular ≥ 20% of CNE.

‡ M6 é subdividida em M6a, predomínio mieloblástico; M6b, predomínio pronormoblástico; e M6c, mistura de ambos.

§ Total de células nucleadas

|| Células não eritróides

Em 1988, tendo por base a classificação FAB e aproveitando-se do desenvolvimento de técnicas de obtenção de anticorpos monoclonais e de citogenética, foi elaborada a classificação MIC (morfológica, imunológica e citogenética) das LMA. Deixava-se de dar valor tão somente às características morfológicas das células predominantes. Era a primeira tentativa de agregação destes novos e importantes parâmetros, com implicações inclusive prognósticas.

O progresso e a difusão da imunofenotipagem por citometria de fluxo levaram à classificação imunológica EGIL (European Group for the Immunological Characterization of Leukemias), em 1995. Esta classificação utilizava anticorpos monoclonais específicos para a LMA, buscando evidenciar os diferentes estágios de maturação das células leucêmicas ou mesmo duas ou mais subpopulações celulares anômalas (Béné et al, 1995).

Em 1999, a Organização Mundial de Saúde (WHO) propôs aquela que é considerada a classificação mais abrangente das neoplasias mielóides, incluindo a LMA. Esta classificação foi recentemente atualizada, estando em sua quarta versão. Segundo a WHO, a LMA e neoplasias relacionadas podem ser classificadas em cinco categorias: (a) LMA com alterações citogenéticas recorrentes; (b) LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia; (c) neoplasias mielóides relacionadas à terapia; (d) LMA não especificadas; (e) sarcoma mielóide; (f) proliferações mielóides relacionadas à síndrome de Down; (g) neoplasia de células dendríticas blásticas plasmocitóides (Swerdlow et al., 2008).

As LMA com alterações citogenéticas recorrentes incluem LMA com t(8;21) (q22;q22); inv(16) (p13;q22) ou t(16;16) (p13;q22); t(15;17) (q22;q12); t(9;11) (p22;q23); t(6;9) (p23;q34); inv(3) (q21;q26.2) ou t(3;3) (q21;q26.2) e LMA (megacarioblástica) com t(1;22) (p13;q13). Há ainda duas entidades provisórias, aguardando estudos confirmatórios e com grandes chances de constituir grupos definitivos na próxima revisão: as LMA com NPM1 mutado e LMA com CEBPA mutado. As três primeiras formas ocorrem mais em pessoas jovens e costumam apresentar respostas favoráveis à terapêutica.

As quatro seguintes demonstram prognóstico variável, enquanto que as entidades provisórias com NPM1 ou CEBPA mutados parecem estar relacionadas a uma melhor sobrevida (Vardiman et al., 2009).

A LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia associa-se com pior prognóstico e é mais comumente observada em idosos. Os pacientes podem ser enquadrados nesta categoria se tiverem 20% ou mais de blastos no sangue periférico ou medula óssea e: 1) evoluírem de SMD ou SMD/SMP documentadas previamente, 2) tiverem alterações citogenéticas específicas de SMD, como -7/del(7q), -5/del(5q), del(9q), del(11q), del12(p). Ainda, em alguns casos, t(2;11), t(11;16) e t(1;3), desde que excluída a história de terapia anterior, tema da próxima categoria ou 3) exiba displasia em 50% ou mais das células de pelo menos duas linhagens.

As neoplasias mielóides relacionadas à terapia abrangem LMA, SMD e LMA/SMD/SMP. Relacionam-se principalmente aos alquilantes e inibidores da topoisomerase II, bem como à irradiação, tema comentado anteriormente. Não mais se recomenda a subdivisão de acordo com o tipo de terapia empregada. Apesar deste grupo apresentar, em sua grande maioria, alterações citogenéticas semelhantes às duas primeiras categorias, sabe-se que sua evolução clínica costuma ser significativamente pior, sugerindo fatores biológicos outros envolvidos.

As LMA não especificadas englobam aquelas que não preenchem critérios para os outros grupos e basicamente refletem as características morfológicas, citoquímicas e o grau de maturação usado na classificação FAB. A WHO considera, porém, 20% de blastos na medula óssea (e não 30%) como número suficiente para o diagnóstico de LMA. Inclui ainda a LMA basofílica aguda e a panmielose aguda com mielofibrose. Este grupo corresponde a apenas 25 a 30% das LMA e tende a diminuir, na medida em que mais alterações genéticas são conhecidas.

O sarcoma mielóide é agora um grupo distinto dentro da classificação da WHO. É um diagnóstico patológico de uma proliferação extramedular de blastos de uma ou mais linhagens mielóides. Pode envolver qualquer

segmento do corpo, sendo mais comuns a pele, trato gastrointestinal, linfonodos e ossos. Mais frequentemente, o sarcoma mielóide é encontrado de maneira concomitante em um paciente com LMA recém-diagnosticada, mas pode também preceder o surgimento da doença no sangue periférico ou medula óssea. Neste último caso, o diagnóstico de sarcoma mielóide é sinônimo de LMA, e o tumor deve ser avaliado de acordo com as características morfológicas, fenotípicas e genéticas que permitam a classificação em alguma das categorias da WHO (Vardiman et al., 2009).

As proliferações mielóides relacionadas à síndrome de Down - mielopoese anormal transitória e leucemia mielóide - possuem aspectos únicos do ponto de vista morfológico, imunofenotípicos, clínicos e moleculares, incluindo a mutação *GATA 1*. Isto justifica sua separação das outras neoplasias mielóides.

Finalmente, a última categoria da WHO corresponde àquela referida na classificação anterior como "linfoma de células NK blásticas", que agora sabemos ser virtualmente sempre um tumor derivado de precursores de células dendríticas plasmocitóides, portanto uma neoplasia mielóide. É uma neoplasia clinicamente agressiva caracterizada pelo surgimento de lesões de pele, às vezes com linfadenopatia regional associada. Muitos casos terão progressão para envolvimento de medula óssea e sangue periférico. Os blastos são negativos para mieloperoxidase e estearase não específica, caracterizando-se pela expressão de CD4, CD43, CD56, CD123, TCL1 e CLA. A expressão de CD7, CD33 e Tdt é variável, enquanto a de CD34 e CD117 é ausente.

A tabela 2, a seguir, contém a classificação atualizada pela WHO em 2008.

Tabela 2 - Classificação WHO das leucemias mielóides agudas e neoplasias precursoras relacionadas

LMA com alterações citogenéticas recorrentes

LMA com t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1
LMA com inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); CBF β /MYH11
LPA com t(15;17)(q22;q12); PML/RAR α
LMA com t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL
LMA com t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214
LMA com inv(3)(q21;q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1
LMA (megacarioblástica) com t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1
Entidade provisória: LMA com NPM1 mutado
Entidade provisória: LMA com CEBPA mutado

LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia

Neoplasias mielóides relacionadas à terapia

LMA não especificadas

LMA minimamente diferenciada
LMA sem maturação
LMA com maturação
Leucemia mielomonocítica aguda
Leucemia monoblástica e leucemia monocítica aguda
Leucemia eritróide aguda
 Leucemia eritróide pura
 Eritroleucemia, eritróide/mielóide
Leucemia megacarioblástica aguda
Leucemia basofílica aguda
Panmielose aguda com mielofibrose

Sarcoma mielóide

Proliferações mielóides relacionadas à síndrome de Down

Mielopoesse anormal transitória
Leucemia mielóide associada à síndrome de Down

Neoplasia de células dendríticas blásticas plasmocitóides

From Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (eds): World Health Organization Classification of Tumours of Haemopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, IARC Press, 2008.

1.6 - PREDITORES DE RESPOSTA E FATORES PROGNÓSTICOS EM LEUCEMIAS MIELÓIDES AGUDAS

1.6.1 Aspectos clínicos

Os resultados após a terapia de indução (primeira fase do tratamento quimioterápico) dependem de uma série de fatores. Os pacientes devem ser capazes de tolerar os efeitos colaterais da quimioterapia (QT) e o prolongado período de neutropenia e plaquetopenia decorrentes da doença e do tratamento. A leucemia refratária de fato corresponde a menos de 20 % das falhas de indução. A maioria dos que não conseguem atingir remissão completa não o fazem em função das complicações da terapia, como febre e sangramentos. Assim, as condições médicas prévias e a *performance-status* são importantes preditores de resposta. Comprometimento das funções renal, cardíaca e hepática limitam a intensidade da quimioterapia administrada, bem como fatores que predisponham o paciente a infecções graves diminuem a probabilidade de se obter remissão completa. É incerto se o uso de fatores de crescimento hematopoéticos minimiza o risco de infecções severas nestes pacientes. Enquanto duração da neutropenia é certamente reduzida, parece não haver impacto no que diz respeito à morbidade e mortalidade (Stone et al., 1995; Rowe, 1996; Russel, 1997).

Características clínicas e biológicas constituem importantes fatores prognósticos e são capazes de agir como preditores de resposta ao tratamento. A idade é um relevante preditor de resposta à terapia de indução. Pacientes acima de 60 anos não toleram bem ciclos intensos de quimioterapia, além de comumente exibirem alterações citogenéticas desfavoráveis e expressarem o gene *MDR1* (Miller et al., 2005). Ainda apresentam alta incidência de displasias multilinhagem, com alterações citogenéticas favoráveis sendo bem menos frequentes. A terapia citotóxica em idosos está também associada com maior morbidade e mortalidade, dada a presença de doenças crônicas, recuperação medular prolongada e maior dificuldade de metabolização/excreção das drogas (Estey, 2007).

Pacientes com LMA secundária ou história de síndromes mielodisplásicas ou mieloproliferativas respondem pior ao tratamento convencional. Uma contagem de blastos em sangue periférico acima de 20.000/mm³ também guarda relação com uma menor taxa de remissão completa e duração da remissão (Lowenberg et al., 1999a).

A citogenética é o fator prognóstico independente mais significativo, e bem como a biologia molecular, será alvo de maiores comentários posteriormente. Outros parâmetros utilizados como preditores de resposta e da duração da mesma incluem a presença de doença extramedular, maior grau de fibrose medular, demora em atingir a redução dos blastos após o tratamento e necessidade de vários ciclos quimioterápicos para a remissão completa.

A sensibilidade das células leucêmicas *in vivo* às drogas, determinada pelo número de ciclos administrados até a remissão completa, e a taxa de citorredução na celularidade da medula óssea, parecem ser preditores independentes da duração da resposta. Pacientes que necessitam de dois ou mais ciclos quimioterápicos de indução para a obtenção de remissão completa tendem a apresentar uma menor duração da remissão. Fatores inerentes à medula óssea, obtidos quando da remissão completa, também podem prever a duração da resposta. A presença de displasia envolvendo mais de uma linhagem celular pode significar um período mais curto de remissão. Porém, como a quimioterapia pode resultar em mudanças displásicas nas séries eritróide e mielóide, principalmente, a interpretação destes achados após altas doses de drogas citotóxicas deve ser feita com cuidado (Haferlach et al., 2003).

A expressão antígeno CD34 pode estar ligada, em alguns casos, à expressão do gene *MDR1*, encontrado em 20 % das LMA *de novo* e 75 % das secundárias. Não se sabe, porém, se pode ser considerado como fator prognóstico independente (Kanda et al., 2000). A presença de bastonetes de Auer e, talvez, o aumento de eosinófilos na medula óssea podem estar entre os indicadores de boa resposta (Ritter et al., 1989).

Segundo Matsuo et al. em estudo de 2003, a porcentagem de blastos positivos para mieloperoxidase poderia constituir um fator prognóstico independente em LMA, inclusive naqueles com cariótipo normal.

1.6.2. Aspectos citogenéticos e moleculares

As alterações citogenéticas, presentes em aproximadamente 60% dos casos, constituem o principal fator prognóstico independente em pacientes com LMA (atualmente, junto com as moleculares). Estão diretamente relacionados com a indução de remissão completa e a duração desta (Jurlander et al., 1996). Alterações citogenéticas consideradas favoráveis, incluindo t(8;21) e inv(16), relacionam-se a respostas favoráveis e maior sobrevida, enquanto alterações no 5, 7 e 11q predizem má resposta ao tratamento e sobrevida mais curta. Também a t(15;17) é considerada como favorável, uma vez que funde o gene do receptor de ácido retinóico alfa (RAR α) no cromossomo 15 ao gene da leucemia promielocítica (PML) no cromossomo 17, levando à leucemia promielocítica aguda (LPA), que é responsiva à terapia de diferenciação com ácido all-trans-retinóico (ATRA). Alterações do 3q e cariótipos complexos, com cinco ou mais alterações distintas, carregam mau prognóstico (Grimwade et al., 1998, 2001 e 2004). A seguir, maiores detalhes.

1.6.2.1. Rearranjos genéticos e mutações em LMA

a) Translocações cromossômicas recorrentes

A maioria dos casos de LMA pode ser atribuída à aquisição de mutações somáticas nos progenitores hematopoéticos. Muitos alelos da doença foram identificados por clonagem molecular de translocações cromossômicas recorrentes, que frequentemente apontam a localização dos genes de fusão leucemogênicos (Rowley et al., 1999). As translocações cromossômicas resultam na expressão aberrante de um gene anteriormente

normal, pois a justaposição pode ativar elementos promotores ou estimuladores da proliferação ou ainda simplesmente induzir a expressão de genes de fusão. Exemplos incluem fusões envolvendo o *core binding factor* (CBF), receptor alfa do ácido retinóico, membros da família HOX, o gene MLL e coativadores transcricionais como o CBP, MOZ e TIF2.

Mais recentemente, notou-se que mutações pontuais também contribuem em uma proporção considerável dos casos, incluindo mutações ativadoras nos receptores tirosino-quinases, como FLT3 e KIT, além da família RAS. Mutações que resultam em uma localização aberrante da nucleofosmina-1 (NPM-1) têm sido implicadas na patogênese da LMA. Estas, ao contrario daquelas, parecem estar associadas a um prognóstico favorável. A tabela 1, abaixo, resume as principais correlações entre os subtipos morfológicos de LMA e as translocações cromossômicas recorrentes.

Tabela 3 - Correlações entre subtipos morfológicos de LMA e translocações cromossômicas recorrentes

Subtipo FAB	Alteração Citogenética	Alteração Molecular
M0, M1, LLA	t(10: 11)	<i>CALM-AF10</i>
M1	Trissomia do 11	Duplicação parcial do <i>MLL</i>
M2	t(8;21)	<i>AML1-ETO</i>
M3	t(15;17), t(11;17), t(5;17)	<i>PML-RARα</i> , <i>PLZF-RARα</i> , <i>NPM-RARα</i>
M4eo	inv(16)	<i>CBFβ-MYH11</i>
M4 com eritrofagocitose	t(8;16)	<i>MOZ-CBP</i>
M5	translocações llq23	<i>MLL</i> fundido a um de seus pares
M6	t(3;5)	<i>NPM-MLF1</i>
M1, M2, M4 e SMD	t(6;9), t(9;9)	<i>DEK-CAN</i> , <i>SET-CAN</i>
Vários subtipos FAB, SMD e LMMC	t(16;21)	<i>TLS/FUS-ERG</i>
M2, M4, LMMC	t(7;11)	<i>NUP98-H0XA9</i>
SMD, LMA-T/de novo	inv(11)	<i>NUP98-DDX10</i>
SMD, LMA-T, LMMC	t(3;21)	<i>AML 1-EAP/MDS1/EV11</i>

LLA, leucemia linfóide aguda; LMMC, leucemia mielomonocítica crônica; FAB, French-American-British (Cooperative Group); LMA-T, leucemia mielóide aguda com células T

b) Core Binding Factor (CBF)

Mais de uma dúzia de diferentes translocações cromossômicas na LMA englobam o *core binding factor (CBF)*. Os membros do grupo CBF funcionam como complexos heterodiméricos que regulam vários genes envolvidos na diferenciação, em muitos tecidos (Speck et al., 2002). Os fatores CBF consistem de uma sub-unidade α , que liga DNA, e uma sub-unidade β que não liga DNA diretamente, mas aumenta a ativação transcricional de genes-alvo, como um heterodímero com sub-unidade α . Três sub-unidades α foram até o momento identificadas, chamadas de RUNX1, RUNX2 E RUNX3. A RUNX1 é expressa em células hematopoética, sendo o alvo das translocações na LMA. Também é conhecida como AML1, e como gene de fusão está associada a LMA e a t(8;21).

O CBF é um importante regulador da hematopoese, capaz de ativar um espectro de genes fundamentais para o desenvolvimento das linhagens mielóide e linfóide (Speck et al., 2002). Prova disso é que, em camundongos *knock-out*, a homozigose para a perda do AML1 ou CBF β resulta na ausência de hematopoese final (Wang et al., 1996; Castilla et al., 1996; Okuda et al., 1996).

c) AML1-ETO na t(8;21) (q22;q22)

A t(8;21) (q22;22) está associada ao subtipo FAB M2 de LMA. Estes blastos muitas vezes possuem uma morfologia característica, com bastonetes de Auer proeminentes, grânulos de cor salmão e citoplasma com grânulos grandes e vacúolos. Quando a apresentação morfológica for sugestiva, mas a citogenética não confirmar a (8;21) (q22;22), o gene de fusão AML1-ETO pode ser evidenciado por PCR (Nucifora et al., 1994).

O AML1-ETO é um repressor transcricional que recruta de maneira aberrante complexos co-repressores nucleares, como a histona deacetilase (HD), para domínios CBF. AML1-ETO e outras fusões envolvendo CBF parecem funcionar como inibidores negativos dominantes do CBF nativo (Okuda et al., 1998). A expressão do AML1-ETO é capaz de conferir uma

vantagem proliferativa ou de sobrevivência celular em camundongos, com acúmulo destas células hematopoéticas na medula óssea. Além disso, o AML1-ETO pode conferir certas propriedades de auto-regeneração às células. Porém, estes camundongos não desenvolveram LMA, exceto quando mutações químicas foram associadas, indicando que a expressão de AML1-ETO isoladamente não é suficiente para causar a doença (Higuchi et al., 2002).

d) CBF β -MYH11 na inv(16) (p13;q22) e t(16;16) (p13;q22)

A inv(16) (p13;q22) e a t(16;16) (p13;q22) são observadas principalmente no subtipo FAB M4 eosinofílica de LMA. Estes pacientes, a exemplo daqueles com t(8;21), têm prognóstico relativamente bom e grande probabilidade de resposta a regimes que incluam citarabina em altas doses (Mrozek et al., 2001).

A sub-unidade β do CBF, no 16q22, é rompida por conta da inversão ou da translocação, levando à fusão com o gene para cadeia pesada de miosina do músculo liso, MYH11, localizado no 16p13 (Liu et al., 1993). A proteína quimérica CBF β -MYH11 mantém sua capacidade de ligar-se ao AML1 e também consegue formar multímeros de alto peso molecular através do domínio MYH11. A exemplo do AML1-ETO, o gene de fusão CBF β -MYH11 é um inibidor negativo dominante da transativação mediada por CBF (Speck et al., 2002).

Estudos em camundongos também fornecem evidências para o papel do CBF β -MYH11 como inibidor negativo dominante do CBF. Da mesma maneira que o AML1-ETO, a simples expressão do CBF β -MYH11 neste animais, sem que mutações químicas sejam instituídas, é insuficiente para causar uma LMA (Castilla et al., 1999).

e) Translocações envolvendo o receptor α do ácido retinóico

Um grande sucesso na terapia molecular para LMA durante a última década foi o uso de *all-trans-retinoic acid* (ATRA) para induzir respostas completas em pacientes com leucemia promielocítica aguda. A observação empírica inicial resultou em esforços para clonar o ponto de quebra da t(15;17) (q22;q22), com foco no locus do receptor α no 17q22. A consequência da translocação é a fusão do receptor α do gene do ácido retinóico (RAR α) no cromossomo 17 com uma nova porção no cromossomo 15, a PML (*promyelocytic leukemia*) (Liu et al., 1993; Zelent et al., 2001).

Algumas outras translocações cromossômicas associadas ao o fenótipo da leucemia promielocítica aguda foram caracterizadas. Cada uma delas visa o locus RAR α , fundindo-se a várias porções que incluem PLZF e NPM. Destas, a mais estudada é a PLZ- RAR α , que também recruta aberrantemente o complexo nuclear co-repressor. Porém, ao contrário da fusão PML- RAR α , o ATRA não é capaz de interferir com a co-repressão mediada pela PLZ- RAR α e portanto não é efetivo nos pacientes que apresentam a t(11;17), associada a este gene (Zelent et al., 2001).

As proteínas de fusão PML-RAR α e PLZ- RAR α são inibidores negativos dominantes da transativação induzida pelo retinóide. Além de interferir com as proteínas que normalmente interagem com a RAR α , como a RXR α , a fusão PML- RAR α também interfere no funcionamento da proteína PML nativa, que desempenha o papel de gene supressor tumoral, com base em trabalhos feitos em camundongos (Salomoni, 2002).

O prejuízo das atividades dominantes causado pela fusão PML-RAR α resulta em um bloqueio da diferenciação celular, no estágio de promielócito. A resposta clínica destes pacientes ao ATRA explica-se, em grande parte, pela capacidade deste agente em ligar-se à proteína PML-RAR α e reverter a repressão dos genes-alvo, necessários à hematopoese normal.

Modelos murinos de leucemia promielocítica aguda, como aqueles para as mutações CBF associadas às LMA, indicam que múltiplas mutações são necessárias para que surja o fenótipo da leucemia promielocítica. Em

alguns casos, a mutação ativadora do FLT3 pode ser este "algo mais" requerido para desencadear a doença. O ATRA é eficaz nestes animais, e mais recentemente uma nova droga foi testada, com sucesso: trióxido de arsênico (Tallman et al., 2002).

f) Rearranjos do gene MLL

Translocações envolvendo o 11q23 ocorrem frequentemente tanto na LMA quanto na LLA, e têm características distintas em comparação a outros subtipos de leucemia. Mais de 30 combinações genômicas diferentes já foram descritas nesta translocação recíproca recorrente (Thirman et al., 1993).

As translocações envolvendo o 11q23 são as alterações genéticas mais comuns em crianças com leucemias agudas, independentemente do fenótipo, presentes em cerca de 70 a 80% destes casos. Estas translocações são também observadas com frequência nas leucemias relacionadas a terapia com inibidores da topoisomerase II, como as epipodofilotoxinas.

As combinações cromossômicas nas translocações 11q23 muitas vezes são linhagens-específicas. Na LMA, a t(9;11) (p22;q23), a t(11;19) (q23;p13.1) e a t(6;11) (q27;q23) são as mais comuns. Na LLA, a t(4;11) (q21;q23) e a t(11;19) (q23;p13.3) predominam. Estas translocações têm sido observadas em vários subtipos FAB, mais comumente nas M4 (mielomonocíticas) e M5 (monoblásticas). Leucemias mielóides com translocações 11q23 muitas vezes co-expressam marcadores linfóides, e vice versa. Estas observações sugerem que o rearranjo do MLL pode acometer uma célula-tronco pluripotente ou uma via comum de diferenciação entre as linhagens.

Além das translocações recíprocas envolvendo o MLL, duplicações parciais deste gene podem ocorrer. Isto é particularmente evidenciado em pacientes idosos, e pouco visto nas leucemias da infância ou relacionadas a

terapias. A morfologia destas LMA com duplicações parciais do MLL exibe, na maioria das vezes, o subtipo FAB M1 ou M2.

Estes achados sugerem que o evento crítico para a transformação pode estar no rearranjo do próprio MLL, e não depender de contribuições dos respectivos "parceiros" de fusão.

1.6.2.2. Mutações pontuais em LMA

a) Mutações ativadoras da Família RAS

Mutações RAS oncogênicas estão associadas com LMA e SMD, principalmente nos códons 12, 13 ou 61, ou N- ou K-RAS. A incidência foi reportada em 25 a 44%, variando conforme o estudo (Beaupre, 1999). As mutações RAS parecem conferir pior prognóstico (Neubauer et al., 1994).

b) Mutações que ativam constitutivamente receptores tirosino-quinases

Mutações adquiridas que resultam em ativação constitutiva de FLT3 e c-KIT foram identificadas em proporções significantes das LMA. Estes achados podem ter importantes implicações terapêuticas, a exemplo da eficaz terapia molecular com imatinib para a quinase ABL nas LMC positivas para BCR-ABL.

O FLT3 é o gene mais corriqueiramente mutado na LMA em humanos, ocorrendo em cerca de 30 a 35% dos casos (Gilliand, 2002; Stirewalt, 2003). Em 20 a 25% dos casos, há mutações sequenciais internas - *internal tandem duplications* (ITD) - do domínio justamembrana que resultam em ativação constitutiva do FLT3. É provável que as mutações ITD desarrumem a estrutura do domínio auto-inibitório e levem, desta forma, à ativação da quinase (Griffith et al., 2004). Nos outros 5 a 10%, existem as chamadas mutações na alça de ativação (Griffin et al., 2001; Yamamoto et

al., 2001), que também conferem prognóstico ruim a estes pacientes (Kiyoi et al., 1999; Abu-Duhier et al., 2000; Meshinchi et al., 2001).

As mutações FLT3 podem surgir acompanhadas de rearranjos gênicos conhecidos, como AML1-ETO, PML-RAR α , CBF β -MYH11 ou MLL. Mutações na alça de ativação também foram descritas em c-KIT, em cerca de 5% dos casos de LMA. As mutações FLT3, KIT e RAS formam um grupo complementar no qual raramente se sobrepõem no mesmo paciente, e cada uma delas gera a ativação constitutiva das vias de transdução do sinal nas células leucêmicas. Coletivamente, representam mais ou menos 50% dos casos.

c) Mutações pontuais na nucleofosmina-1 (NPM-1)

Uma série de mutações na nucleofosmina-1 (NPM-1) foi recentemente descrita, e estas parecem ser as mutações mais prevalentes nas LMA, batendo, inclusive, as FLT3. O mecanismo pelo qual o NPM-1 causa leucemia não é ainda bem compreendido, e pode haver correlação de sua localização intracitoplasmática com seu potencial de transformação (Fallini et al., 2007).

As mutações NPM-1 são encontradas, mais frequentemente, em cariótipos normais, representando 50 a 60% dos mesmos. Além disso, existe boa probabilidade que haja uma mutação do tipo FLT3-ITD concomitante.

Está entre as alterações moleculares capazes de conferir um melhor prognóstico, a exemplo da mutação nos genes da proteína- α ligante-facilitadora CCAAT (*CEBPA*) (King et al., 2007). Isto, que fique claro, desde que a mutação NPM-1 não venha acompanhada da FLT3-ITD ou MLL (Fallini et al., 2007; Schlenk et al., 2008).

Como citado, o grupo de pacientes com cariótipo normal representa um desafio à parte, devido à grande heterogeneidade presente entre estes indivíduos com relação ao desfecho clínico e sobrevida apresentados. Constitui cerca de 40 a 50 % dos diagnósticos de LMA. À luz da biologia

molecular, identificam-se subgrupos distintos no que diz respeito ao prognóstico, pois, conforme discutido, várias mutações que ocasionam superexpressão de alguns genes têm sido implicadas com prognósticos específicos.

Outras alterações relacionadas a um prognóstico desfavorável incluem mutações nos seguintes genes: gene do tumor de Wilms (*WT1*); genes reguladores da apoptose do linfoma de células B (*BCL-2*) e proteína X associada ao *BCL-2* (*BAX*); ainda, gene citoplasmático cerebral e da leucemia aguda (*BAALC*).

Alguns estudos *in vitro* têm tentado correlacionar as características de crescimento da célula progenitora leucêmica, à sensibilidade, metabolismo, retenção e incorporação de drogas como fator preditor de resposta. Os resultados, porém, mostram-se conflitantes (Miller et al, 2005). Os achados *in vitro* relacionados a uma maior obtenção de remissão completa incluem as características proliferativas das células leucêmicas, como o percentual de células na fase S, o tempo do ciclo celular e a expressão do gene *MDR1*, que confere resistência a múltiplas drogas (Kin et al, 2006). A expressão do *MDR1* está associada a um mau prognóstico (Illmer et al, 2002). O *MDR1* codifica uma proteína transmembrana ligante de ATP que retira uma variedade de agentes antineoplásicos do interior das células, incluindo as antraciclínas. A expressão do *MDR1* é encontrada em 20% das LMA *de novo* e 75 % das secundárias.

A Tabela 4, a seguir, resume os principais fatores prognósticos.

Tabela 4 - Fatores prognósticos em leucemias mielóides agudas

Fator	Favorável	Desfavorável
Clínico		
Idade	<60 anos	>ou =60 anos
Leucemia	De novo	Secundária
Contagem leucocitária	<25,000/mm ³	>100,000/mm ³
Subtipo da OMS	LMA do tipo Core-binding factor (CBF)	LMA com displasia multilinhagem, relacionada à terapia. Megacariocítica, eritrocítica, basofílica aguda.
Classificação FAB	M2, M3, M4eo	M0, M5a, M5b, M6, M7
Doença extramedular	Ausente	Presente
Bastonetes de Auer	Presentes	Ausentes
Fenótipo	CD34 -	CD34+, CD56+
Medula Óssea		
Fibrose	Ausente	Presente
Citorredução	Rápida	Lenta
Ciclos de terapia até a RC	Único	Múltiplos
Displasia	Nenhuma	Multilinhagem
Citogenético	t(8;21), t(15;17), inv16 cariótipo normal (?)	Alterações do 3q, 5, 7 e 11q, t(6;9), t(9;22), cariótipo complexo
Molecular	NPM-1 CEBPA	Mutações do KIT FLT-3 ITD MDR-1

RC, remissão completa; OMS, Organização Mundial de Saúde; FAB, Franco-Americo-Britânica (Cooperative Group classification); FLT3, Fms-like tyrosine kinase 3; ITD, internal tandem duplication; MDR-1, multidrug resistance gene.

From Miller KB, Daoust PR (ed.): Hoffman's Hematology: Basic Principles and Practice, 5th edition, Elsevier, 2008.

1.7. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os sintomas decorrentes da LMA são inespecíficos e causados pela falência da hematopoese normal, uma vez que a medula óssea encontra-se infiltrada por grande número de células leucêmicas. Assim, a anemia é frequente e o risco de infecções e sangramentos é significativo. As queixas mais comuns são fadiga e mal-estar, que podem inclusive preceder em alguns meses o diagnóstico. Dores ósseas são frequentemente descritas como sintoma inicial, e podem decorrer da expansão do espaço intramedular ou da invasão direta do periósteo por blastos. Artralgias, com ou sem edema, podem preceder o diagnóstico em semanas. Palidez e fraqueza são ocasionadas pela anemia. A febre é comum, e acompanha o diagnóstico em 15 a 20% dos casos, muitas vezes em consequência de infecções associadas à neutropenia severa ou à própria leucemia.

Sinais e sintomas hemorrágicos, como petéquias, epistaxes e gengivorragias, são relatados em até metade dos pacientes. As petéquias surgem principalmente em membros inferiores, com ou sem associação com esforço físico. Podem estar relacionados à plaquetopenia acentuada ou à coagulação intravascular disseminada (CIVD), particularmente nas leucemias promielocíticas agudas (M3). Perda de peso, de maneira não muito pronunciada, é comum. Visceromegalias e adenomegalias também podem fazer parte do quadro clínico, ainda que estejam mais associadas à LLA. A esplenomegalia raramente ultrapassa a distância de 5 centímetros do rebordo costal esquerdo. Um baço muito grande sugere que pode haver LMA secundária a uma síndrome mieloproliferativa crônica.

Alguns achados clínicos guardam relação com determinados tipos de LMA. Assim, síndromes hemorrágicas graves são mais observadas na leucemia promielocítica aguda, em função da já citada CIVD e hiperfibrinólise características deste grupo. Após a apresentação inicial de sufusões hemorrágicas em pele e mucosas, hemorragia severa pode ser identificada em cerca de 80% destes pacientes. Antes da introdução do

tratamento com ATRA, exibiam altas taxas de mortalidade por hemorragia, particularmente em sistema nervoso central (SNC) (Avvisati et al., 2001). Estes pacientes são usualmente jovens, com mediana de idade de 30 a 38 anos, mas raramente abaixo dos 10 anos (Brunning et al., 1994).

A infiltração leucêmica na pele ocorre em até 13% dos casos, e pode indicar o envolvimento de outros sítios extramedulares, incluindo o SNC (Baer et al., 1989). As lesões são geralmente violáceas e nodulares e mais frequentes em pacientes com leucemia de componente monocítico (M4 e M5). A infiltração gengival também é característica destes grupos. Lesões cutâneas benignas associadas com a LMA incluem a síndrome de Sweet e o pioderma gangrenoso, que são responsivos à corticóides (Cohen et al., 1988; Schwaegerle et al., 1988). A infiltração testicular é menos comum na LMA do que na LLA, em torno de 1 a 8%, e quando ocorre exige irradiação de ambos os testículos, além da própria quimioterapia (Furman et al., 1990; Ferry et al., 1997).

O acometimento do SNC é pouco frequente, mas deve ser afastado em crianças e em casos de hiperleucocitose (principalmente com componente monocítico) ou sintomas neurológicos (Golub et al., 2002). A combinação de hiperleucocitose com plaquetopenia aumenta muito o risco de sangramento central (Nowacki et al., 2002). Os pacientes queixam-se, nestes casos, de forte cefaléia difusa e rapidamente podem evoluir para diminuição do nível de consciência e coma. O uso de citarabina em altas doses parece diminuir o envolvimento da LMA no SNC (Castagnola et al., 1997). Este envolvimento é muitas vezes assintomático, porém pode haver cefaléia ou paralisia de nervos cranianos, particularmente os pares V e VII. O comprometimento ocular pode resultar em cegueira e levantar a suspeita de acometimento meníngeo. Massas intracerebrais são raras, e foram descritas em casos de LMA M4 eosinofílica, em associação com inv(16) (p13q22) (Holmes et al., 1985).

O sarcoma granulocítico é também chamado de cloroma, por seu aspecto esverdeado quando seccionado. A coloração é explicada pela

presença de grânulos com mieloperoxidase nos mieloblastos. É um tumor extramedular que surge em 2 a 14 % dos pacientes com LMA (Muller et al., 1986; Baer et al., 1993; Wiernik et al., 2001). São tumores geralmente localizados, às vezes envolvendo ossos, tecidos moles, linfonodos ou pele. Os sítios comuns são as órbitas e seios paranasais, mas já foram relatados em trato gastrointestinal, trato genitourinário, mamas, colo uterino, glândulas salivares, mediastino, pleura, peritônio e ductos biliares (Neiman et al., 1981; Wiernick et al., 2001). Podem surgir ao diagnóstico ou mesmo precedê-lo. Quando em associação à síndromes mielodisplásicas ou mieloproliferativas, sugerem evolução para LMA (Baer et al., 1993). Apesar de serem sensíveis à radioterapia, a quimioterapia sistêmica é necessária na grande maioria das ocasiões (Welch et al., 1986).

Outros órgãos são esporadicamente envolvidos. Alterações cardíacas devem ser creditadas, na maioria das vezes, a distúrbios hidroeletrólíticos, mas podem resultar de infiltração do sistema de condução ou da parede dos vasos (Wiernik et al., 1976 e 2001). Sintomas pulmonares ocorrem em quadros de leucostase, infecção ou hemorragia alveolar. Sintomas gastrointestinais decorrentes da neutropenia são os abscessos perirretais e tífrites, mas pode haver ainda colite necrotizante pela infiltração leucêmica. Icterícia obstrutiva secundária a um sarcoma granulocítico já foi descrita, podendo cursar com falência hepática em raros casos (Hess et al., 1981).

Os pacientes que apresentam hiperleucocitose (mais que 100×10^9 leucócitos), principalmente às custas de leucemia aguda com componente monocítico, podem evoluir com sintomas de leucostase, sendo a circulação do SNC, pulmões e pênis mais sensíveis aos seus efeitos. Assim, em indivíduos com leucostase são comuns disfunções cerebrovasculares, visuais, insuficiência respiratória e priapismo.

Alterações metabólicas e eletrolíticas são comuns na LMA, sendo a hiperuricemia a mais frequente. Esta é ocasionada pela intensa proliferação celular e pelo catabolismo das purinas, e pode instalar-se antes mesmo que o tratamento tenha início. Mais típico, contudo, é o aumento rápido e

acentuado observado após a instituição da quimioterapia citotóxica, com lise dos blastos. Como forma de evitar o conseqüente depósito de cristais de urato no túbulo renal e mesmo uma insuficiência renal aguda, preconiza-se a profilaxia com hidratação rigorosa e alopurinol.

Hipocalemia é outro achado comum, principalmente nas LMA com componente monocítico (Mir et al., 1975). A hipercalemia é mais rara, observada diante de insuficiência renal aguda ou síndrome de lise tumoral. Pode surgir hipercalcemia, secundária à liberação de PTH ou fragmentos deste pelas células leucêmicas (Kent et al., 1993). Hipocalcemia também pode ocorrer, em decorrência de hipoalbuminemia ou hipomagnesemia.

1.8. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

1.8.1. Morfologia

Uma vez em que haja a suspeita de leucemia aguda, métodos diagnósticos devem ser rapidamente instituídos. Após anamnese e exame físico cuidadosos, o exame mais simples e um dos mais importantes inicialmente é o hemograma. Neste, além da contagem e diferencial celular, a avaliação morfológica minuciosa é imperativa. Algumas características dos blastos leucêmicos já podem indicar a linhagem e orientar o tratamento, embora a avaliação medular deva sempre ser realizada.

A morfologia e contagem das células obtidas após aspiração medular (mielograma), com complementação através de reações citoquímicas, foi durante muitos anos o padrão utilizado para o diagnóstico laboratorial das leucemias agudas. A classificação FAB considera necessária a presença de 30% ou mais de blastos ao mielograma para que seja evidenciada uma leucemia aguda. Já a WHO entende que, em casos de LMA, pode ser aceito um valor a partir de 20%, já que nesta faixa, que a FAB ainda denomina como anemia refratária com excesso de blastos em transformação, não

existem diferenças prognósticas ou terapêuticas relevantes. Em ocasiões nas quais o mielograma não é possível de ser obtido devido a intensa fibrose medular, indica-se proceder a biópsia de medula óssea. Isto pode ocorrer principalmente em leucemias secundárias às síndromes mieloproliferativas e LMA M6.

No caso do diagnóstico laboratorial da LMA, as colorações citoquímicas com mieloperoxidase (MPO) e Sudan black-B (SBB) (se positivas em pelo menos 3% dos blastos) auxiliam ao indicar que há ali diferenciação mielóide, podendo assim em grande parte dos casos fazer a distinção da LLA. A positividade para reações com esterases, como a alfa-naftil acetato esterase (ANAE), sugere haver componente monocítico. Neste caso, considera-se a reação positiva se forem corados no mínimo 20% dos blastos, o que indicaria provável LMA M4 da FAB. Diante de ANAE fortemente positivo, com a coloração de pelo menos 80% dos blastos, há grandes chances de tratar-se de LMA M5.

Característicos de alguns tipos de LMA, os bastonetes de Auer são filamentos avermelhados, compostos de agregados de grânulos primários. Estes bastonetes são derivados da incorporação de grânulos azurofílicos em vacúolos autofágicos. São encontrados em aproximadamente 30 a 50% das LMA, e numa proporção ainda maior, de 60 a 70%, se buscado através de colorações citoquímicas (Swirsky et al., 1986).

1.8.2. Imunofenotipagem

Após o advento de técnicas mais sofisticadas de citometria de fluxo e marcadores imunofenotípicos, a citoquímica vem perdendo a importância que tinha de 10 a 20 anos atrás, pelo menos nos grandes centros (Schumacher et al., 2002). A imunofenotipagem pode ser realizada no sangue periférico, aspirado de medula óssea, linfonodos ou outros tecidos. Habitualmente, colhe-se amostra da medula óssea quando do diagnóstico, de modo simultâneo ao mielograma, cariótipo e outros testes moleculares

que possam ser úteis. A precisão e a reprodutibilidade da técnica constituem avanços significativos no diagnóstico das leucemias agudas.

A citometria de fluxo aplica uma combinação de anticorpos monoclonais dirigidos a antígenos conhecidos como CD (Clusters of Differentiation). Um painel inicial de antígenos é estudado, com base na suspeita clínica e morfológica, visando a confirmação da linhagem celular. Se necessário, para melhor caracterização da doença, este painel pode ser ampliado.

Os antígenos mielóides mais pesquisados são CD13, CD33, MPO citoplasmático e CD 117, além dos antígenos monocíticos (CD14 e CD64) e de imaturidade (CD34 e HLA-DR). Antígenos de linhagens B e T são pesquisados, *idem*. Seja para surpreender uma eventual expressão de linhagem ambígua, seja para detecção de doença residual mínima, em caso de expressão antigênica aberrante ao diagnóstico.

Alguns padrões imunofenotípicos guardam boa correlação com determinadas alterações citogenéticas, assim como com a própria classificação morfológica. Porém, a expressão total dos antígenos nos mieloblastos nem sempre bate perfeitamente com a morfologia ou coloração citoquímica. (Reading et al., 1993; Bradstock et al., 1994).

O uso da imunofenotipagem é particularmente importante na identificação de LMA com mínima diferenciação, leucemias eritroblásticas e megacarioblásticas (Bene et al., 2001).

1.8.3. Citogenética e Biologia Molecular

A citogenética tornou-se uma ferramenta essencial tanto para o diagnóstico e classificação das leucemias quanto para estabelecer prognóstico e acompanhamento após o tratamento. Deve ser coletada no momento do diagnóstico, antes da instituição do tratamento.

O cariótipo convencional consiste na análise das metáfases para verificar se há alterações numéricas ou estruturais nos pares de

cromossomos. Em cerca de 40 a 50% das amostras, porém, o cariótipo é normal. Um cariótipo sem alterações indica prognóstico intermediário, grupo este extremamente heterogêneo e que precisa ser melhor estudado.

Até por causa disto, testes moleculares têm sido cada vez mais empregados no diagnóstico, como uma complementação valiosa à análise cariotípica. A técnica de FISH (hibridização *in situ* por fluorescência) permite a observação de alterações cromossômicas específicas, através de sondas próprias, estejam as células em metáfase ou não. Os métodos moleculares, quando cabíveis, apresentam a melhor detecção de doença residual mínima no seguimento. Outra técnica atualmente muito utilizada é o PCR (reação em cadeia da polimerase), que possui a vantagem de quantificar em logaritmos alguns dos rearranjos genéticos mais importantes.

Algumas das mutações somáticas que podem ser verificadas no diagnóstico da LMA e que conferem valor prognóstico, conforme exposto anteriormente, são: duplicações parciais em seqüência (*PTDs*) do gene da leucemia de linhagem mielóide-linfóide ou mista (*MLL*) (Caligiuri et al., 1994), duplicações internas em seqüência (*ITDs*) (Kiyoi et al., 1997) ou mutações do domínio de tirosino-quinase (*TKD*) do gene relacionado ao fms tirosino-quinase 3 (*FLT3*) (Yamamoto et al., 2001), e mutações no gene da nucleofosmina (*NPM-1*) (Falini et al., 2007), nos genes da proteína- α ligante-facilitadora CCAAT (*CEBPA*) (Pabst et al., 2001), e no gene homólogo ao oncogene viral neuroblastoma RAS (*NRAS*) (Bos et al., 1985).

1.9. TRATAMENTO DAS LEUCEMIAS MIELÓIDES AGUDAS

1.9.1. Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas

Os resultados do tratamento das LMA apresentaram uma melhora considerável ao longo dos últimos 25 anos, especialmente em relação às taxas de remissão completa, com a associação de citarabina com um

antracíclico. Porém, estas taxas mostram diminuição significativa em se tratando de pacientes com idade mais avançada ou alterações citogenéticas desfavoráveis (Leith et al., 1997; Mrózek et al., 1997a). No grupo de pacientes acima de 60 anos, a taxa de mortalidade relacionada à doença gira em torno de 55%, mesmo naqueles que atingem remissão completa (Burnett et al., 2000).

Atualmente, com os tratamentos pós-remissão intensivos, com altas doses de quimioterapia, transplante alogênico ou autólogo, houve aumento da sobrevida livre de doença e sobrevida global nos pacientes com LMA. Conforme o esperado, o tratamento intensivo como consolidação mostra resultados melhores em pacientes com citogenética favorável e em jovens, apresentando diferentes padrões de resposta quando comparados os três grupos de prognóstico citogenético (Mrózek et al., 1997; Bloomfield et al., 1998; Slovak et al., 2000).

O tratamento com maiores doses de citarabina possui maior eficácia antileucêmica do que quando são administradas doses intermediárias desta droga, com diminuição de falha de indução. Isto é particularmente verdadeiro nos casos com t(8;21) ou alterações no cromossomo 16. Esta vantagem, porém, não modifica substancialmente a taxa de remissão, já que há maior número de mortes precoces nos pacientes que utilizam citarabina em doses mais elevadas, tornando-os mais susceptíveis a quadros infecciosos (Kern et al., 1998).

Em pacientes com idade inferior a 45 anos, o tratamento mieloablativo com transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) alogênico, com doador HLA compatível relacionado, proporciona maior efeito terapêutico, com maior sobrevida livre de doença. É a única forma de tratamento com possibilidade de cura em indivíduos que não respondem à primeira indução (Zittoun et al., 1995; Appelbaum, 1997; Lowenberg et al., 1999b). Entretanto, este procedimento está associado a um elevado risco de morbidade e mortalidade. Em pacientes abaixo de 60 anos submetidos a TCTH alogênico com doador HLA compatível relacionado, a sobrevida

global em 5 anos parece ser de 50 a 60%, mas este grupo constitui uma minoria dos pacientes. (Lowenberg et al., 1999b).

O TCTH autólogo deve ser considerado como opção em casos de necessidade de consolidação intensiva, em pacientes sem doador HLA compatível. Nesta população, apresenta taxa de sobrevida de 45 a 55 %, com menor índice de morbidade e mortalidade relacionadas ao procedimento, porém maior taxa de recidiva (Schiller et al., 1997; Lowenberg et al., 1999b).

Estudos comparativos não mostraram diferença significativa na sobrevida livre de doença ou sobrevida global entre TCTH autólogo e altas doses de quimioterapia com citarabina como consolidação intensiva (Harousseau et al., 1997; Cassileth et al., 1998). Outro estudo demonstrou que o TCTH autólogo reduz de maneira considerável o risco de recidiva e possui melhor taxa de sobrevida livre de doença, quando realizado após um ciclo de consolidação intensiva com quimioterapia (Burnett et al., 1998).

Em linhas gerais, o tratamento quimioterápico é dividido em etapas. A primeira delas é a indução, que envolve um período de intensa atividade antileucêmica, com uma combinação de drogas administradas preferencialmente em regime de internação e após a obtenção de um acesso venoso central. Nos dias atuais, consiste na associação de uma antraciclina por 3 dias em bolo venoso e citarabina 100 a 200 mg/m² por 7 dias em infusão contínua, durante 24 horas. As antraciclinas incluem a daunorrubicina, com doses entre 45 e 90 mg/m², idarrubicina 12 mg/m² ou mitoxantrona 12 mg/m², usadas por 3 dias. Não existem evidências conclusivas apontando que a escolha da antraciclina é fundamentalmente importante, já que os estudos randomizados não compararam doses farmacologicamente equivalentes destes agentes. Há um estudo, em andamento, que irá comparar doses de daunorrubicina de 45 e 90 mg/m² por 3 dias, associadas a 7 dias de citarabina, em pacientes com LMA ainda não tratados (Kolitz, 2008b).

O aumento da dose de infusão de citarabina na indução, de 100 para 200 mg/m², não melhorou de maneira consistente os resultados, bem como a extensão do período de 7 para 10 dias. Administrar altas doses de citarabina (até 3000 mg/m²) durante a indução também não aumentou a taxa de remissão completa. Um ensaio em fase III sugeriu que mesmo na ausência de maior índice de remissão completa, a citarabina em altas doses na indução melhoraria a sobrevida livre de doença (Kolitz, 2008b). Dados semelhantes foram publicados em relação ao uso de etoposide nesta fase, na dose de 75 mg/m² por 7 dias. Tanto a citarabina em altas doses quanto o etoposide são eventualmente utilizados, mas não fazem parte do atual protocolo padrão de indução, principalmente em idosos.

Em pacientes submetidos à indução, costuma-se colher novo mielograma por volta do 14º dia de tratamento. A partir de então, caso existam ainda células leucêmicas residuais na medula óssea, mas em proporção razoavelmente menor que ao diagnóstico, administra-se um segundo ciclo, semelhante ao primeiro. Se não houver sinal de resposta e medula ainda bastante infiltrada, deve-se optar por intensificação e mudança de protocolo, caso tolerado pelo paciente. Um esquema baseado em altas doses de citarabina pode ser usado neste momento, como o FLAG (com a fludarabina e fator estimulante de colônias granulocíticas) ou MEC (com mitoxantrona e etoposide).

Segundo a literatura internacional, cerca de 60 a 80% dos pacientes jovens, com leucemia primária, atingem remissão completa. A maioria, com um ciclo de quimioterapia. A mortalidade relacionada ao tratamento atinge 10%, sendo os óbitos causados principalmente por infecções graves e hemorragias, com ou sem leucemia em atividade (Kolitz, 2008b).

Uma vez em que a remissão completa é atingida, é essencial que tenha início a consolidação, com intensificação da quimioterapia, em pacientes que a suportem. Esta etapa visa a erradicação de doença residual mínima, que possa porventura existir. Indivíduos com cariótipos de mau prognóstico devem ser encaminhados neste momento à TCTH alogênico,

caso haja doador HLA compatível. A maioria, porém, receberá a consolidação com altas doses de citarabina. Pacientes idosos que tenham atingido a remissão completa podem ser consolidados com esquemas menos agressivos.

Para o grande número de pacientes que exibem cariótipo normal, a escolha está entre vários ciclos de citarabina em altas doses (ou droga similar) ou TCTH, alogênico ou autólogo. Algumas alterações moleculares têm sido implicadas com o prognóstico, como já citado anteriormente, e podem auxiliar nesta escolha terapêutica. Há estudos que compararam quimioterapia em altas doses na consolidação com o TCTH autólogo, e apesar de tendências favorecendo este último com relação à sobrevida livre de doença, apenas um ensaio fase III apontou realmente um benefício. O CALGB (Cancer And Leukemia Group B) demonstrou que o TCTH autólogo proporciona resultados semelhantes àqueles obtidos com 4 ciclos de citarabina em altas doses seguidos de terapia de manutenção, em indivíduos com citogenética normal. Porém, o TCTH autólogo talvez apresente menor morbidade que múltiplos ciclos de quimioterapia em altas doses.

A vantagem do TCTH autólogo de permitir a administração de doses mieloablativas de quimioterápicos, porém, pode ser neutralizada pela falência em se erradicar leucemia residual nas células infundidas. Tentativas de melhorar os resultados incluem a intensificação da quimioterapia dada antes da coleta de células progenitoras (*purging in vivo*) e o uso de altas doses de agentes citotóxicos e/ou anticorpos monoclonais nas células progenitoras após a coleta (*purging ex vivo*). O uso de células progenitoras periféricas reduz o tempo de pega do enxerto. Se os resultados globais do tratamento melhorarão com o maior uso de células progenitoras periféricas ao invés de medula, é uma questão ainda a ser respondida.

Os transplantes alogênicos limitam-se aos 30-35% dos pacientes elegíveis que possuem um doador compatível. Apesar de não haver o risco de infusão de células leucêmicas neste tipo de tratamento, o procedimento

traz consigo morbidades importantes, como a doença enxerto versus hospedeiro (GVHD), pela ação de linfócitos T do doador contra antígenos do receptor. Estas mesmas células podem também promover o desejável efeito enxerto versus leucemia. Em pacientes mais jovens e sem comorbidades, os resultados podem ser excelentes, principalmente se em primeira remissão completa. O risco de GVHD e suas complicações aumenta com a idade. Aliás, de acordo com a idade e as condições, a quimioterapia em altíssimas doses, com ou sem irradiação corporal total, pode causar toxicidade inaceitável. Uma opção para contornar este problema tem sido a adoção de transplantes de intensidade reduzida, não mieloablativos, com doses menores de quimioterápicos.

Após a consolidação, segue-se a fase de manutenção. Vale ressaltar que na LMA, ao contrário da LLA, não há evidências consistentes de que doses menores de quimioterapia prescritas por um longo período de tempo após a indução e consolidação melhorem a sobrevida global, embora possam favorecer uma maior sobrevida livre de doença. O esquema de manutenção comumente utilizado preconiza 12 ciclos mensais alternados de POMP (6-mercaptopurina, vincristina, metotrexate, prednisona) e citarabina com 6-tioguanina. No geral, não mais que 30 % dos pacientes com LMA abaixo de 60 anos e sem citogenética favorável são curados.

1.9.2. Leucemias Mielóides Agudas Não Promielocíticas em Idosos

Pacientes mais velhos constituem um desafio especial. O prognóstico, insatisfatório, pouco mudou nas últimas 3 décadas. Indivíduos acima de 60 anos, e particularmente, acima de 70 anos, são mais propensos a apresentar uma forma de doença resistente ao tratamento, por alterações citogenéticas e moleculares de mau prognóstico. Também não é incomum que a LMA neste grupo tenha evoluído a partir de condições como síndromes mielodisplásicas ou mieloproliferativas. As comorbidades, frequentes, também restringem o uso de terapias mais citotóxicas.

Apesar disso, uma boa *performance-status* está associado a resultados mais favoráveis, mesmo nestes pacientes. Deve-se levar todos estes fatores em consideração antes de decidir se um paciente idoso será tratado com intenção curativa e, quando optar-se pelo tratamento, que drogas usar. Vários estudos randomizados sugerem que o tratamento curativo de pacientes idosos com LMA pode levar a resultados melhores do que aquele obtido com esquemas meramente paliativos, naqueles capazes de tolerar a terapia mais agressiva. Dependendo dos fatores prognósticos e da *performance-status*, a probabilidade de pacientes com mais de 60 anos atingirem remissão completa usando o tratamento de indução convencional (D3A7) pode chegar a quase 50% (Stone et al., 2001; Andreson et al., 2002), com uma taxa de mortalidade relacionada ao tratamento de 20 a 40% (Kolitz, 2008b).

A terapia pós-remissão igualmente representa um dilema. Não é sabido se quaisquer dos esquemas terapêuticos pós-remissão utilizados prolongam a sobrevida global nestes pacientes, muito menos o regime e o número de ciclos (Rowe et al., 2005). Vários estudos compararam o papel de diversos protocolos de consolidação intensiva em idosos (Buchner et al., 2003; Goldstone et al., 2001; Stone et al., 2001; Gardin et al., 2007).

Cada um destes estudos demonstrou que a intensificação subsequente da dose de quimioterapia após um único ciclo de consolidação não era útil.

Portanto, a terapia pós-remissão em idosos provavelmente depende dos fatores prognósticos ao diagnóstico. Se o paciente mostrar tolerabilidade, é razoável oferecer um ciclo intensivo de consolidação. Qualquer ciclo extra deve ser considerado como experimental. Nos raros casos em que o paciente idoso apresenta fatores de bom prognóstico, a máxima quimioterapia tolerada deve ser instituída, pois ocasionalmente pode haver cura (Grimwade et al., 1998).

Por outro lado, não há justificativa plausível para administrar quimioterapia intensiva de consolidação em idosos de mau prognóstico,

mesmo que tenham atingido remissão completa. Tais pacientes apresentarão sempre prognóstico sombrio, a despeito da quimioterapia usada (Goldstone et al., 2001; Grimwade et al., 2001). Idosos acima de 75 anos, com cariótipo ou alterações moleculares de mau prognóstico, atingem somente 25 a 30% de remissão completa. Para este grupo podem ser indicadas terapias de indução mais brandas ou mesmo experimentais.

Entre estes, são descritas combinações de um inibidor da topoisomerase I, como o topotecan, com a citarabina, por 5 dias; mitoxantrona com etoposide, também por 5 dias; agentes hipometilantes, como a 5-azacitadina ou a decitabina; e o anticorpo monoclonal anti-CD33 gemtuzumab, que pode induzir remissão completa em uma pequena fração dos pacientes. Combinações do gemtuzumab com esquemas quimioterápicos estão sob investigação. O inibidor da farnesil-transferase, tipifarnib, disponível por via oral, mostrou resultados desapontadores quando usado isoladamente.

Ainda sobre drogas experimentais para LMA, que podem ser consideradas para idosos de alto risco e pacientes refratários sem doador de medula óssea, as linhas de pesquisa são várias. Incluem novos agentes com propriedades inibidoras contra vias de proliferação, diferenciação, angiogênese, imunomoduladoras e de resistência de drogas. Os esforços em melhorar os resultados pela inibição da glicoproteína-P, capaz de realizar o efluxo de drogas da célula e conferir resistência, tiveram um sucesso limitado. Algumas das drogas em estudo: bevacizumab (antiangiogênico, inibidor do VEGF); semaxanib (inibidor do *c-kit* e *flt-3*); ácido valpróico (inibidor da histona deacetilase); Hum-195-Bismuto 213 (anticorpo monoclonal radiomarcado); PR-1 (vacina para LMA); entre outras (Kolitz, 2008b).

Como parte do tratamento de suporte, os fatores estimulantes do crescimento de colônias granulocíticas, como o filgrastima, são usados na tentativa de reduzir o tempo de recuperação medular. Apesar de haver

diminuição dos períodos de neutropenia e do número de dias de internação, a sobrevida não parece ser diferente.

1.9.3. Leucemias Promielocíticas Agudas

A primeira descrição de leucemia promielocítica aguda (LPA) é creditada a Hillestad, em 1957. Desde então, muito foi aprendido sobre a patogênese e terapia da LPA, mais do que qualquer outro tipo de LMA. No início era uma doença praticamente fatal, muito em função de graves sangramentos. Contudo, desde a introdução do ATRA na terapia, no início dos anos 90, o quadro modificou-se radicalmente. Regimes baseados no ATRA com antracíclicos e, algumas vezes, citarabina, tornaram a LPA curável na maioria dos pacientes.

Graças à terapia de diferenciação atualmente usada e aos novos entendimentos sobre as alterações moleculares que levam à leucemia promielocítica aguda (LPA), cerca de 70 a 80% dos pacientes com doença *de novo* podem ser curados. O ácido all-trans-retinóico (ATRA) induz a diferenciação terminal e apoptose das células promielocíticas leucêmicas, sendo a primeira publicação de 1981 (Breitman et al.) após estudo *in vitro*.

O ATRA pode induzir à remissão completa na maioria dos pacientes mesmo como agente único, na dose de 45 mg/m² por via oral ao dia, em duas tomadas, por 30 a 45 dias. Porém, sozinho, não é capaz de erradicar a doença. Assim, a combinação de uma antraciclina (com ou sem citarabina) com o ATRA leva à remissão completa e à negatificação da t(15;17) com PML-RAR α em 70 a 80% dos casos.

Outra opção, usada em casos refratários, é o esquema que envolve o trióxido de arsênico (ATO), com ou sem ATRA, capaz de induzir a apoptose das células leucêmicas (Chen et al., 1996). Este efeito parece se dar através da inibição da ativação do NF-kappa B proporcionada pelo arsênico (Mathieu, 2006). Ainda não houve, porém, um seguimento a longo prazo após esta terapia.

O ATO exerce um efeito dose-dependente na LPA. Em baixas concentrações, induz a diferenciação parcial das células, enquanto em doses altas desencadeia a apoptose. A exemplo do ATRA, também dispara o catabolismo da proteína de fusão PML-RAR α , molécula principal na leucemogênese da doença. Mais do que isso, ATO e ATRA parecem atuar sinergicamente, modulando múltiplas vias inibidoras (Zhou, 2007). Estudos que acrescentam o ATO ao esquema inicial de indução estão em andamento.

A LPA é sensível às antraciclinas, o que torna lógico o seu uso também durante a consolidação, juntamente com o ATRA. Alguns protocolos associam ainda a citarabina, compondo um D3A7 com ATRA, nas mesmas doses das demais leucemias mielóides agudas. Em pacientes abaixo de 65 anos ainda pode administrar-se um segundo ciclo com uma dose menor de daunorrubicina (45 mg/m²), porém intensificada de citarabina (1000 mg/m²). A profilaxia de infiltração em SNC é feita por via intratecal com citarabina 60 mg e dexametasona 2 mg, após a remissão. Caso haja infiltração líquórica, aplica-se a combinação semanalmente, até a negatificação, seguida por mais 2 ciclos.

Pacientes com LPA e contagem de leucócitos acima de 10.000/ μ L têm maiores complicações. Neste grupo, alguns estudos em andamento estão avaliando se o prognóstico pode melhorar com o uso de gemtuzumab (já que a LPA costuma expressar fortemente CD33) ou citarabina em altas doses (Kolitz, 2008b).

A terapia de manutenção com ATRA intermitente, acompanhado ou não de metotrexate semanal e 6-mercaptopurina diária, tem sido usada para prevenir recaídas. Pode ser que indivíduos que tenham negatividade para PML-RAR α comprovada após a consolidação não precisem da manutenção por 2 anos. O regime comumente preconizado utiliza ATRA 45 mg/m² por 15 dias, a cada 3 meses, com metotrexate 15 mg/m² oral ou intramuscular semanal e 6-mercaptopurina 90 mg/m² oral diariamente, por 2 anos.

O ATRA deve ser administrado de modo intermitente, porque pacientes tratados com ATRA podem desenvolver uma síndrome de diferenciação, caracterizada por febre, dispnéia, ganho de peso, infiltrado pulmonar, efusão pleural e até morte. Isto ocorre, em parte, devido a interação entre os promielócitos leucêmicos em maturação e o endotélio vascular pulmonar, além da liberação de citocinas como a interleucina-8 (Tsai et al., 2007). A maioria dos pacientes responde à interrupção da droga e breves cursos de dexametasona. Quadros clínicos semelhantes foram descritos com o uso de tróxido de arsênio, provavelmente pela mesma capacidade de induzir a diferenciação. Alguns relatos descrevem também um quadro cutâneo de paniculite neutrofilica, semelhante à síndrome de Sweet, após o uso do ATRA (Jagdeo et al., 2007).

A LPA geralmente manifesta-se com uma leucometria baixa e indícios de coagulopatia. O ATRA auxilia no combate à coagulopatia, mas é fundamental manter o fibrinogênio acima de 100 mg/dL e as plaquetas acima de 50.000, pelo menos até a reversão do quadro. Não existem evidências consistentes que suportem a prescrição de heparina em baixas doses ou antifibrinolíticos, embora isto seja comum na prática clínica.

Uma recaída de LPA é geralmente abordada com uma tentativa de reindução, usando um regime de tratamento semelhante àquele que foi eficaz inicialmente. O TCTH autólogo é uma terapia ativa em portadores de LPA em segunda remissão completa, embora um transplante alogênico possa ser considerado, caso haja doador compatível (Kolitz, 2008b).

2 OBJETIVOS

- 1) Comparar os resultados dos protocolos mais utilizados para o tratamento curativo da LMA no HCFMUSP, no período de 1978 a 2007, através das taxas de remissão completa e das curvas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos.
- 2) Verificar o percentual de óbitos nos primeiros 30 dias da instituição de cada um destes protocolos, como forma de conhecer a mortalidade associada ao tratamento.
- 3) Analisar se houve diferenças entre os pacientes que receberam ciclos de citarabina em altas doses como consolidação, em doses totais abaixo e maior ou igual à mediana, e aqueles que não foram submetidos a este regime de tratamento.
- 4) Dividir os pacientes em grupos distintos de acordo com as alterações citogenéticas e comparar os resultados de cada grupo, de modo a validar o prognóstico cariotípico em nossa população.
- 5) Traçar o perfil dos pacientes diagnosticados e tratados no HCFMUSP, em relação a variáveis como idade, sexo, classificação FAB, doença primária ou secundária, alterações citogenéticas encontradas, percentual de blastos com coloração citoquímica positiva para peroxidase no aspirado medular, tratamento curativo ou paliativo, índice de refratariedade e de recidiva e efetivação do transplante de medula óssea.

3 MÉTODOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os pacientes adultos, portadores de leucemia mielóide aguda diagnosticados e tratados no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo de 1978 a 2007, foram avaliados retrospectivamente.

O levantamento de 1978 a meados de 1993 já havia sido realizado pelo doutor Pedro Enrique Dorlhiac Llacer e foi tema de sua tese de Livre-Docência. Aos dados obtidos na ocasião foram incorporados os pacientes deste ponto de 1993 a 2007, sendo ao final analisados conjuntamente. A segunda etapa da análise foi particularmente útil por permitir estudar os protocolos atuais, a consolidação com altas doses de citarabina e o cariótipo.

Os pacientes tiveram seus prontuários e exames analisados conforme a documentação disponível no Serviço de Arquivo Médico, sendo o estudo inteiramente desenvolvido na própria instituição. A seleção de prontuários para consulta se deu através da checagem do CID correspondente ao da LMA (C92.0) na base e dados do hospital, no período desejado. Os resultados de exames não encontrados no prontuário foram buscados diretamente nos respectivos laboratórios, como os de Citogenética e Imunopatologia.

Foram excluídos os indivíduos tratados em outros serviços e que utilizaram o HCFMUSP apenas para transplante de medula óssea, após encaminhamento da equipe médica de origem. Não entraram no estudo também os pacientes que foram diagnosticados no Pronto-Socorro da instituição, mas transferidos para tratamento em outros hospitais de referência. Apesar do estudo incluir portadores de doença secundária às síndromes mielodisplásicas e mieloproliferativas, não foram contabilizados aqueles com leucemia mielóide crônica (LMC) em crise blástica mielóide,

por serem considerados como um subgrupo com diagnóstico e prognóstico distintos. Indivíduos abaixo de 18 anos não participaram do estudo.

Os pacientes foram divididos, quanto à idade, em dois grupos: abaixo de 60 anos e maior ou igual a 60 anos. Puderam também ser estratificados de acordo com o sexo e origem primária ou secundária da LMA.

O diagnóstico de leucemia mielóide aguda (LMA) foi estabelecido quando havia número maior ou igual a 30 % de blastos no aspirado de medula óssea (segundo os critérios da FAB), com reações citoquímicas de Sudam Black B e/ou mieloperoxidase corando um mínimo de 3% dos blastos. Em casos de doença secundária às síndromes mielodisplásicas, o percentual mínimo de blastos na medula óssea para o diagnóstico foi de 20% (critério da WHO).

Como confirmação e em casos de linhagem inconclusiva, além de auxílio prognóstico, métodos imunológicos, como a imunofenotipagem por citometria de fluxo, foram processados. Para isto, foi utilizado um painel inicial de anticorpos monoclonais para triagem de leucemias agudas, composto da combinação de anticorpos monoclonais: CD45+CD34, HLADR+CD14, CD20+CD22, CD7+CD13, CD64+CD33, CD10+CD19 (antígenos de membrana); MPO+CD3 (antígenos de citoplasma). Destes, positividade de MPO, CD13 e/ou CD33 indica origem mielóide. Em casos de persistência da dúvida, pode-se ainda lançar mão de anticorpo monoclonal contra o CD117, também dirigido à linhagem mielóide. Na análise, foram utilizados citômetros FACSCalibur, da Becton & Dickinson (BD).

A coloração citoquímica discutida no estudo concentrou-se na mieloperoxidase, pela possibilidade de correlacionar uma forte positividade com o prognóstico (Matsuo et al., 2003). Aqueles que tiveram seu percentual registrado foram alocados em 2 grupos: inferior a 50% e maior ou igual a 50%. Quando da análise desta variável, visando evitar um viés devido ao cariótipo favorável, excluímos as leucemias promielocíticas agudas.

Todos os cariótipos obtidos e analisados foram realizados após aspiração de 4-5 ml de medula óssea em heparina sódica, através de cultura de curta duração, de 24 horas com colchicina nas últimas 2, ou de 48 horas, interrompidas na metáfase. O meio de cultura é composto de RPMI 1640, soro fetal bovino 30%, L-Glutamina 1% e Penicilina-Estreptomicina 0,5%. Em seguida é realizada a banda G e cariotipadas 20 metáfases. Os pacientes foram divididos em 3 grupos, de acordo com o prognóstico cariotípico: favorável, intermediário e desfavorável.

O grupo considerado como cariótipo favorável incluiu t(15;17), t(8;21) e inv(16). Os portadores de alterações do 3q, 5, 7 e 11q, t(6;9), t(9;22) e cariótipos complexos foram designados como cariótipo desfavorável. Por fim, aqueles apresentando cariótipos normais ou outras alterações foram alocados como prognóstico cariotípico intermediário. Estes critérios foram baseados nos estudos do MRC (Grimwade et al., 1998) e SWOG (Slovak et al., 2000).

O número total incluído foi de 499 pacientes. Destes, 400 receberam tratamento com intenção curativa e tiveram suas variáveis de resposta calculadas. As principais variáveis de resposta ao tratamento foram consideradas, leia-se: taxa de remissão completa, taxa de morte nos primeiros 30 dias do tratamento, sobrevida global, sobrevida livre de doença, sobrevida livre de eventos e índices de recidiva e refratariedade.

Os protocolos de tratamento estudados foram aqueles mais frequentemente prescritos no HCFMUSP durante o período, consistindo de 6 tratamentos distintos, mais 1 grupo miscelâneo, com esquemas menos utilizados e restritos a casos especiais.

Entre 1978 e 1980, o protocolo usado era o R1A5T5, que preconizava a indução com 2 ciclos, a cada 21 dias, com azarrubicina (200 mg/m² EV 1 dia), citarabina (80 mg/m² EV 12/12 horas por 5 dias) e tioguanina (80 mg/m² VO 12/12 horas 5 dias). Como consolidação, mais 2 ciclos idênticos. Para a manutenção, eram feitos 5 ciclos mensais, alternando ciclos de citarabina (80 mg/m² EV 12/12 horas por 5 dias) associada à lomustina (75 mg/ m² VO

por 1 dia) com citarabina (80 mg/m² EV 12/12 horas por 5 dias) associada à ciclofosfamida (600 mg/m² EV por 1 dia). A profilaxia o SNC era realizada através da administração intratecal de citarabina (25 mg), em três aplicações mensais (Wiernik et al., 1978).

Aqueles tratados entre 1981 e 1986 foram submetidos ao protocolo D2A5T5, que constava de 2 ciclos de indução a cada 21 dias contendo daunorrubicina (45 mg/m² EV 2 dias), citarabina (80 mg/m² EV 12/12 horas por 5 dias) e tioguanina (80 mg/m² VO 12/12 horas 5 dias). Como consolidação, mais 2 ciclos idênticos. Para a manutenção, eram feitos 5 ciclos mensais, idênticos aos descritos no protocolo anterior. A profilaxia o SNC era realizada através da administração intratecal de citarabina em maiores doses (40 mg), em três aplicações mensais (Gale & Cline, 1977).

Os pacientes tratados entre 1987 e 1989 receberam o protocolo DAT, que consistia em 2 ciclos de indução a cada 10 dias contendo daunorrubicina (50 mg/m² EV 1 dia), citarabina (100 mg/m² EV 12/12 horas por 5 dias) e tioguanina (100 mg/m² VO 12/12 horas 5 dias), com reforço após o segundo ciclo de indução em caso de ausência de remissão completa. Este reforço significava a administração de daunorrubicina por 1 dia e citarabina por 3 dias, nas mesmas doses descritas. Como consolidação, mais 2 ciclos idênticos aos da indução, com intervalo de 15 dias. Foram aplicados ainda ciclos mensais de terapia de manutenção contendo citarabina (70 mg/m² EV 12/12 horas 5 dias) e tioguanina (100 mg/m² VO 12/12 horas 5 dias), até completarem-se 18 meses de terapia. A profilaxia do SNC era baseada em 6 aplicações intratecais mensais de citarabina (60 mg) ((Rees et al., 1977).

A partir de 1990, foi iniciado o tratamento com o D3A7. Em sua forma original, este consistia em 2 ciclos de indução a cada 15 a 21 dias (dependendo da porcentagem de blastos e da celularidade da medula óssea no 15º dia), contendo daunorrubicina (50 mg/m² EV 3 dias) e citarabina (100 mg/m² EV contínuo por 7 dias). Havia ainda 3 ciclos de intensificação com citarabina (1,5 g/m² EV 12/12 horas durante 3 dias alternados) no primeiro,

segundo e sexto mês após a remissão completa. A terapia de manutenção continha ciclos mensais de citarabina (100 mg/m^2 EV 12/12 horas 5 dias) e tioguanina (100 mg/m^2 VO 12/12 horas 5 dias), alternados com ciclos de POMP, ou seja, de vincristina ($1,4 \text{ mg/m}^2$ EV 1 dia), metotrexate (30 mg/m^2 EV 1 dia), mercaptopurina (70 mg/m^2 VO 5 dias) e prednisona (60 mg/m^2 VO 5 dias), durante 12 meses. A profilaxia intratecal era realizada com a infusão de citarabina (60 mg) e dexametasona (2 mg) no 30º dia (Gale & Foon, 1987; Champlin et al, 1990).

No final do ano 2000, um D3A7 intensificado passou a ser o protocolo padrão do serviço, em pacientes com LMA não promielocítica (M3) e abaixo de 60 anos. Neste, constava 1 ou 2 ciclos de indução, a depender da obtenção de remissão completa, e as doses de daunorrubicina (60 mg/m^2 EV 3 dias) e citarabina (200 mg/m^2 EV contínuo por 7 dias) eram maiores. Ainda, a consolidação preconizava doses ainda mais elevadas de citarabina ($2,5 \text{ g/m}^2$ EV 12/12 horas durante 3 dias alternados), em 4 ciclos mensais, se possível. A manutenção e profilaxia de SNC eram semelhantes ao original.

Em pacientes com 60 anos ou mais, principalmente com performance-status ruim e antecedentes de problemas cardíacos, a antraciclina utilizada é a mitoxantrona, menos cardiotoxica, na dose de 12 mg/m^2 , acompanhada de citarabina em doses de 100 mg/m^2 (M3A7). A profilaxia de infiltração em SNC baseia-se na infusão de citarabina 60 mg e dexametasona 2 mg por via intratecal. Caso haja positividade líquórica, proceder a administração deste esquema intratecal semanalmente, até a negatificação, seguida de mais 2 ciclos (Arlin et al., 1990).

Protocolos usados excepcionalmente como indução foram agrupados em uma mesma categoria, para fins estatísticos, como "outros". Neste grupo, existiam casos induzidos com MEC (mitoxantrona 6 mg/m^2 EV 6 dias, etoposide 80 mg/m^2 EV 6 dias e citarabina 1000 mg/m^2 EV 6 dias), FLAG (fludarabina 30 mg/m^2 EV 5 dias, citarabina 2000 mg/m^2 EV 5 dias e G-CSF $5 \text{ } \mu\text{g/kg}$ SC até que neutrófilos estejam $> 500/\text{mm}^3$) e I3A7 (idarrubicina 12

mg/m² EV 3 dias e citarabina 200 mg/m² EV contínuo por 7 dias). A profilaxia de SNC foi feita com citarabina (60 mg) e dexametasona (2 mg), por via intratecal.

A leucemia promielocítica (M3) era tratada como as demais LMA até idos de 1993. A partir de 1994, teve início o uso de ATRA (45 mg/m² VO em 2 tomadas diárias), precedendo ou acompanhando a quimioterapia. Foram comparados os períodos pré e pós ATRA.

O protocolo atual sugere a indução com ATRA (na dose citada, se necessário até o 90º dia), daunorrubicina (60 mg/m² EV 3 dias) e citarabina (200 mg/m² EV contínuo por 7 dias) naqueles com menos de 60 anos e apenas ATRA nos mais idosos. Segue-se 1 ciclo de D3A7 intensificado (exceto nos idosos) e 2 ciclos da combinação de daunorrubicina e citarabina. O 1º destes é idêntico ao da indução de remissão e o 2º prevê a dose de daunorrubicina de 45 mg/m² EV por 3 dias e citarabina 1000 mg/m² EV por 4 dias. Na manutenção, por 24 meses, vem sendo utilizada a associação de ATRA (45 mg/m² VO em 2 tomadas diárias, por 15 dias a cada 90 dias), mercaptopurina (90 mg/m² VO ao dia) e metotrexate (15 mg/m² IM semanal). A profilaxia de SNC foi feita com citarabina (60 mg) e dexametasona (2 mg), por via intratecal.

De modo geral, a remissão completa foi entendida, morfológicamente, como menos de 5 % de blastos na medula óssea, contagem de plaquetas e neutrófilos maior que 100.000/mm³ e 1000/mm³, respectivamente, com ausência de blastos no sangue periférico. As remissões completas citogenéticas e moleculares não foram objeto de estudo, dadas as limitações de um estudo retrospectivo com intervalo tão abrangente, em boa parte antes da incorporação destas técnicas à rotina.

A taxa de morte nos primeiros 30 dias da instituição da quimioterapia incluiu todos os óbitos, de qualquer causa, ocorridos a partir do primeiro dia de tratamento curativo.

A sobrevida global foi mensurada como o intervalo compreendido, em meses, entre a data do mielograma diagnóstico e a data da última consulta,

óbito ou transplante de medula óssea, o que tiver vindo primeiro. Censura (na ausência do desfecho): data do transplante ou data da última visita.

A sobrevida livre de doença estimada engloba o intervalo compreendido, em meses, entre a obtenção da remissão completa morfológica até a eventual recidiva, sempre considerando as datas dos respectivos mielogramas. Censura (na ausência do desfecho): data do transplante, data da última visita ou óbito.

A sobrevida livre de eventos foi definida como o período, em meses, entre a obtenção da remissão completa morfológica, pela data do mielograma, até a recidiva, óbito ou transplante de medula óssea, o que tiver ocorrido antes. Censura (na ausência do desfecho): data da última visita.

O índice de recidiva considerado consiste na relação entre o número de pacientes recidivados e o número de pacientes em remissão completa morfológica, multiplicado por 100. A recidiva será definida como o reaparecimento de blastos leucêmicos no sangue periférico ou em número igual ou superior a 5% na medula óssea, na ausência de outras causas (como, por exemplo, regeneração medular após quimioterapia). Em casos de leucemias secundárias à síndromes mielodisplásicas, o surgimento de novas alterações displásicas também foi considerado recidiva. A refratariedade primária foi estabelecida como sendo a ausência de remissão completa após 2 ciclos de indução.

Estas definições vão ao encontro das recomendações revisadas do Grupo de Trabalho Internacional para estudos terapêuticos em leucemia mielóide aguda, em artigo publicado em 2003 por Cheson, Bennet e Kenneth.

Nem todos os indivíduos receberam altas doses de citarabina, aqui consideradas como ciclos a partir de 6 aplicações de 1,5, g/m² EV, em dias alternados, como regime de consolidação. Os pacientes que receberam doses baixas foram comparados aos que utilizaram doses altas, mas abaixo da mediana de dose total de 45,45 g da droga e aos que receberam doses altas, acima da mediana de 45.45 g de citarabina. Esta comparação levou

em conta a dose total, independentemente do número de ciclos que cada um conseguiu receber, em um máximo de quatro.

A significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$, através do teste de qui-quadrado de Pearson. As curvas de sobrevivência foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier, e a comparação estatística entre as mesmas, quando necessário, foi feita pelo teste de log-rank. A análise multivariada seguiu o modelo de regressão de Cox. Foi utilizado o software estatístico Minitab, versão 15.0.

4 RESULTADOS

Foram analisados 499 pacientes com o diagnóstico de LMA, de 1978 a 2008. Destes, 99 não receberam tratamento com intenção curativa. Incluem-se aí casos em que foi optado por terapia paliativa, devido à idade avançada e/ou comorbidades importantes apresentadas (46 pacientes); situações em que havia a intenção de tratamento curativo, porém ocorreu óbito antes que este pudesse ser instituído (35 casos); casos em que os indivíduos receberam o esquema de indução em outro serviço, e só posteriormente foram encaminhados ao HCFMUSP (18 pacientes). Assim, restou um total de 400 casos, em que foi administrada a terapia com a intenção de induzir remissão completa e, posteriormente, cura.

4.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DEMOGRÁFICAS DOS PACIENTES

Em relação à idade, observamos que 358 (71,74%) dos pacientes apresentavam-se com menos de 60, e 141 (28,26%) tinham idade maior ou igual a 60 anos no momento do diagnóstico. A mediana encontrada foi de 42,9 anos e a média de 45,8 anos, com desvio padrão de 18,7 anos. O paciente mais jovem foi diagnosticado com 18 e o mais idoso com 92 anos.

Quanto ao sexo, considerando o total de 499 casos, 232 (46,49%) eram do sexo feminino e 267 (53,51%), do masculino.

Pudemos avaliar nestes indivíduos se a doença era uma LMA de novo ou secundária. Constatamos que tratava-se de LMA de novo em 415 (83,15%) deles, enquanto que 84 (16,85%) possuíam doença secundária. Entre estes 84 casos com LMA secundária, verificamos síndromes mielodisplásicas pré-existentes em 56 (11,22%), uso prévio de alquilantes

ou inibidores da topoisomerase II em 14 (2,80%), história de síndromes mieloproliferativas em 8 (1,60%), anemia aplástica em 5 (1,00%) e síndrome de Down em 1 (0,20%) dos pacientes.

Entre os 400 pacientes que chegaram a ser tratados com idéia curativa, 54(13,50%) foram submetidos a TCTH como parte da terapia de consolidação ou resgate, em casos de recidivas.

A reação citoquímica com mieloperoxidase foi descrita em 146 dos pacientes, dos quais 82 (56,16%) mostravam positividade inferior a 50% e 64 (43,84%) exibiam positividade maior ou igual a 50 %.

Material para análise do cariótipo foi colhido em 242 casos, sempre por aspirado medular. Destes, 49 (20,24%) não apresentavam metáfases e não puderam ser estudados. Dos 193 carótipos obtidos, tivemos 49 (25,39%) considerados como bom prognóstico, 101 (52,33%) de prognóstico intermediário e 43 (22,28%) com mau prognóstico. A tabela 5, a seguir, demonstra os achados cariotípicos de nosso estudo.

Tabela 5 - Achados cariotípicos em pacientes do HCFMUSP com o diagnóstico de LMA, entre 1996 e 2007

Prognóstico	Alteração Citogenética	Frequência
Favorável	t(15;17)	39
	t(8;21)	6
	inv(16)	4
Desfavorável	cariótipo complexo	21
	del 7	13
	t(9;22)	4
	del 11	3
	del 5	2
Intermediário*	cariótipo normal	87
	+8	7
	+11	4
	+4	3
	+9	3
	+6	2
	+21	1
	+13	1
	t(6;11)	1
	t(3;13)	1

* em alguns cariótipos intermediários, havia mais de uma alteração associada.

Entre os protocolos de tratamento curativo utilizados no período para os 400 pacientes, o mais freqüente foi o D3A7 original – com 50 mg/m² de daunorrubicina e 100 mg/m² de citarabina -, em 138 (34,50%) deles. A partir de meados do ano 2000, foi adotado o D3A7 intensificado, com 60 mg/m² de daunorrubicina e 200 mg/m² de citarabina – em 116 (29,00%) pessoas. Tivemos ainda o D2A5T5 em 46 (11,50%), DAT em 40 (10,00%), R1A5T5 em 15 (3,75%), M3A7 em 25 (6,25%) e outros protocolos instituídos em 20 (5,00%) destes casos.

Quanto à classificação FAB nos 499 pacientes, encontramos 12 (2,41%) M0, 54 (10,82%) M1, 95 (19,04%) M2, 90 (18,04%) M3, 111 (22,24%) M4, 42 (8,42%) M5, 23 (4,61%) M6 e 13 (2,61%) M7. Em 59 (11,82%) casos, a classificação FAB não foi finalizada, sendo a grande maioria destes casos LMA secundária a síndromes mielodisplásicas ou mieloproliferativas.

Entre aqueles que atingiram a fase de consolidação, observamos que 112 pacientes (55,17%) não receberam citarabina em altas doses; 46 receberam altas doses, mas dose total menor que a mediana de 45,45 g (22,66%) e 45 foram submetidos a altas doses, acima da mediana de 45,45 g (22,17%).

A tabela 6 resume as características clínicas e demográficas do grupo estudado.

Tabela 6 - Características clínicas e demográficas dos pacientes

Variável	
Idade - n (%)	
<60 anos	358 (71,74%)
≥60 anos	141 (28,26%)
Mediana - anos	43
Intervalo - anos	18 - 92
Sexo - n (%)	
Masculino	267 (53,51%)
Feminino	232 (46,49%)
Cariótipo - n (%)	
Favorável	49 (25,38%)
Intermediário	101 (52,34%)
Desfavorável	43 (22,28%)
Origem da LMA - n(%)	
primária	415 (83,15%)
secundária	84 (16,85%)
Positividade p/ MPO - n(%)	
≥50%	64 (43,84%)
<50%	82 (56,16%)
Protocolo de Indução - n(%)	
R1A5T5	15 (3,75%)
D2A5T5	46 (11,50%)
DAT	40 (10,00%)
D3A7	138 (34,50%)
D3A7 int.	116 (29,00%)
M3A7	25 (6,25%)
Outros	20 (5,00%)
Classificação FAB - n (%)	
M0	12 (2,41%)
M1	54 (10,82%)
M2	95 (19,04%)
M3	90 (18,04%)
M4	111 (22,24%)
M5	42 (8,42%)
M6	23 (4,61%)
M7	13 (2,61%)
Não classificada	59 (11,82%)
Citarabina HD na Consolidação - n(%)	
não	112 (55,17%)
dose total <45,45 g	46 (22,66%)
dose total >45,45 g	45 (22,17%)

4.2. ÍNDICES

4.2.1. Remissão Completa (RC)

Dentre os 400 pacientes com LMA tratados com intenção curativa no HCFMUSP, entre 1978 e 2007, 203 obtiveram remissão completa após 1 ou 2 ciclos de indução, com um índice geral de remissão completa de 50,75 % (IC_{95%} = [45,85%; 55,65%]). A RC individualizada por protocolo de indução pode ser vista adiante, na tabela 7.

Tabela 7 - Remissão Completa, por protocolo de indução

Protocolo	N _{total}	N _{RC}	%	IC 95%
D2A5T5	46	22	47,83%	[33,39%; 62,26%]
D3A7 original	138	70	50,72%	[42,38%; 59,07%]
D3A7 intensificado	116	69	59,48%	[50,55%; 68,42%]
DAT	40	18	45,00%	[29,58%; 60,42%]
M3A7	25	9	36,00%	[17,18%; 54,82%]
R1A5T5	15	7	46,67%	[21,42%; 71,91%]
Outros	20	8	40,00%	[18,53%; 61,47%]
Total	400	203	50,75%	[45,85%; 55,65%]

Foi estimada também a remissão completa separada por variável, como demonstrado na Tabela 8, a seguir.

Tabela 8 - Distribuição da idade, positividade para peroxidase, prognóstico citogenético, protocolo de tratamento, uso de ATRA, classificação FAB e origem dos pacientes, segundo a remissão completa

	Remissão completa		p ^a
	sim (n=203)	não (n=197)	
Idade (anos)			
menos de 60 anos	173 (54,9%)	142 (45,1%)	0,0013
60 anos ou mais	30 (35,2%)	55 (64,8%)	
Positividade para peroxidase ^b			
menos de 50%	32 (57,1%)	24 (42,9%)	0,2523
50% ou mais	15 (71,4%)	6 (28,6%)	
Prognóstico citogenético			
bom	36 (80,0%)	9 (20,0%)	0,0055
regular	46 (54,7%)	38 (45,3%)	
ruim	17 (48,5%)	18 (51,5%)	
Protocolo de tratamento			
D2A5T5	22 (47,8%)	24 (52,2%)	0,2832
D3A7 intensificado	69 (59,4%)	47 (40,6%)	
D3A7 original	70 (50,7%)	68 (49,3%)	
DAT	18 (45,0%)	22 (55,0%)	
M3A7	9 (36,0%)	16 (64,0%)	
R1A5T5	7 (46,6%)	8 (53,4%)	
Outro	8 (40,0%)	12 (60,0%)	
Uso de ATRA ^c			
sim	35 (67,3%)	17 (32,7%)	0,0208
não	7 (36,8%)	12 (63,2%)	
FAB			
M0	5 (50,0%)	5 (50,0%)	0,0745
M1	19 (42,2%)	26 (57,8%)	
M2	53 (60,2%)	35 (39,8%)	
M3 com ATRA	35 (67,3%)	17 (32,7%)	
M3 sem ATRA	7 (36,8%)	12 (63,2%)	
M4	45 (51,1%)	43 (48,9%)	
M5	17 (47,2%)	19 (52,8%)	
M6	7 (38,8%)	11 (61,2%)	
M7	3 (30,0%)	7 (70,0%)	
Origem			
primária	117 (58,5%)	83 (41,5%)	0,0033
secundária	15 (34,0%)	29 (66,0%)	

^anível descritivo do teste de qui-quadrado de Pearson

^btodos os indivíduos com FAB determinada e diferente de M3

^csomente para os indivíduos com FAB M3

Do ponto de vista estatístico, parece haver relação da idade, cariótipo, uso de ATRA entre as LPA e origem da LMA com a maior obtenção de remissão completa. Não encontramos diferença estatisticamente significativa quando da análise da positividade para mieloperoxidase, protocolo de indução e classificação FAB.

4.2.2. Óbito nos Primeiros 30 Dias da QT

Dentre os 400 pacientes com LMA tratados com intenção curativa no HCFMUSP, entre 1978 e 2007, 106 evoluíram a óbito nos primeiros 30 dias após a instituição da quimioterapia de indução. Isto resulta em um índice geral de óbitos atribuíveis à toxicidade da indução de 26,50% (IC_{95%} = [22,17%; 30,83%]). O percentual de óbitos subsequentes a cada protocolo é demonstrado na tabela 9.

Tabela 9 - Óbito nos Primeiros 30 Dias da QT, por Protocolo

Protocolo	N _{total}	N _{óbito 30d}	%	IC 95%	
D2A5T5	46	10	21,74%	9,82%	33,66%
D3A7 original	138	35	25,36%	18,10%	32,62%
D3A7 intensificado	116	31	26,72%	18,67%	34,78%
DAT	40	11	27,50%	13,66%	41,34%
M3A7	25	9	36,00%	17,18%	54,82%
R1A5T5	15	3	20,00%	-0,24%	40,24%
Outros	20	7	35,00%	14,10%	55,90%
Total	400	106	26,50%	22,17%	30,83%

Foi também calculado o índice de óbitos nos 30 dias iniciais a partir da quimioterapia de indução, por cada variável, como demonstrado na Tabela 10.

Tabela 10 - Distribuição da idade, positividade para peroxidase, prognóstico citogenético, protocolo de tratamento, uso de ATRA, FAB e origem dos pacientes, segundo óbito nos primeiros 30 dias da QT

	óbito em 30 dias	óbito em mais de 30 dias ou não óbito	p ^a
Idade (anos)	(n=82)	(n=318)	
menos de 60 anos	61 (19,3%)	254 (80,7%)	0,2791
60 anos ou mais	21 (24,7%)	64 (75,3%)	
Positividade para peroxidase ^b		(n=64)	
menos de 50%	9 (16,0%)	47 (84,0%)	0,7423
50% ou mais	4 (19,0%)	17 (81,0%)	
Prognóstico citogenético	(n=29)	(n=135)	
bom	8 (17,7%)	37 (82,3%)	0,8248
regular	16 (19,0%)	68 (81,0%)	
ruim	5 (14,2%)	30 (85,8%)	
Protocolo de tratamento	(n=82)	(n=318)	
D2A5T5	9 (19,5%)	37 (80,5%)	0,9511
D3A7 intensificado	24 (20,6%)	92 (79,4%)	
D3A7 original	27 (19,5%)	111 (80,5%)	
DAT	7 (17,5%)	33 (82,5%)	
M3A7	6 (24,0%)	19 (76,0%)	
R1A5T5	3 (20,0%)	12 (80,0%)	
Outro	6 (30,0%)	14 (70,0%)	
Uso de ATRA ^c	(n=22)	(n=49)	
sim	14 (26,9%)	38 (73,1%)	0,2210
não	8 (42,1%)	11 (57,9%)	
FAB	(n=76)	(n=290)	
M0	2 (20,0%)	8 (80,0%)	0,0605
M1	6 (13,3%)	39 (86,7%)	
M2	12 (13,6%)	76 (86,4%)	
M3 com ATRA	14 (26,9%)	38 (73,1%)	
M3 sem ATRA	8 (42,1%)	11 (57,9%)	
M4	19 (21,5%)	69 (78,5%)	
M5	9 (25,0%)	27 (75,0%)	
M6	6 (33,3%)	12 (66,7%)	
M7	-	10 (100,0%)	
Origem	(n=53)	(n=191)	
primária	42 (21,0%)	158 (79,0%)	0,5602
não primária	11 (25,0%)	33 (75,0%)	

^anível descritivo do teste de qui-quadrado de Pearson

^btodos os indivíduos com FAB determinada e diferente de M3

^csomente para os indivíduos com FAB igual a M3

Não houve diferenças estatísticas quando associamos os óbitos nos primeiros 30 dias após a quimioterapia de indução com qualquer das variáveis.

4.2.3. Recidiva de Doença

Em meio aos 203 pacientes que atingiram remissão completa após a indução do total de 400, 107 (52,70%) apresentaram recidiva da doença em algum momento.

4.2.4. Refratariedade Primária

Dos 400 pacientes tratados com intenção curativa, 231 foram avaliados através da aspiração de medula óssea ao término da indução. O restante evoluiu a óbito, seja durante ou após o 1º mês do início de tratamento, antes que fosse caracterizada a ausência de resposta. Nestas 231 pessoas, observamos que 23 (9,95%) mostraram refratariedade primária à quimioterapia.

4.3. ANÁLISE UNIVARIADA DE SOBREVIDA

Foram avaliados 499 prontuários, porém, 99 não foram tratados curativamente. Portanto, para as análises e curvas de sobrevida, foram considerados os dados de 400 casos. Em cada uma das Figuras 1 a 36, a linha pontilhada horizontal representa a proporção igual a 0.5, ou seja, 50% dos pacientes avaliados.

4.3.1. Todos os Pacientes

As medianas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos estimadas, considerando os 400 pacientes, podem ser vistas na tabela 11, abaixo.

Tabela 11 - Dados de sobrevida de todos os pacientes

sobrevida global (dias)	N	mediana
censura	132	19,45
evento	268	1,82
Total	400	4,60
sobrevida livre de doença (dias)	N	mediana
censura	102	12,23
evento	101	9,83
Total	203	10,27
sobrevida livre de eventos (dias)	N	mediana
censura	76	25,27
evento	127	7,73
Total	203	10,27

As probabilidades estimadas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos destes 400 pacientes, em 60 meses, foram de 22,84%, 29,85% e 25,36%, respectivamente. As curvas de Kaplan-Meier de cada uma destas variáveis podem ser visualizadas a seguir.

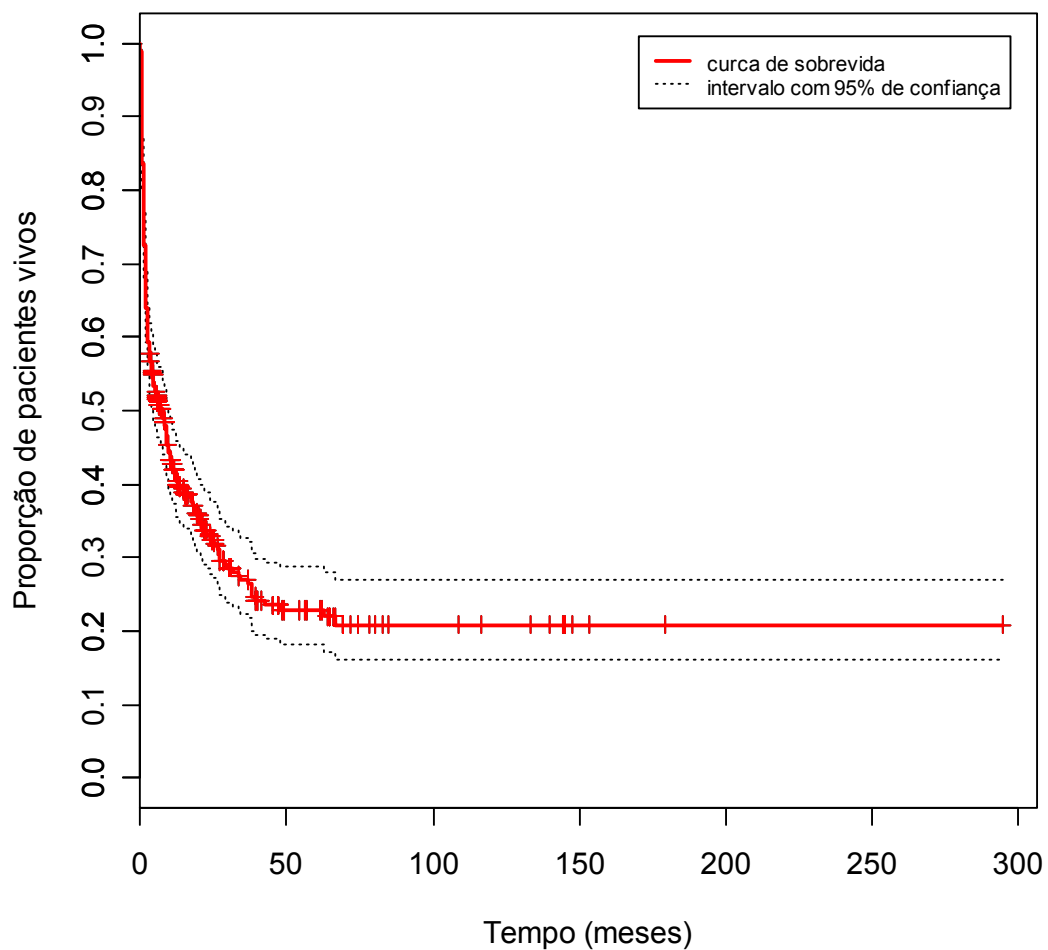


Figura 2 - Sobrevida global dos pacientes com tratamento curativo

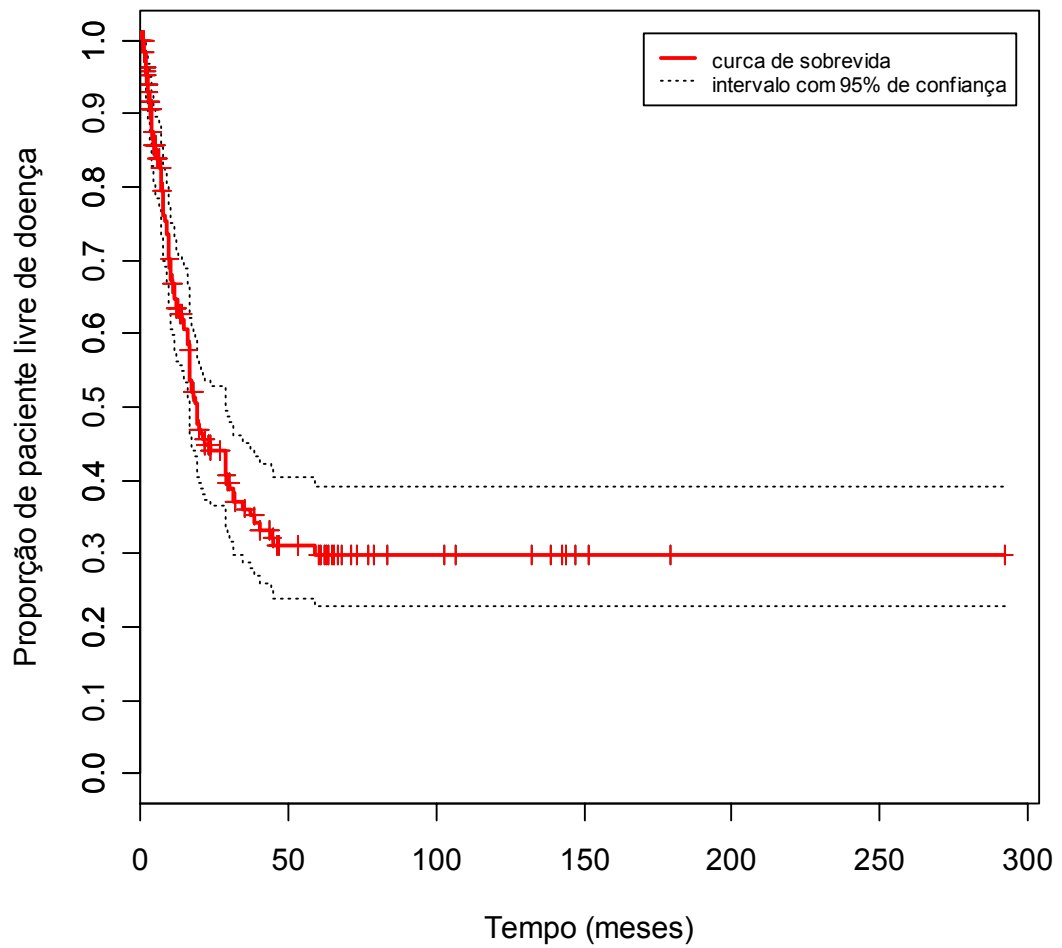


Figura 3 - Sobrevida livre de doença dos pacientes com tratamento curativo

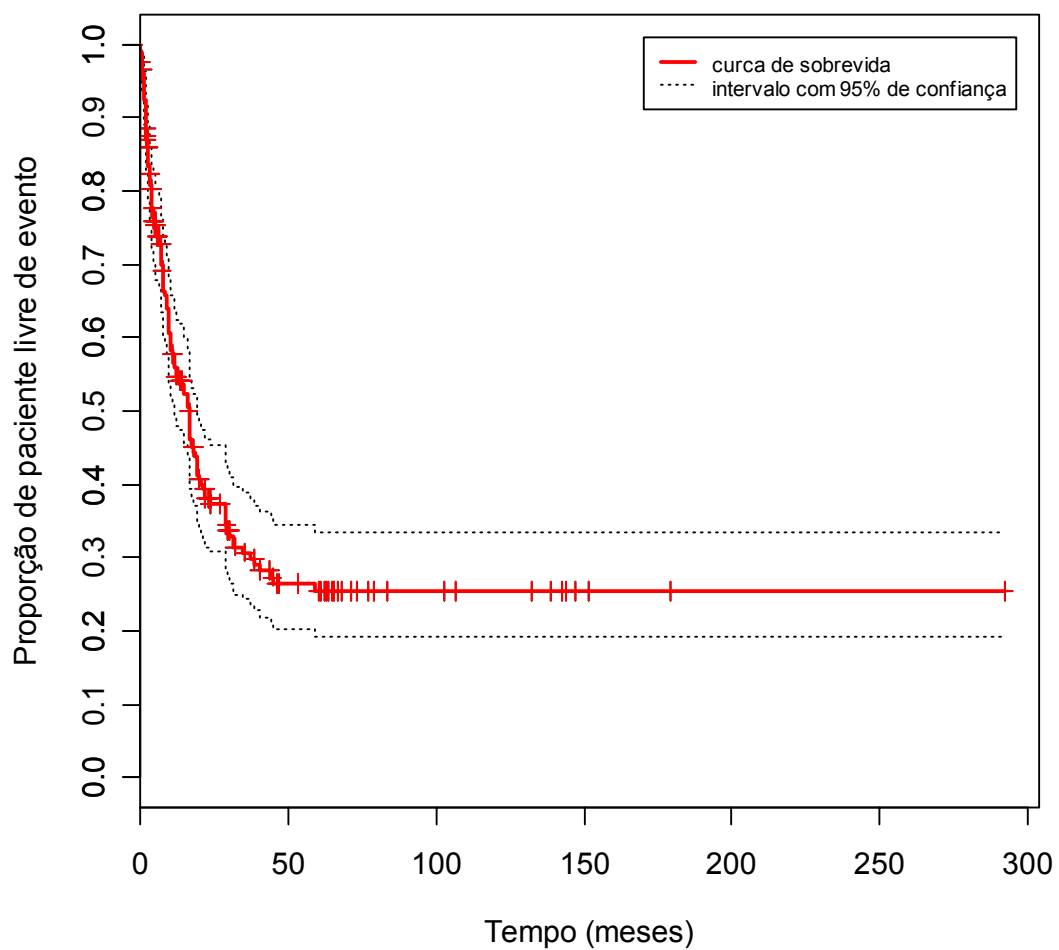


Figura 4 - Sobrevida livre de eventos dos pacientes com tratamento curativo

4.3.2. Leucemias mielóides agudas não promielocíticas

As medianas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos estimadas, considerando os 295 pacientes com Leucemias mielóides agudas não promielocíticas, podem ser vistas na Tabela 12.

Tabela 12 - Dados de Sobrevida dos pacientes com Leucemias mielóides agudas não promielocíticas

Evento global	sobrevida global (meses)	N	mediana
	censura	98	15,23
	evento	197	2,10
	Total	295	5,10
Evento livre de doença	sobrevida livre de doença (meses)	N	mediana
	censura	66	6,35
	evento	83	9,53
	Total	149	9,37
Evento livre de evento	sobrevida livre de eventos (meses)	N	mediana
	censura	49	22,83
	evento	100	8,37
	Total	149	9,37

As curvas da Sobrevida global, livre de doença e livre de eventos destes pacientes estão apresentadas nas Figuras 4 a 6.

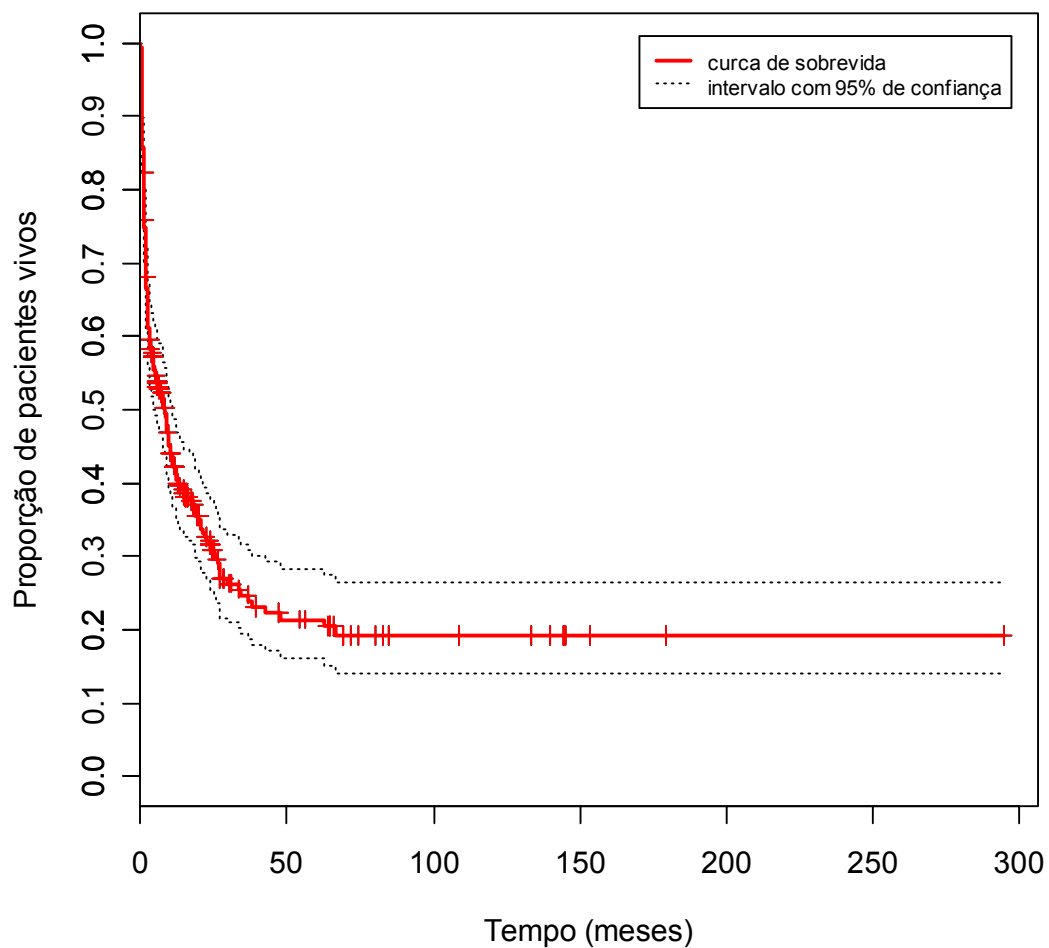


Figura 5 - Sobrevida global dos pacientes com Leucemias mielóides agudas não promielocíticas com tratamento curativo

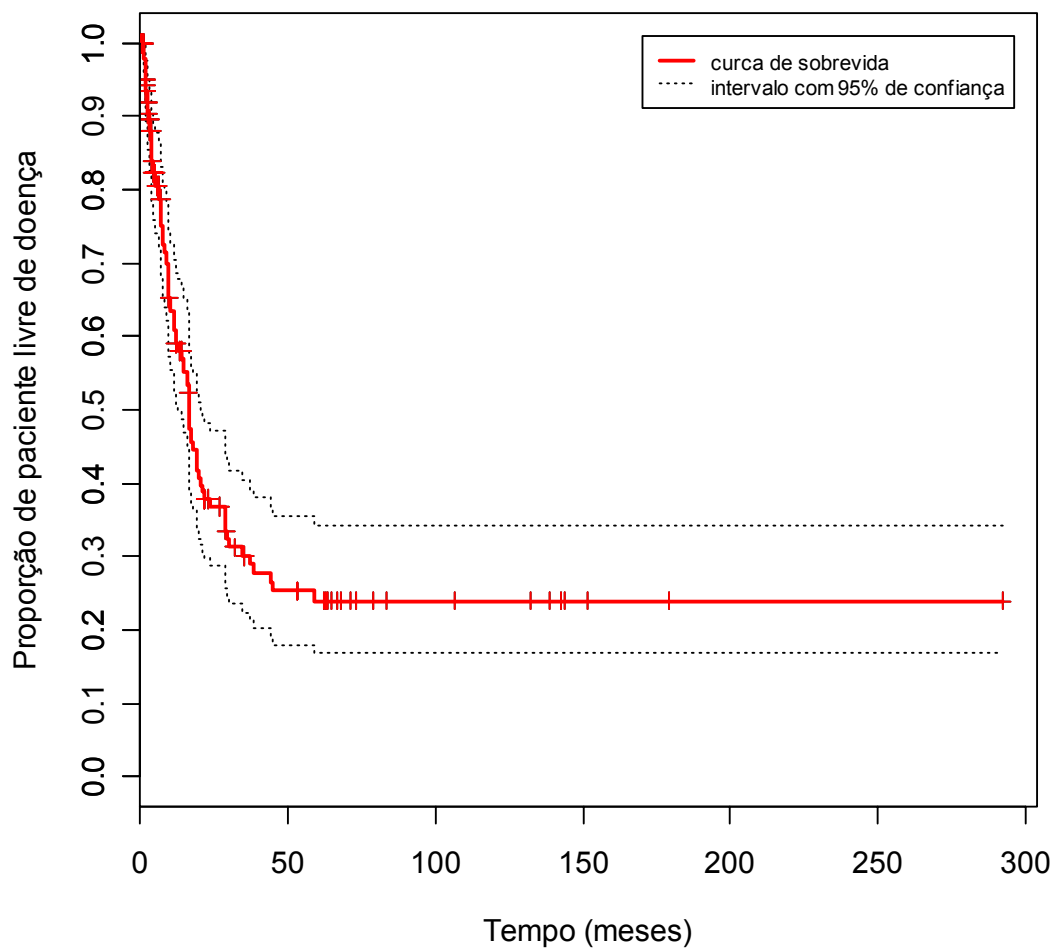


Figura 6 - Sobrevida livre de doença dos pacientes com Leucemias mielóides agudas não promielocíticas com tratamento curativo

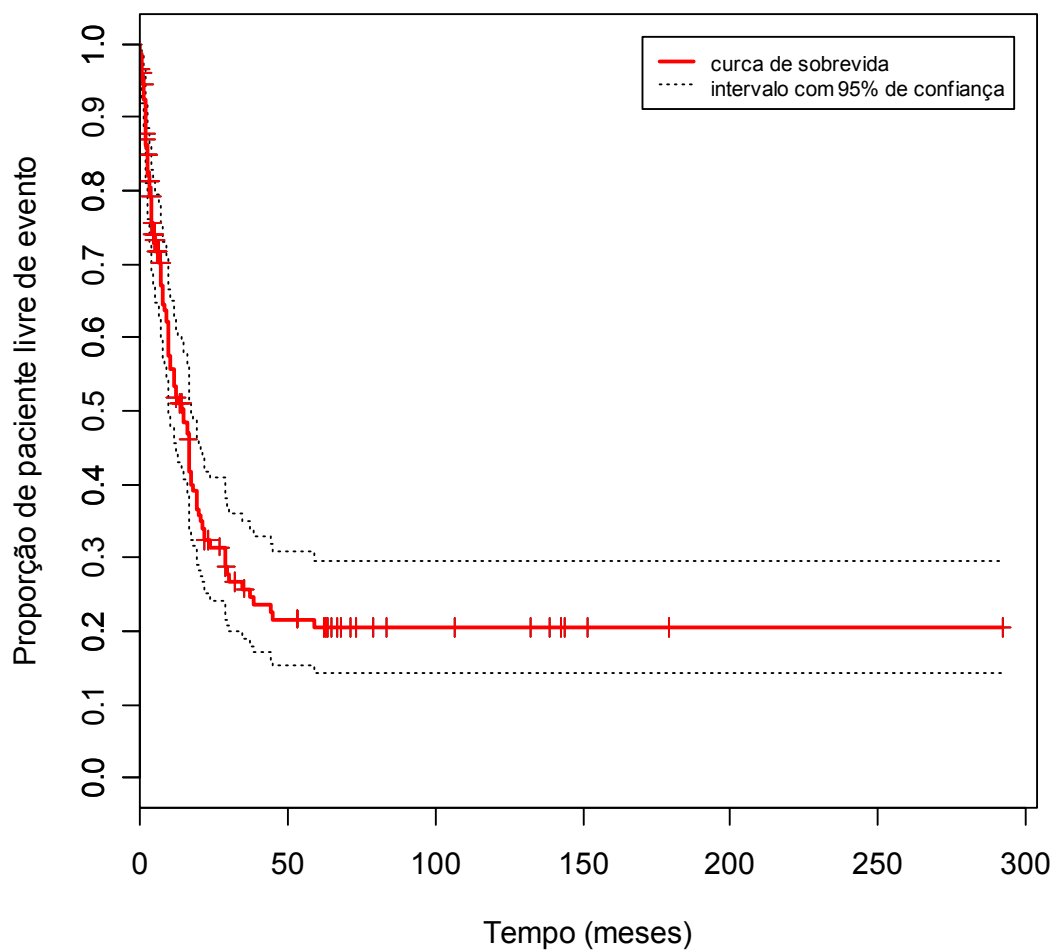


Figura 7 - Sobrevida livre de eventos dos pacientes com Leucemias mielóides agudas não promielocíticas com tratamento curativo

4.3.3. Leucemias promielocíticas agudas (FAB M3)

As medianas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos estimadas, considerando os 71 pacientes com Leucemia promielocítica aguda, podem ser vistas na Tabela 13.

Tabela 13 - Dados de Sobrevida dos pacientes com Leucemia promielocítica aguda

	sobrevida global (meses)	N	mediana
Evento global	censura	28	24,97
	evento	43	1,00
	Total	71	4,40
	sobrevida livre de doença (meses)	N	mediana
Evento livre de doença	censura	30	20,72
	evento	12	9,82
	Total	42	15,12
	sobrevida livre de eventos (meses)	N	mediana
Evento livre de evento	censura	22	26,55
	evento	20	7,32
	Total	42	15,12

As curvas da Sobrevida global, livre de doença e livre de eventos destes pacientes estão apresentadas nas Figuras 7 a 9.

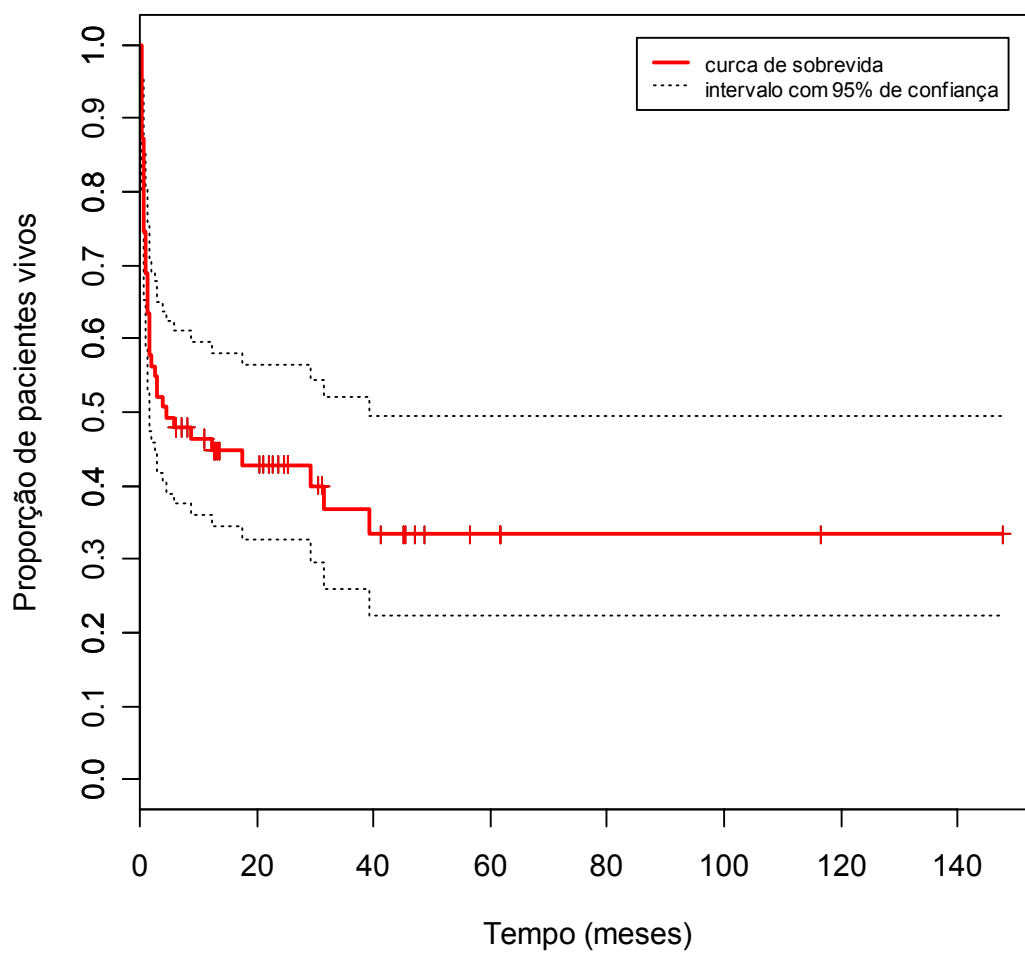


Figura 8 - Sobrevida global dos pacientes com Leucemia promielocítica aguda com tratamento curativo

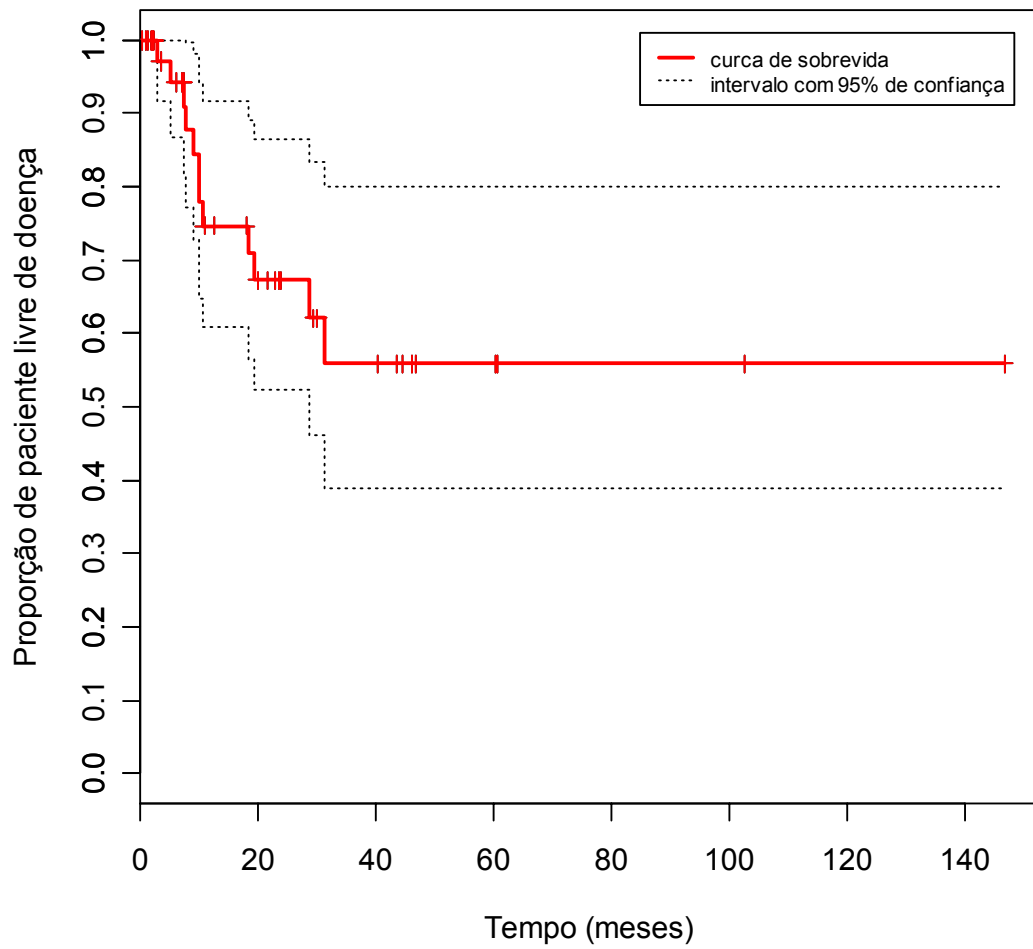


Figura 9 - Sobrevida livre de doença dos pacientes com Leucemia promielocítica aguda com tratamento curativo

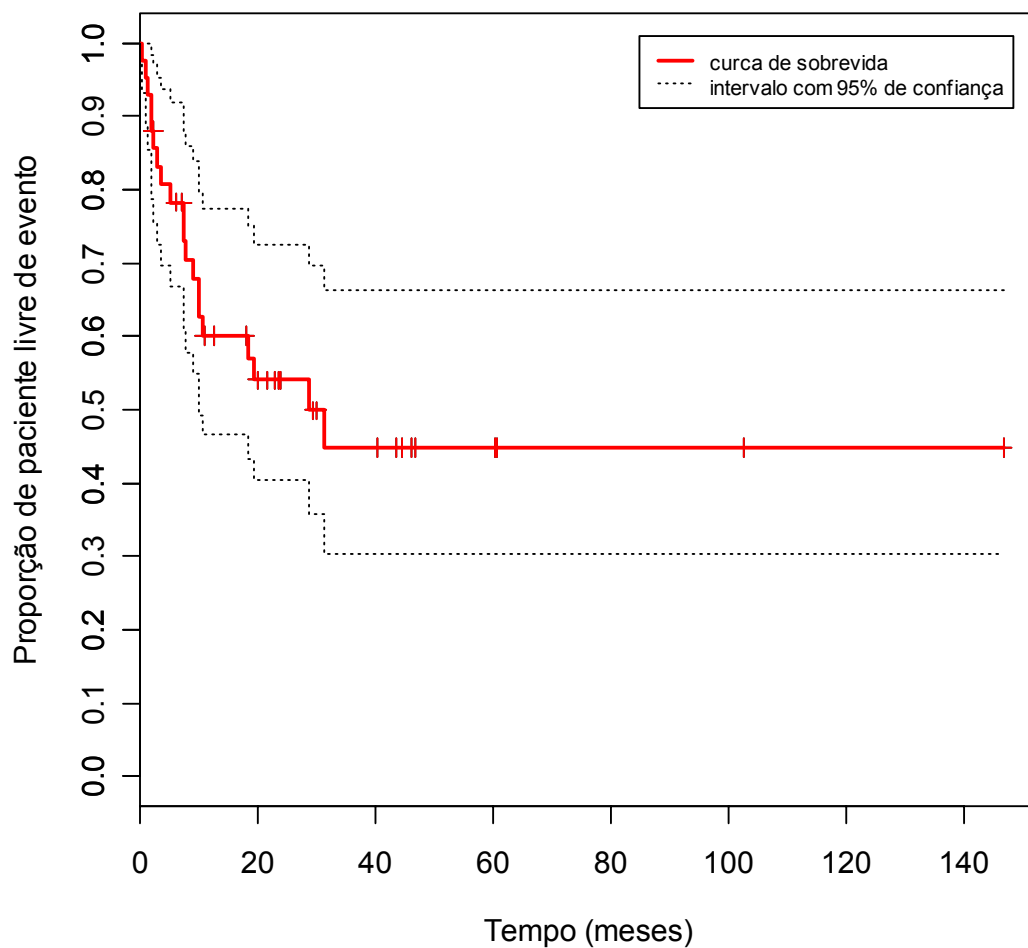


Figura 10 - Sobrevida livre de eventos dos pacientes com Leucemia promielocítica aguda com tratamento curativo

4.3.4. Sobrevida, de acordo com a Idade

Determinamos as idades de todos os pacientes e obtivemos as medianas estimadas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos, conforme trazem a Tabela 14 e as Figuras 10 a 12. Houve diferença estatisticamente significativa na sobrevida global ($p=0,0014$), entre os grupos abaixo e maior ou igual a 60 anos.

Tabela 14 - Sobrevida (meses), de acordo com a Idade

		Idade (anos)	N	mediana	p
sobrevida global	menos de 60 anos	censura	115	20,27	0,0014
		evento	200	1,90	
		Total	315	5,83	
	60 anos ou mais	censura	17	16,07	
		evento	68	1,68	
		Total	85	1,90	
sobrevida livre de doença	menos de 60 anos	censura	90	15,10	0,2150
		evento	83	9,30	
		Total	173	9,80	
	60 anos ou mais	censura	12	2,87	
		evento	18	15,67	
		Total	30	12,82	
sobrevida livre de eventos	menos de 60 anos	censura	71	23,70	0,0505
		evento	102	7,70	
		Total	173	9,80	
	60 anos ou mais	censura	5	29,00	
		evento	25	11,17	
		Total	30	12,82	

A probabilidade estimada de sobrevida global de acordo com a idade, em 60 meses, foi de 26,91% para o grupo abaixo de 60 anos e 6,75% para aqueles com idade maior ou igual a 60 anos. Esta curva pode ser visualizada a seguir, bem como as curvas de sobrevida livre de doença e de sobrevida livre de eventos.

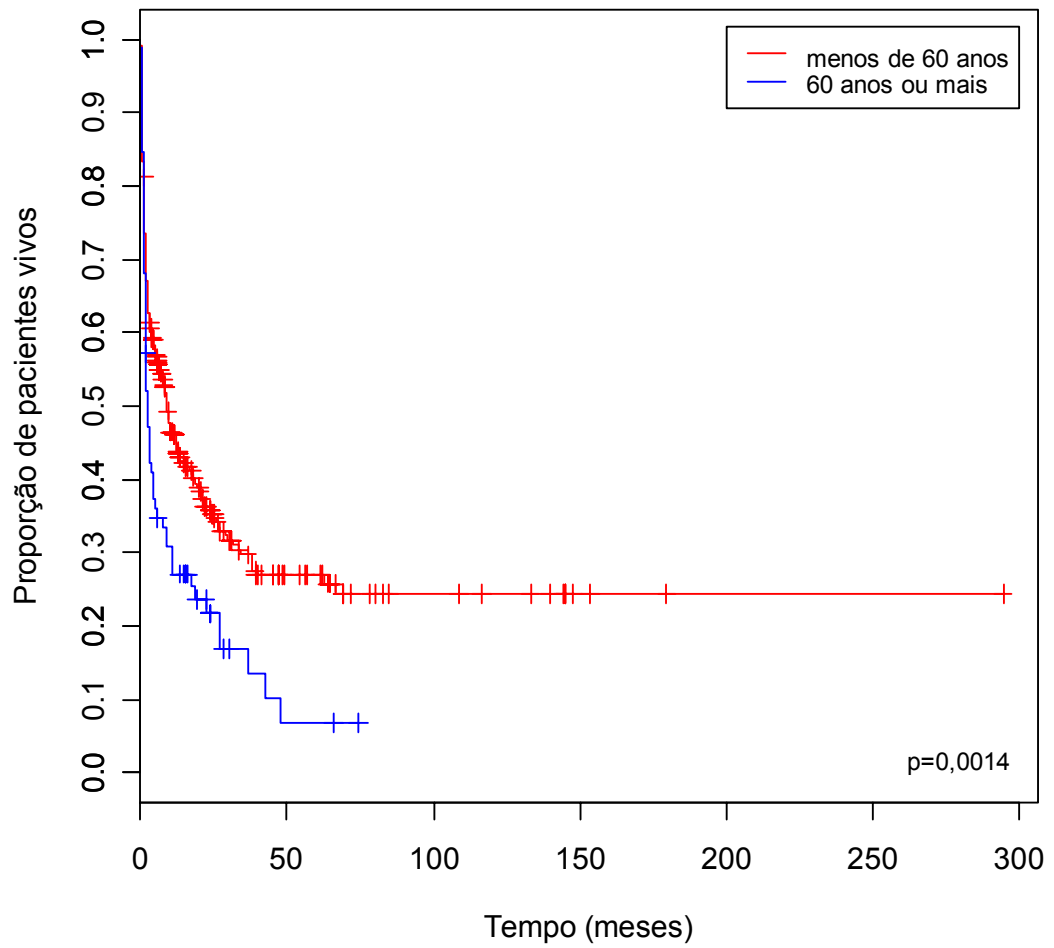


Figura 11 - Sobrevida global dos pacientes com tratamento curativo, de acordo com a idade

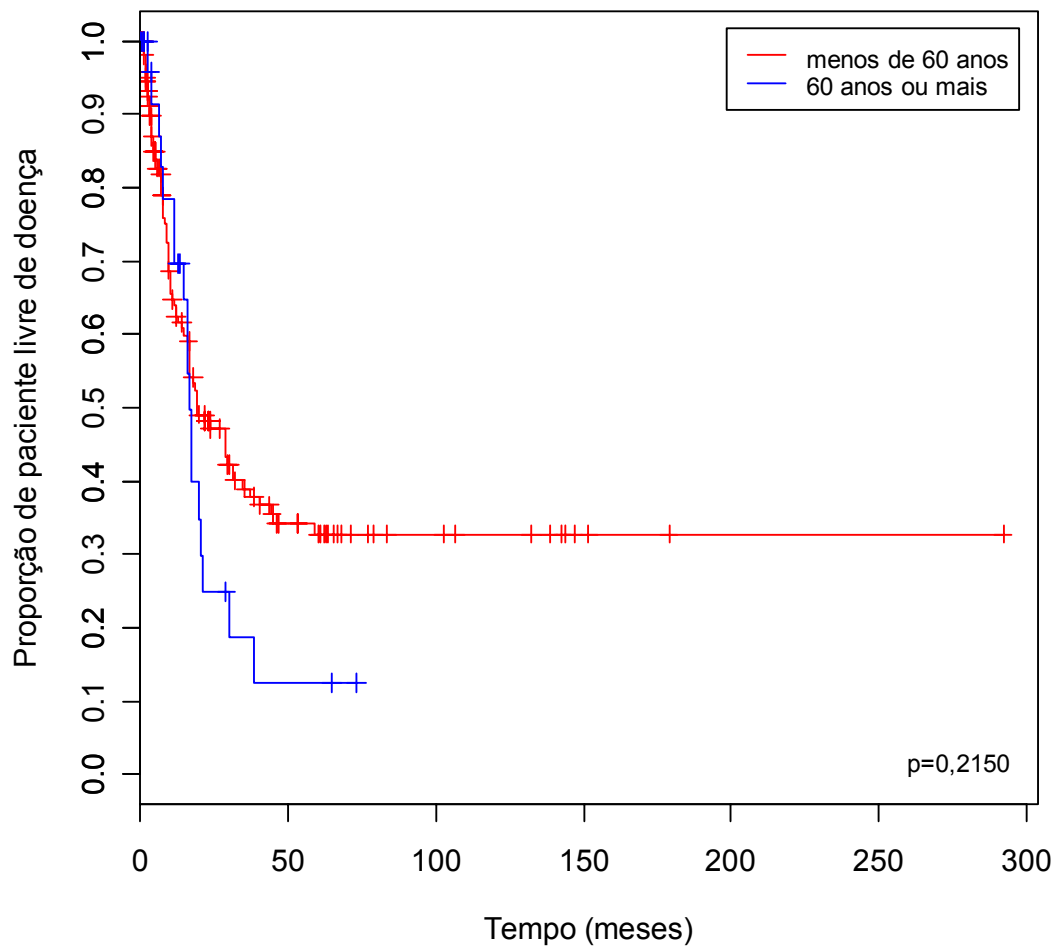


Figura 12 - Sobrevida livre de doença dos pacientes com tratamento curativo, de acordo com a idade

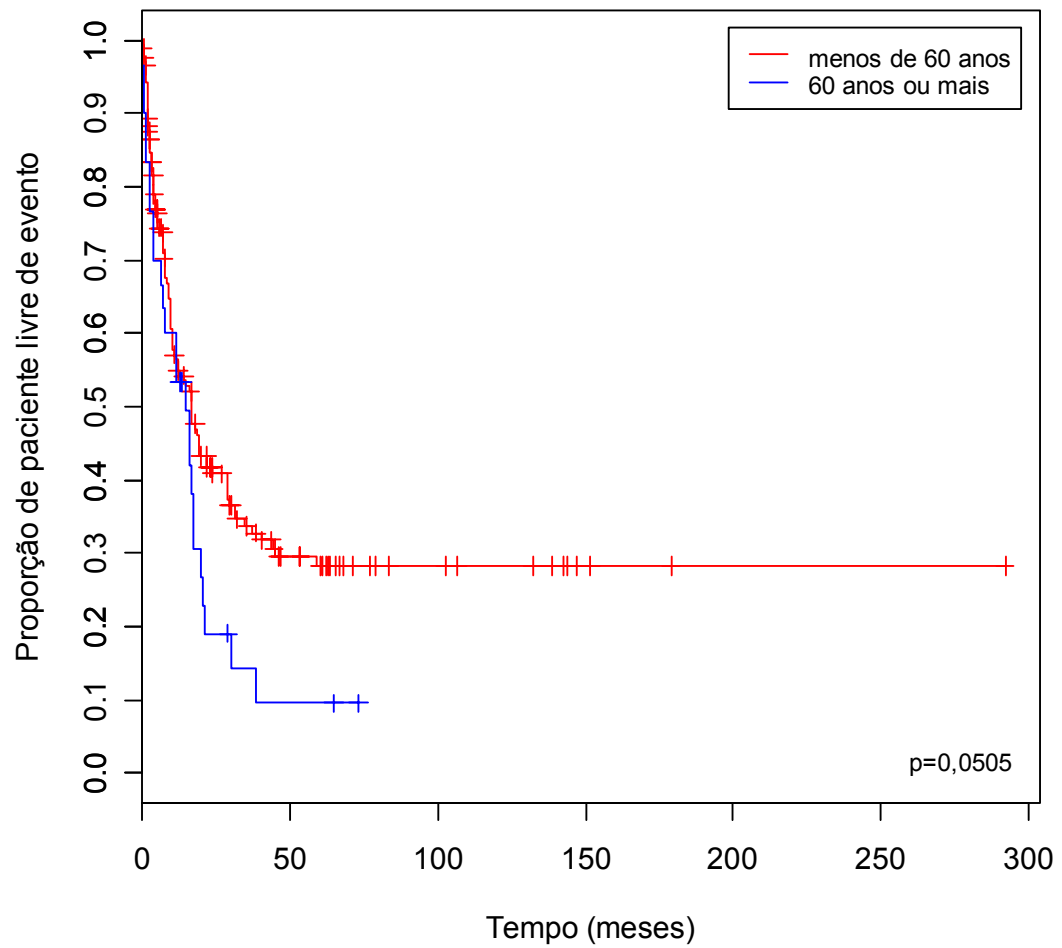


Figura 13 - Sobrevida livre de eventos dos pacientes com tratamento curativo, de acordo com a idade

4.3.5 Sobrevida, de acordo com a Positividade dos Blastos para Peroxidase (excluídas as leucemias promielocíticas agudas - FAB M3).

Dentre aqueles pacientes tratados curativamente, que tiveram registrados seus percentuais de blastos positivos para a reação citoquímica com mieloperoxidase e não eram portadores de leucemias promielocíticas, estimamos as medianas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos (ver Tabela 15 e Figuras 13 a 15). Houve diferença estatística apenas para a sobrevida livre de doença ($p=0,0409$).

Tabela 15 - Sobrevida, de acordo com a Positividade dos Blastos para Peroxidase

	Positividade		N	mediana	p
sobrevida global	menor que 50%	censura	21	15,57	0,9755
		evento	35	2,83	
		Total	56	7,25	
	50% ou mais	censura	9	16,07	
		evento	12	5,23	
		Total	21	5,87	
sobrevida livre de doença	menor que 50%	censura	19	12,10	0,0409
		evento	13	8,50	
		Total	32	10,43	
	50% ou mais	censura	5	4,63	
		evento	10	7,18	
		Total	15	6,83	
sobrevida livre de evento	menor que 50%	censura	14	15,10	0,0899
		evento	18	6,62	
		Total	32	10,43	
	50% ou mais	censura	3	4,63	
		evento	12	6,92	
		Total	15	6,83	

As curvas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos de cada grupo, de acordo com a positividade para mieloperoxidase, são mostradas a seguir.

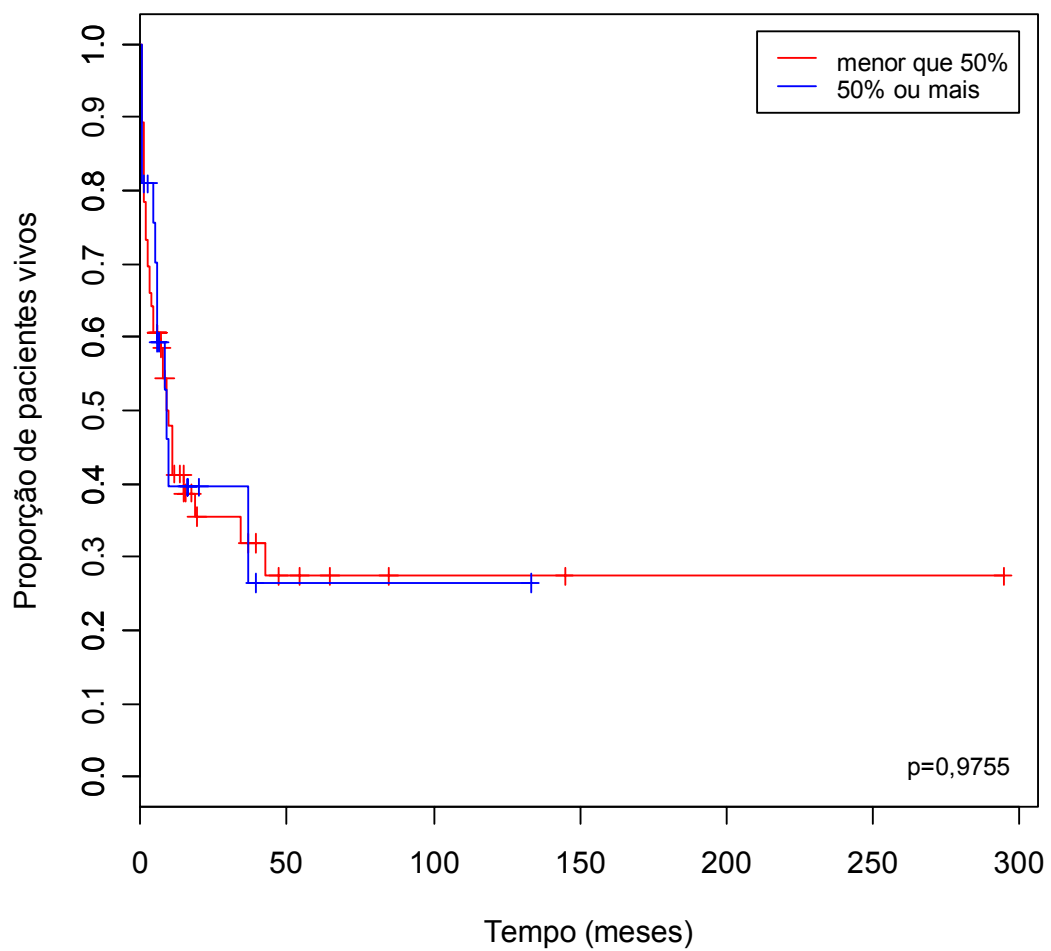


Figura 14 - Sobrevida global, de acordo com os blastos positivos para peroxidase

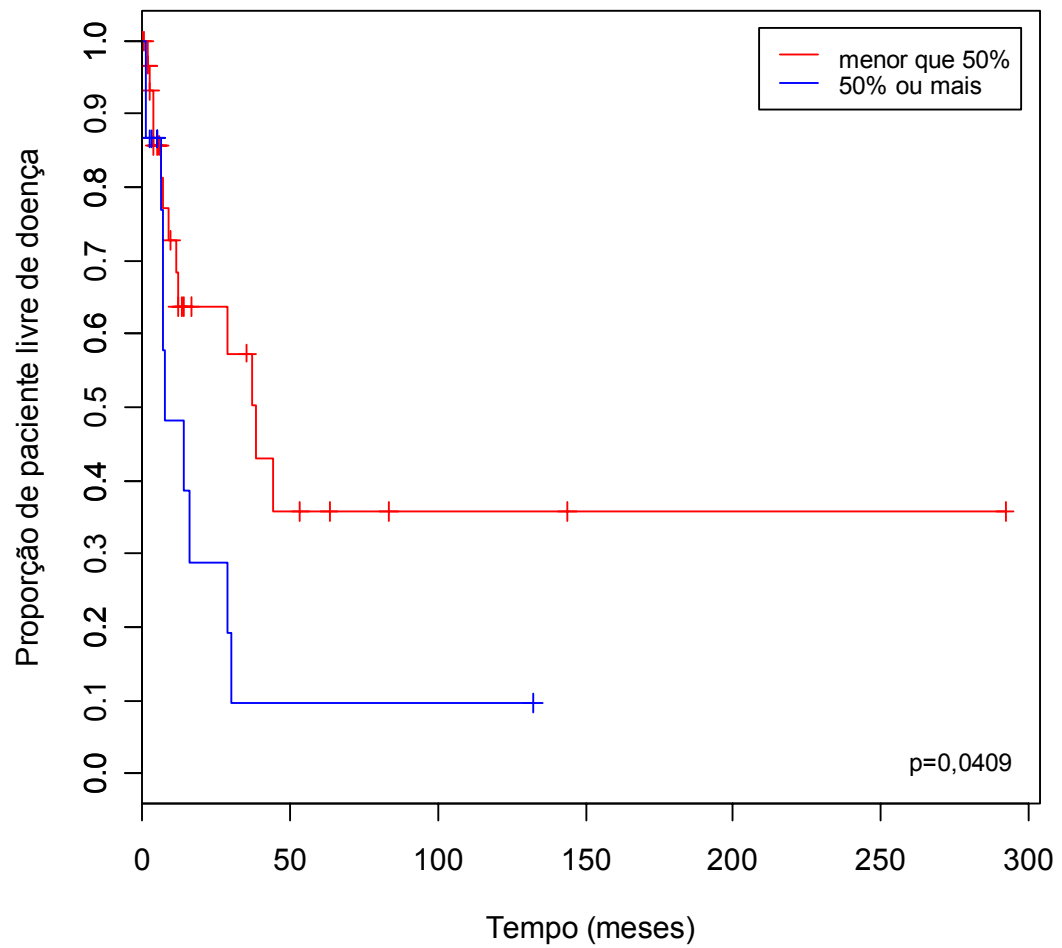


Figura 15 - Sobrevida livre de doença, de acordo com os blastos positivos para peroxidase

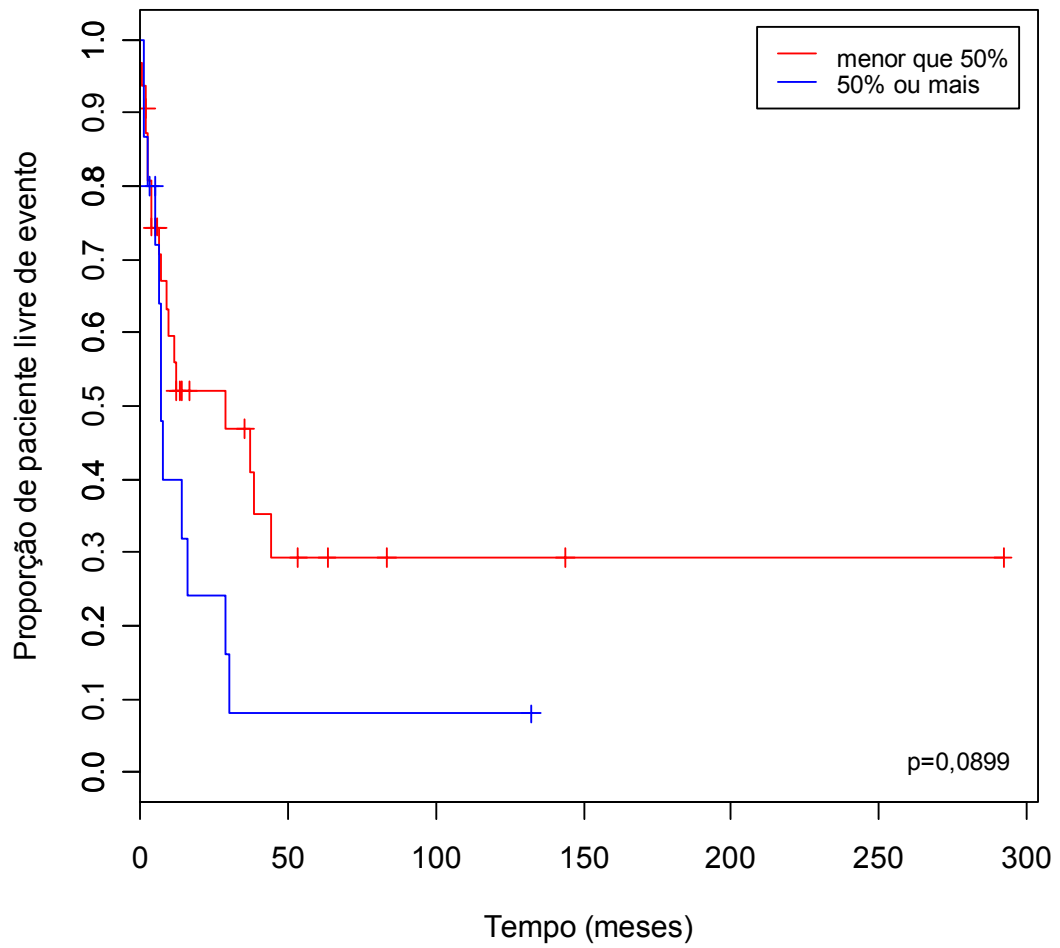


Figura 16 - Sobrevida livre de eventos, de acordo com os blastos positivos para peroxidase

4.3.6. Sobrevida, de acordo com o Prognóstico Citogenético

Dentre aqueles pacientes que tiveram seus cariótipos colhidos e viáveis para a análise citogenética, analisamos as medianas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos (ver Tabela 16 e Figuras 17 a 19). Do ponto de vista estatístico, observamos diferenças significantes para as sobrevidas global ($p=0,0024$), livre de doença ($p=0,0017$) e livre de eventos ($p=0,0029$).

Tabela 16 - Sobrevida, de acordo com o prognóstico citogenético

	Prognóstico		N	mediana	p
sobrevida global	bom	censura	26	30,77	0,0024
		evento	19	1,13	
		Total	45	20,90	
	regular	censura	30	16,77	
		evento	54	1,48	
		Total	84	5,20	
	ruim	censura	7	6,27	
		evento	28	4,52	
		Total	35	5,83	
sobrevida livre de doença	bom	censura	28	23,63	0,0017
		evento	8	14,87	
		Total	36	22,18	
	regular	censura	26	13,58	
		evento	20	9,65	
		Total	46	12,68	
	ruim	censura	11	2,37	
		evento	6	3,90	
		Total	17	3,70	
sobrevida livre de eventos	bom	censura	22	31,05	0,0029
		evento	14	8,08	
		Total	36	22,18	
	regular	censura	19	26,83	
		evento	27	7,37	
		Total	46	12,68	
	ruim	censura	7	4,80	
		evento	10	2,33	
		Total	17	3,70	

A seguir, são demonstradas as curvas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos de cada grupo, de acordo com o prognóstico citogenético.

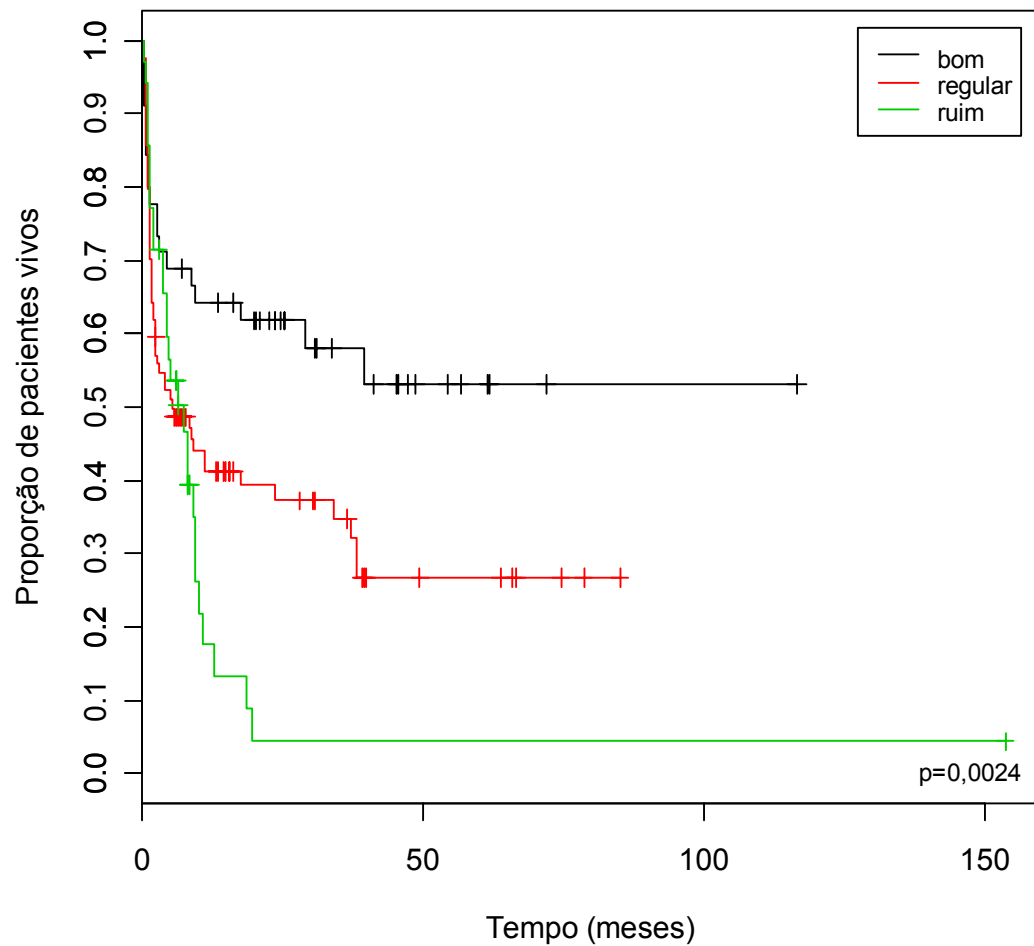


Figura 17 - Sobrevida global, de acordo com o prognóstico citogenético

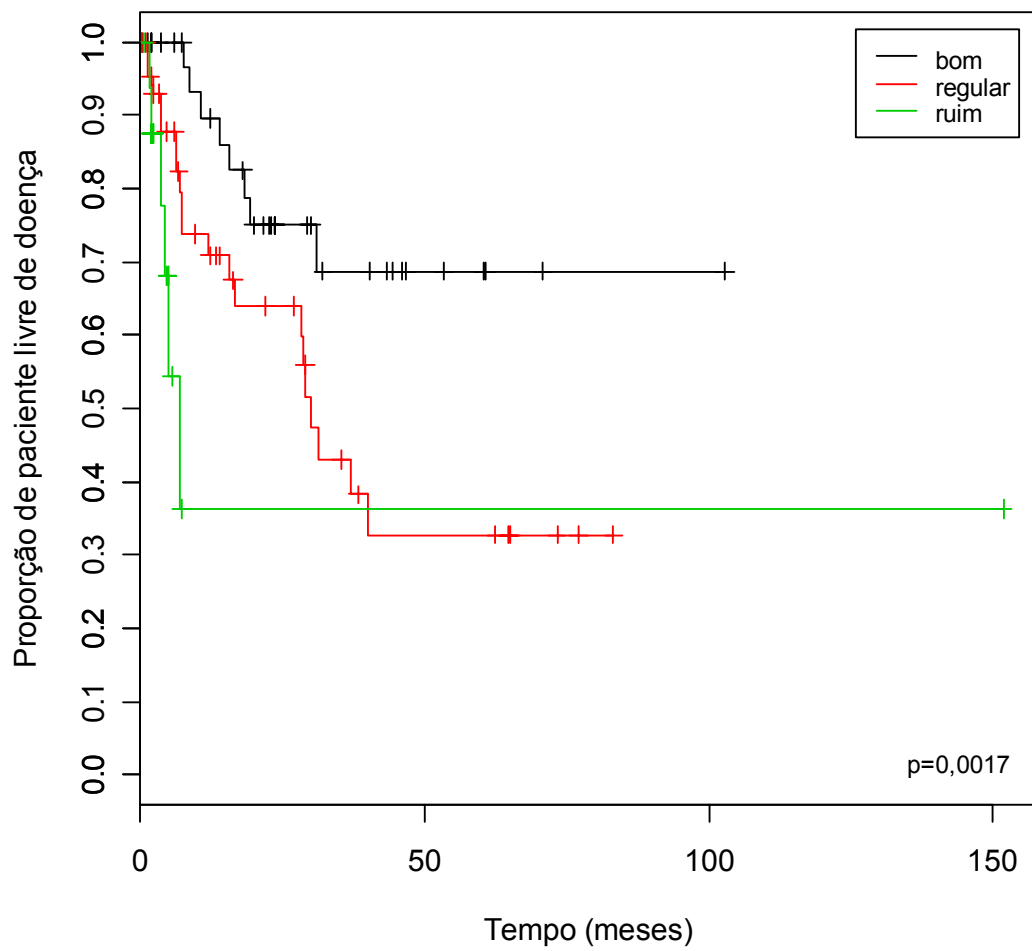


Figura 18 - Sobrevida livre de doença, de acordo com o prognóstico citogenético

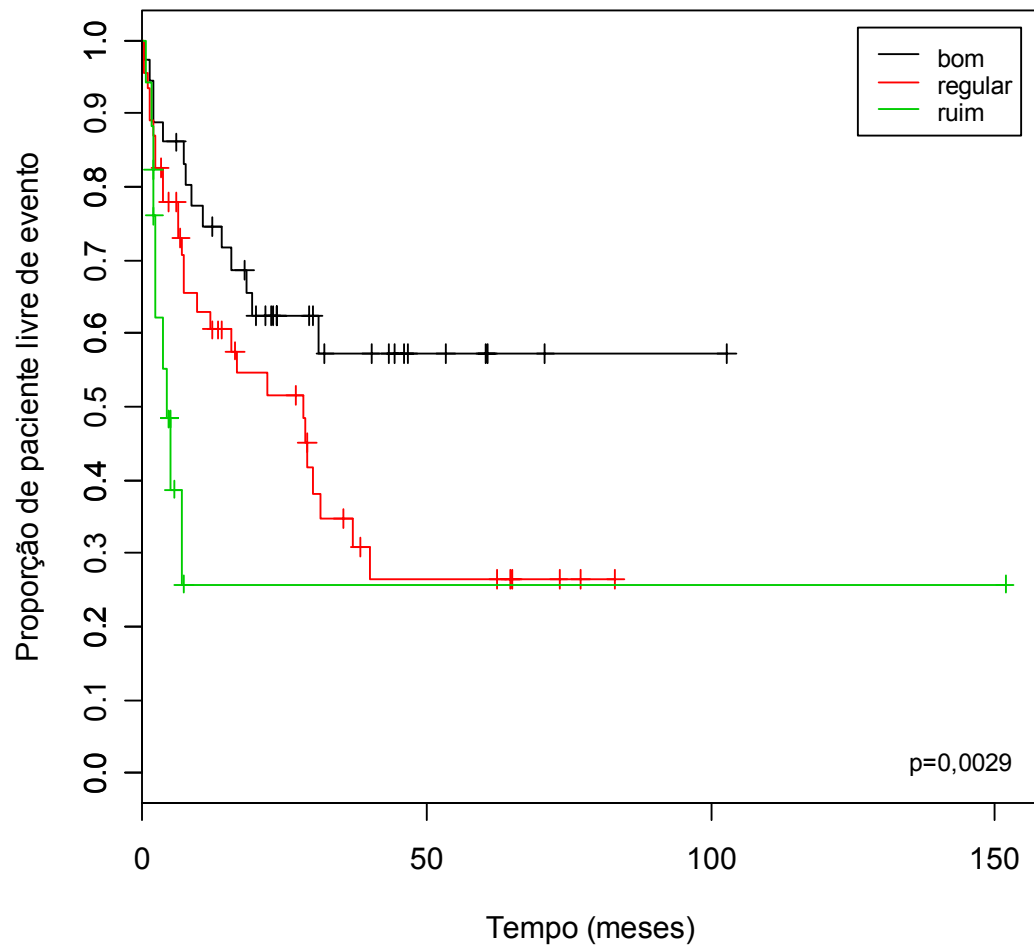


Figura 19 - Sobrevida livre de eventos, de acordo com o prognóstico citogenético

4.3.7. Sobrevida, de acordo com o Protocolo de Tratamento

Considerando o total de 400 pacientes tratados com intenção de cura, verificamos as medianas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos separadamente, por protocolo. As Tabelas 17 a 19 e as Figuras 19 a 21 agrupam os resultados, com diferença estatisticamente significativa apenas para a sobrevida livre de doença ($p=0,0034$).

Tabela 17 - Sobrevida global, de acordo com o Protocolo de Tratamento

Protocolo		N	mediana	p
D2A5T5	censura	12	7,67	0,4215
	evento	34	6,90	
	Total	46	6,90	
D3A7 intensificado	censura	43	30,97	
	evento	73	1,87	
	Total	116	5,87	
D3A7 original	censura	47	12,70	
	evento	91	1,53	
	Total	138	4,07	
DAT	censura	12	17,90	
	evento	28	2,02	
	Total	40	4,18	
M3A7	censura	5	15,37	
	evento	20	1,78	
	Total	25	4,13	
R1A5T5	censura	8	7,93	
	evento	7	3,50	
	Total	15	5,63	
Outros	censura	5	20,90	
	evento	15	1,20	
	Total	20	1,55	

Tabela 18 - Sobrevida livre de doença, de acordo com o Protocolo de Tratamento

Protocolo		N	mediana	p
D2A5T5	censura	4	122,57	0,0034
	evento	18	9,45	
	Total	22	9,83	
D3A7 intensificado	censura	47	22,77	
	evento	22	8,48	
	Total	69	16,57	
D3A7 original	censura	31	5,43	
	evento	39	11,17	
	Total	70	8,72	
DAT	censura	7	4,47	
	evento	11	14,53	
	Total	18	11,83	
M3A7	censura	5	13,27	
	evento	4	10,92	
	Total	9	13,27	
R1A5T5	censura	2	89,62	
	evento	5	8,23	
	Total	7	8,23	
Outros	censura	6	9,33	
	evento	2	24,17	
	Total	8	16,62	

Tabela 19 - Sobrevida livre de eventos, de acordo com o Protocolo de Tratamento

Protocolo		N	mediana	p
D2A5T5	censura	4	122,57	0,2340
	evento	18	9,45	
	Total	22	9,83	
D3A7 intensificado	censura	34	31,05	
	evento	35	5,03	
	Total	69	16,57	
D3A7 original	censura	23	7,00	
	evento	47	9,17	
	Total	70	8,72	
DAT	censura	6	28,80	
	evento	12	11,83	
	Total	18	11,83	
M3A7	censura	4	21,13	
	evento	5	6,17	
	Total	9	13,27	
R1A5T5	censura	2	89,62	
	evento	5	8,23	
	Total	7	8,23	
Outros	censura	3	19,83	
	evento	5	2,37	
	Total	8	16,62	

Adiante, podem ser visualizadas as curvas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos dos principais protocolos instituídos ao longo do tempo no HCFMUSP.

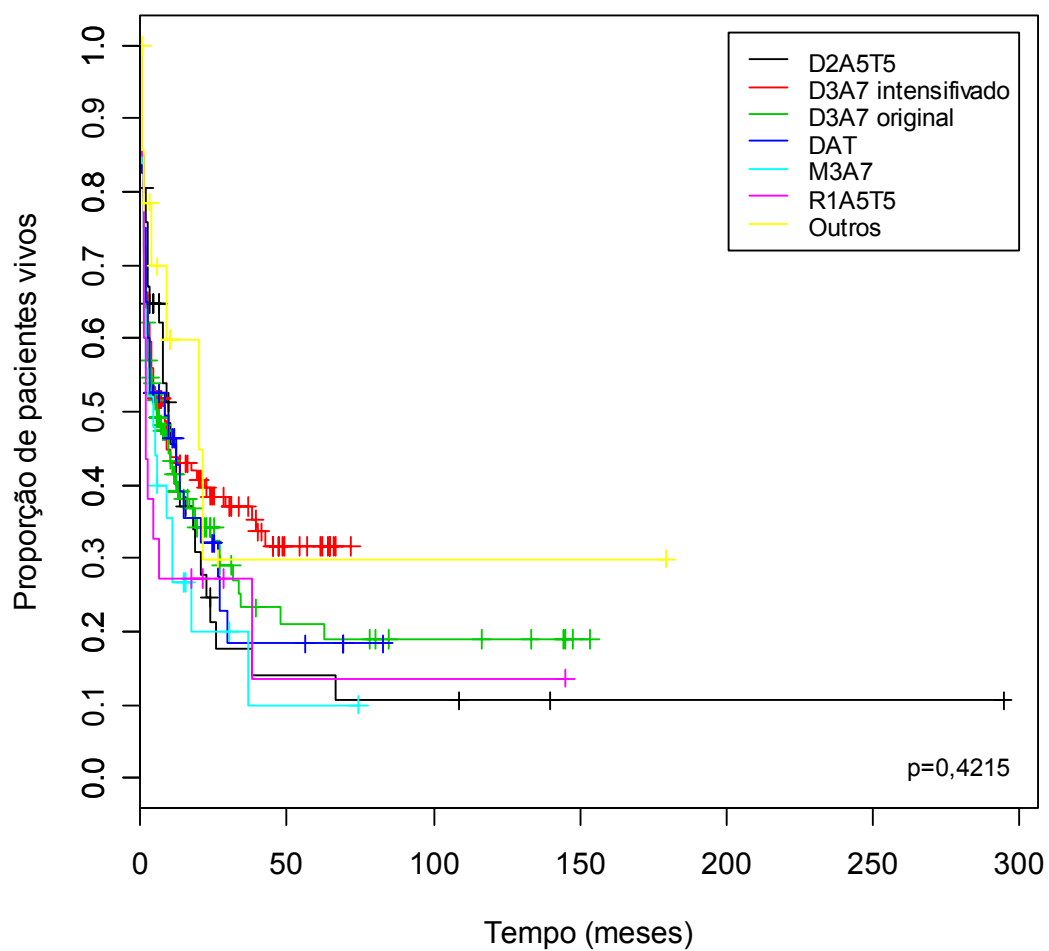


Figura 20 - Sobrevida global, de acordo com o protocolo de tratamento

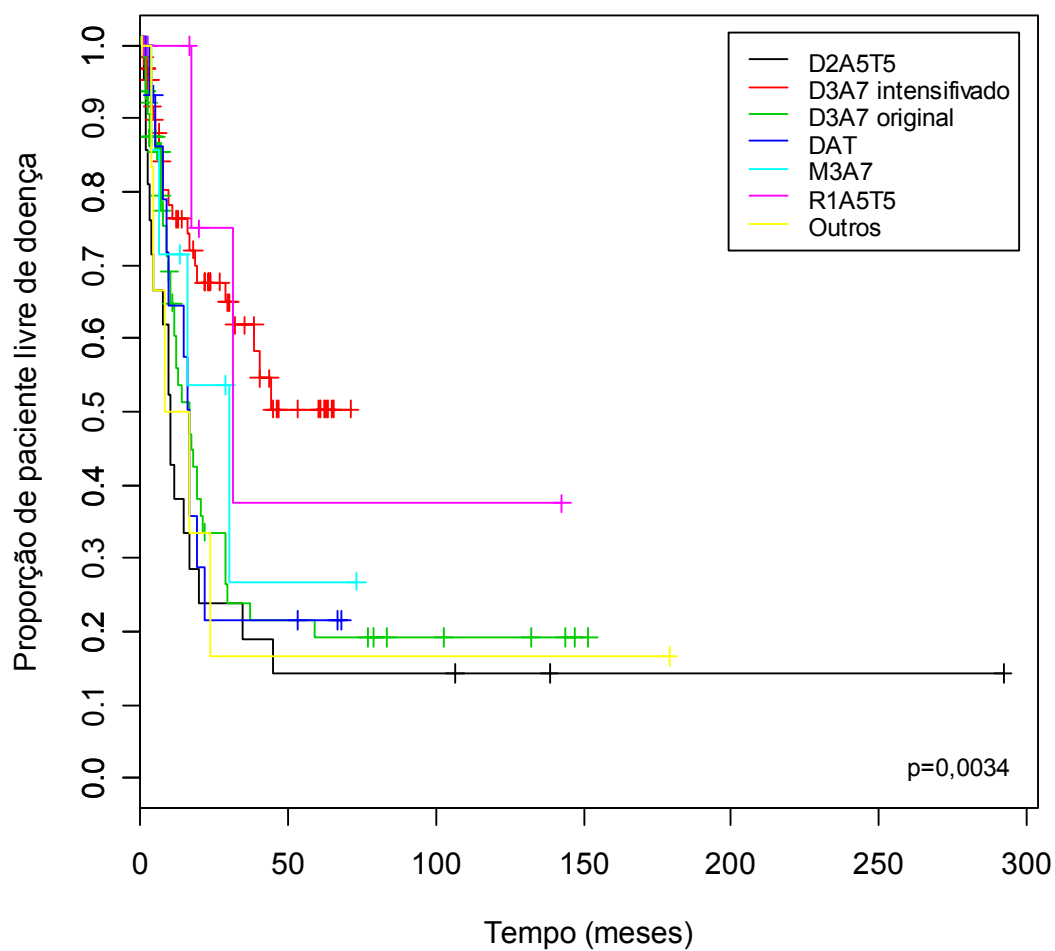


Figura 21 - Sobrevida livre de doença, de acordo com o protocolo de tratamento

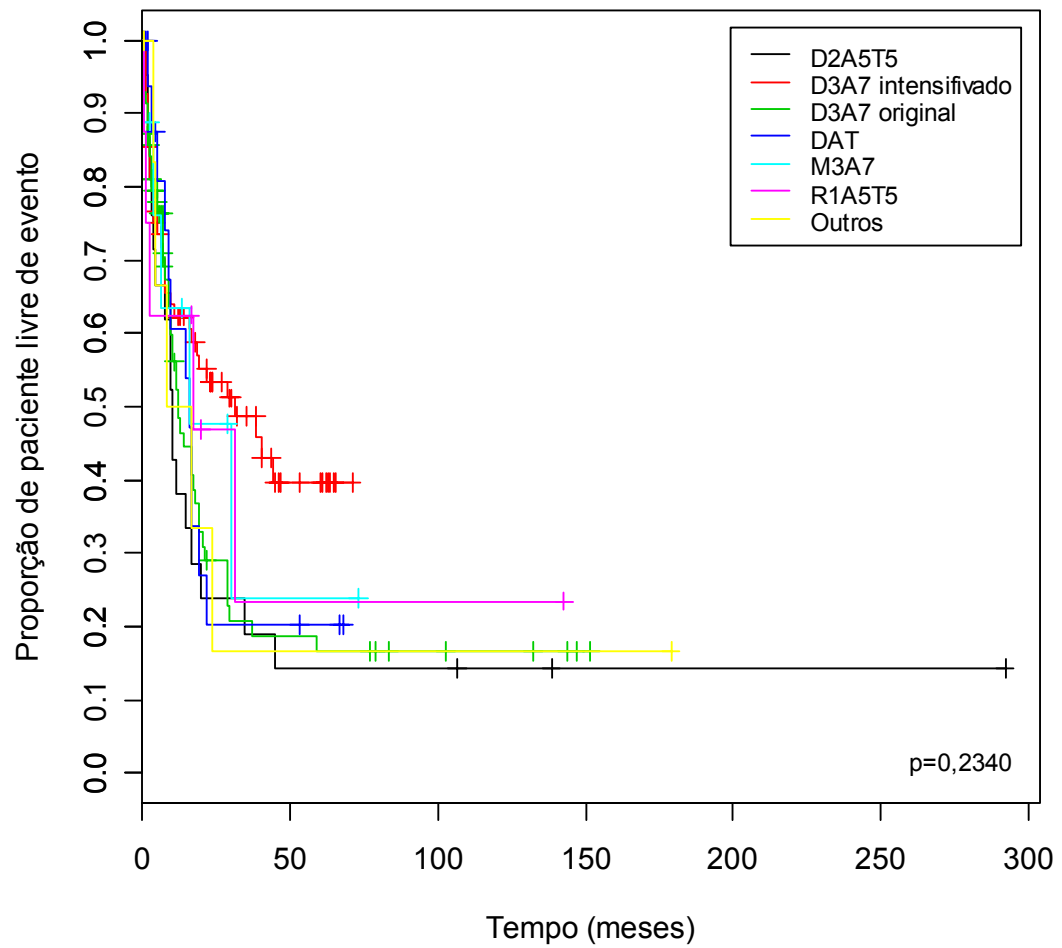


Figura 22 - Sobrevida livre de eventos, de acordo com o protocolo de tratamento

4.3.8. Sobrevida dos casos de leucemias mielóides agudas não promielocíticas, de acordo com o Protocolo de Tratamento

Os resumos das informações sobre a sobrevida global, livre de doença e livre de evento estão apresentados nas Tabelas 20 a 22 e nas Figuras 22 a 24.

É importante ressaltar que não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre os protocolos quanto a sobrevida global ($p=0,7245$), livre de doença ($p=0,2373$) e livre de eventos ($p=0,7802$).

Tabela 20 - Sobrevida global das LMA não promielocíticas, de acordo com o Protocolo de Tratamento

Protocolo		N	mediana	p
D2A5T5	censura	12	7,67	0,7245
	evento	30	7,75	
	Total	42	7,75	
D3A7 intensificado	censura	21	28,03	
	evento	43	1,40	
	Total	64	4,77	
D3A7 original	censura	37	11,40	
	evento	66	1,80	
	Total	103	5,10	
DAT	censura	11	24,37	
	evento	25	2,43	
	Total	36	5,12	
M3A7	censura	5	15,37	
	evento	16	1,40	
	Total	21	2,20	
R1A5T5	censura	8	7,93	
	evento	7	3,50	
	Total	15	5,63	
Outros	censura	4	22,82	
	evento	10	1,07	
	Total	14	1,20	

Tabela 21 - Sobrevida livre de doença das LMA não promielocíticas, de acordo com o Protocolo de Tratamento

Protocolo		N	mediana	p
D2A5T5	censura	4	122,57	0,2373
	evento	18	9,45	
	Total	22	9,83	
D3A7 intensificado	censura	20	22,37	
	evento	15	7,00	
	Total	35	12,10	
D3A7 original	censura	24	4,68	
	evento	31	11,90	
	Total	55	7,07	
DAT	censura	7	4,47	
	evento	10	15,10	
	Total	17	14,53	
M3A7	censura	5	13,27	
	evento	3	6,17	
	Total	8	9,72	
R1A5T5	censura	2	89,62	
	evento	5	8,23	
	Total	7	8,23	
Outros	censura	4	9,33	
	evento	1	16,93	
	Total	5	16,30	

Tabela 22 - Sobrevida livre de eventos das LMA não promielocíticas, de acordo com o Protocolo de Tratamento

Protocolo		N	mediana	p
D2A5T5	censura	4	122,57	0,7802
	evento	18	9,45	
	Total	22	9,83	
D3A7 intensificado	censura	14	33,73	
	evento	21	5,03	
	Total	35	12,10	
D3A7 original	censura	17	5,43	
	evento	38	9,43	
	Total	55	7,07	
DAT	censura	6	28,80	
	evento	11	14,53	
	Total	17	14,53	
M3A7	censura	4	21,13	
	evento	4	4,92	
	Total	8	9,72	
R1A5T5	censura	2	89,62	
	evento	5	8,23	
	Total	7	8,23	
Outros	censura	2	79,52	
	evento	3	2,37	
	Total	5	16,30	

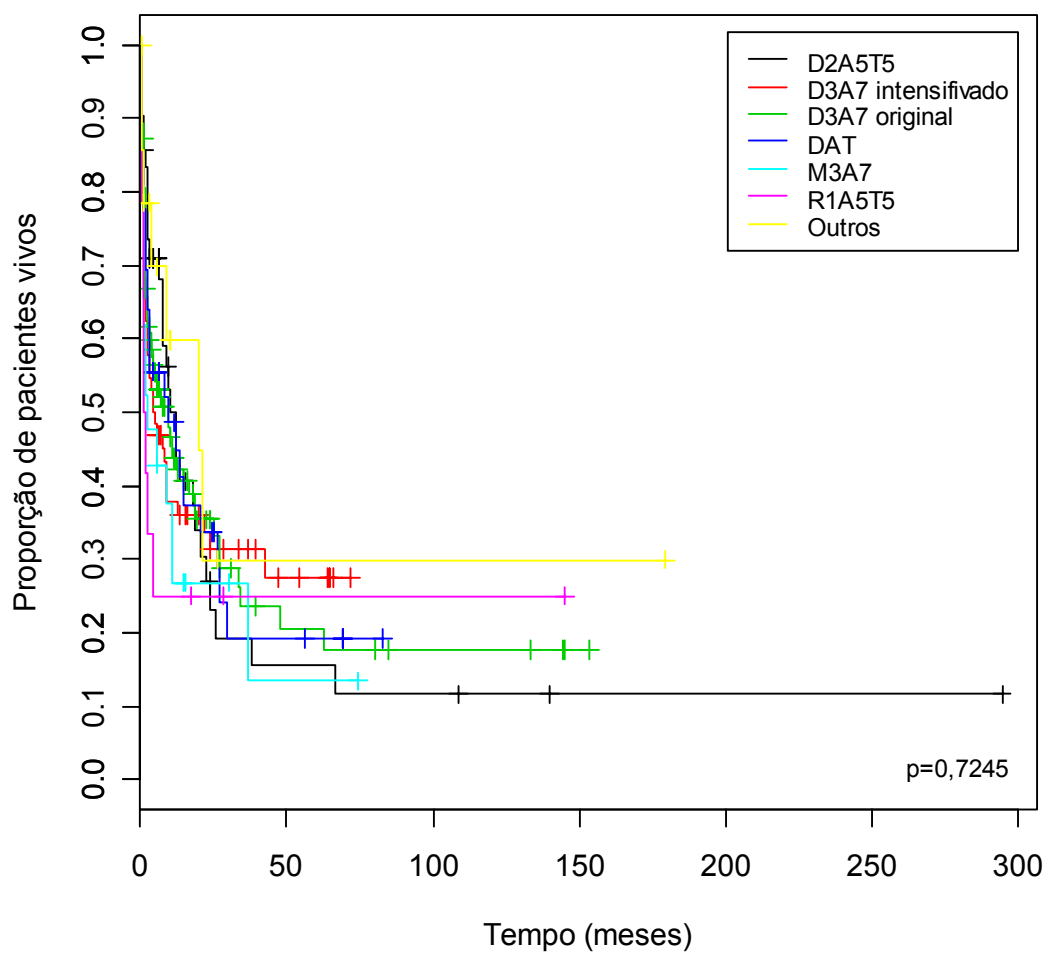


Figura 23 - Sobrevida global dos casos de Leucemias mielóides agudas não promielocíticas, de acordo com o protocolo de tratamento

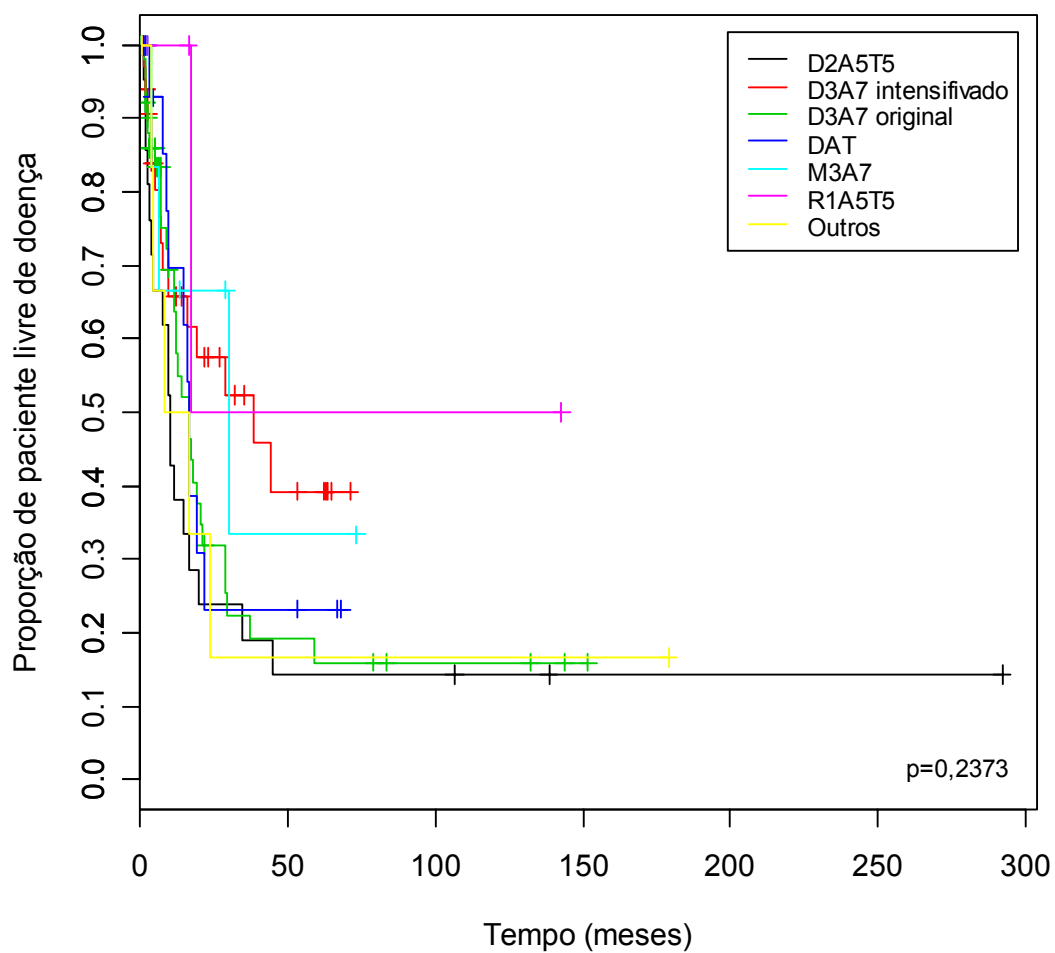


Figura 24 - Sobrevida livre de doença dos casos de Leucemias mielóides agudas não promielocíticas, de acordo com o protocolo de tratamento

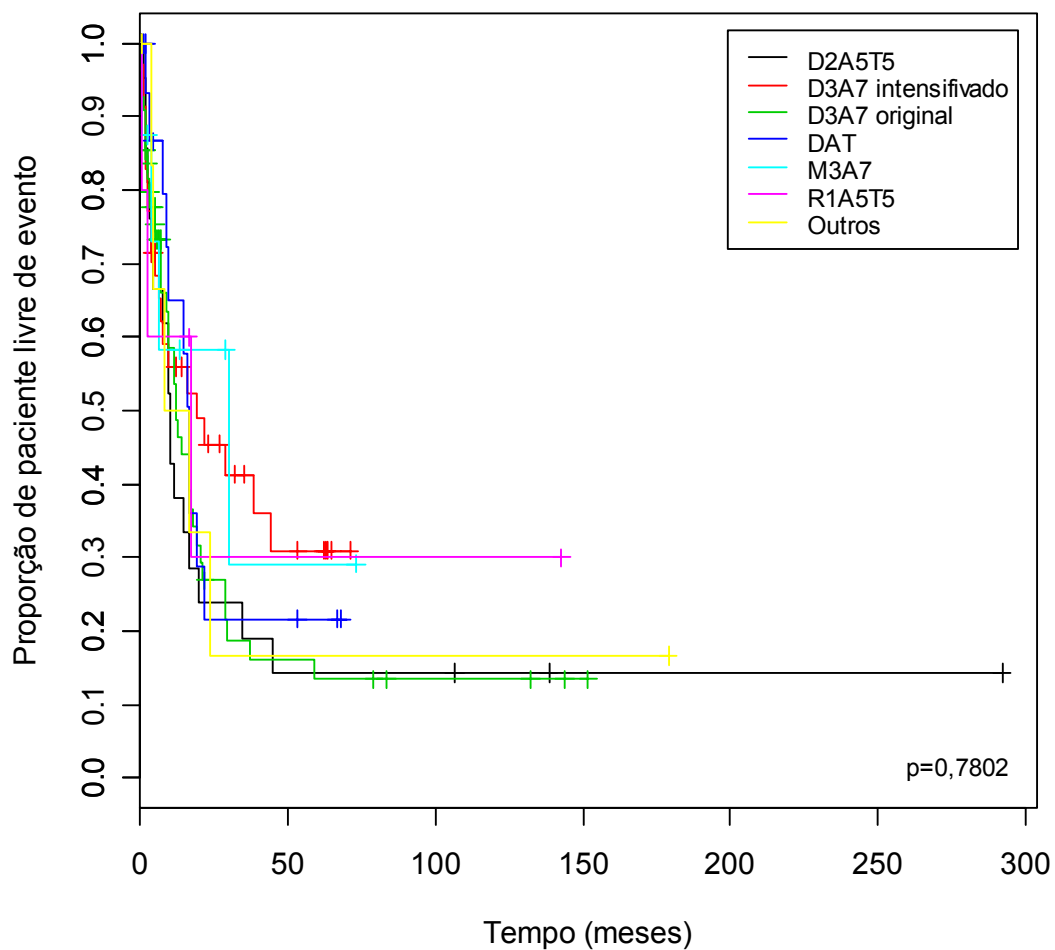


Figura 25 - Sobrevida livre de eventos dos casos de Leucemias mielóides agudas não promielocíticas, de acordo com o protocolo de tratamento

4.3.9. Sobrevida dos casos de leucemias promielocíticas agudas, de acordo com o uso de ATRA

As informações da sobrevida global, livre de doença e livre de eventos dos pacientes com Leucemias promielocíticas agudas estão resumidas na Tabela 23 e nas Figuras 25 a 27.

Os pacientes com Leucemias promielocíticas agudas que usaram ATRA apresentaram maior sobrevida global ($p=0,0203$), livre de doença ($p<0,0001$) e livre de evento ($p=0,0140$).

Tabela 23 - Sobrevida, de acordo com o uso de ATRA

			N	mediana	p
sobrevida global	usou ATRA	censura	24	27,97	0,0203
		evento	28	1,00	
		Total	52	7,90	
	não usou ATRA	censura	4	11,90	
		evento	15	1,00	
		Total	19	1,37	
sobrevida livre de doença	usou ATRA	censura	29	21,60	<0,0001
		evento	6	14,45	
		Total	35	19,30	
	não usou ATRA	censura	1	7,00	
		evento	6	8,16	
		Total	7	7,40	
sobrevida livre de evento	usou ATRA	censura	21	29,40	0,0140
		evento	14	5,33	
		Total	35	19,30	
	não usou ATRA	censura	1	7,00	
		evento	6	8,17	
		Total	7	7,40	

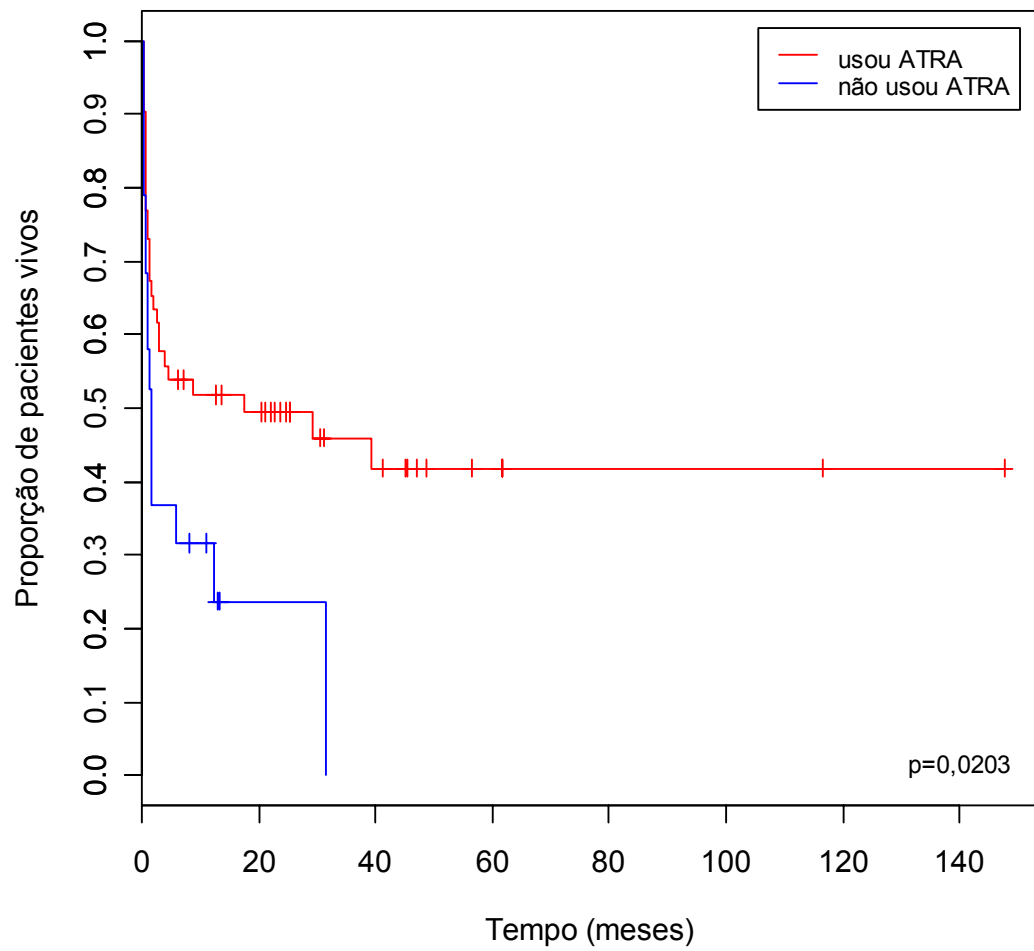


Figura 26 - Sobrevida global casos de Leucemias promielocíticas agudas, de acordo com o uso de ATRA

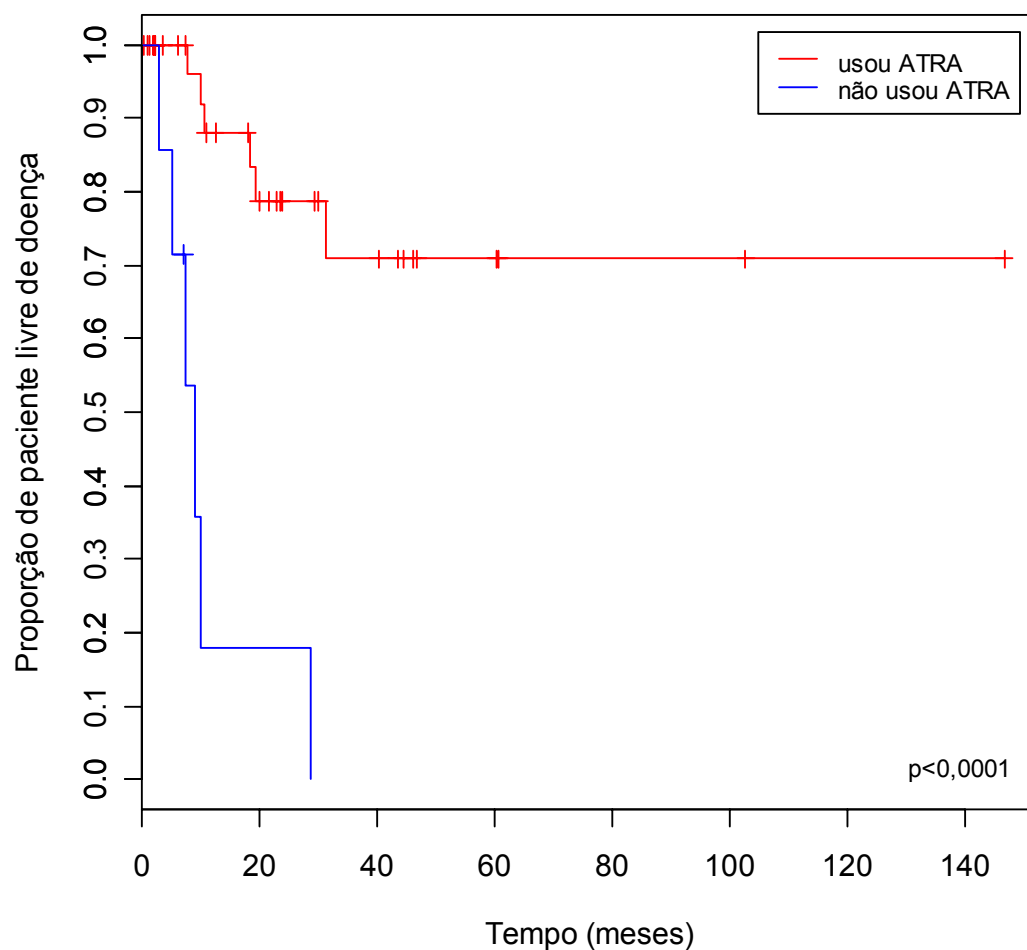


Figura 27 - Sobrevida livre de doença casos de Leucemias promielocíticas agudas, de acordo com o uso de ATRA

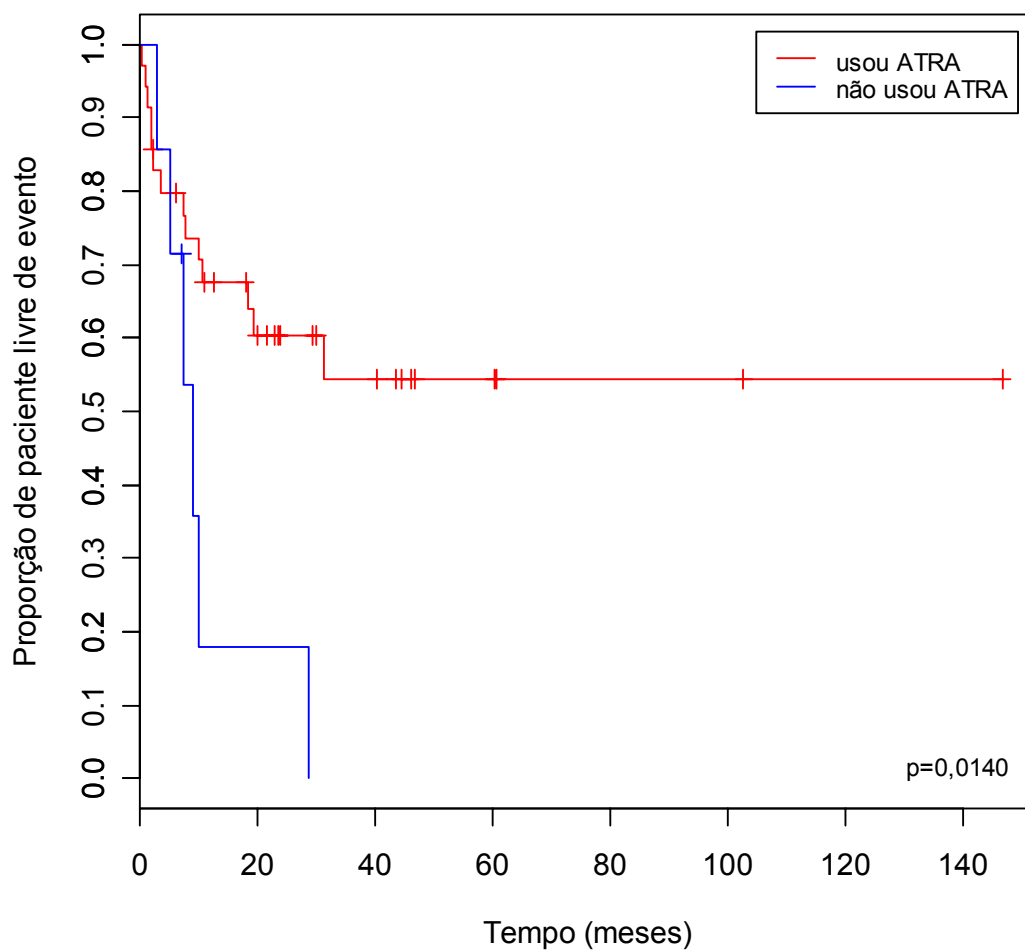


Figura 28 - Sobrevida livre de eventos casos de Leucemias promielocíticas agudas, de acordo com o uso de ATRA

4.3.10. Sobrevida, de acordo com a Classificação FAB

Considerando o total de 400 pacientes tratados com intenção de cura, verificamos que 366 deles foram classificados segundo os critérios da FAB e tiveram calculadas suas medianas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos. As Tabelas 24 a 26 contêm os resultados, com variações de relevância estatística para todos estes parâmetros.

Tabela 24 - Sobrevida global, de acordo com a Classificação FAB

FAB		N	mediana	p*
M0	censura	2	11,77	0,0068
	evento	8	3,40	
	Total	10	6,28	
M1	censura	14	9,48	
	evento	31	1,87	
	Total	45	3,27	
M2	censura	43	11,40	
	evento	45	3,73	
	Total	88	7,67	
M3 com ATRA	censura	24	27,97	
	evento	28	1,00	
	Total	52	7,90	
M3 sem ATRA	censura	4	11,90	
	evento	15	1,00	
	Total	19	1,37	
M4	censura	29	23,50	
	evento	59	1,70	
	Total	88	5,03	
M5	censura	7	15,10	
	evento	29	2,27	
	Total	36	3,03	
M6	censura	2	22,72	
	evento	16	1,27	
	Total	18	1,47	
M7	censura	1	12,70	
	evento	9	1,50	
	Total	10	1,73	

*comparando os diferentes critérios da FAB

Tabela 25 - Sobrevida livre de doença, de acordo com a Classificação FAB

FAB		N	mediana	p*
M0	censura	4	3,90	<0,0001
	evento	1	5,03	
	Total	5	5,03	
M1	censura	6	7,78	
	evento	13	12,70	
	Total	19	12,70	
M2	censura	24	9,42	
	evento	29	9,17	
	Total	53	9,17	
M3 com ATRA	censura	29	21,60	
	evento	6	14,45	
	Total	35	19,30	
M3 sem ATRA	censura	1	7,00	
	evento	6	8,17	
	Total	7	7,40	
M4	censura	22	25,92	
	evento	23	11,17	
	Total	45	11,90	
M5	censura	6	6,80	
	evento	11	11,33	
	Total	17	9,70	
M6	censura	3	0,93	
	evento	4	27,93	
	Total	7	3,17	
M7	censura	1	2,30	
	evento	2	1,88	
	Total	3	2,17	

*comparando os diferentes critérios da FAB

Tabela 26 - Sobrevida livre de eventos, de acordo com a Classificação FAB

FAB	evento livre de evento	N	mediana	p*
M0	censura	1	5,43	0,0001
	evento	4	3,70	
	Total	5	5,03	
M1	censura	4	38,57	
	evento	15	9,37	
	Total	19	12,70	
M2	censura	20	24,38	
	evento	33	7,57	
	Total	53	9,17	
M3 com ATRA	censura	21	29,40	
	evento	14	5,33	
	Total	35	19,30	
M3 sem ATRA	censura	1	7,00	
	evento	6	8,17	
	Total	7	7,40	
M4	censura	20	32,20	
	evento	25	9,30	
	Total	45	11,90	
M5	censura	4	8,58	
	evento	13	9,70	
	Total	17	9,70	
M6	censura			
	evento	7	3,17	
	Total	7	3,17	
M7	censura			
	evento	3	2,17	
	Total	3	2,17	

*comparando os diferentes critérios da FAB

As probabilidades estimadas de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos destes pacientes, em 60 meses, foram separadas de acordo com o grupo FAB. As curvas de Kaplan-Meier podem ser visualizadas a seguir.

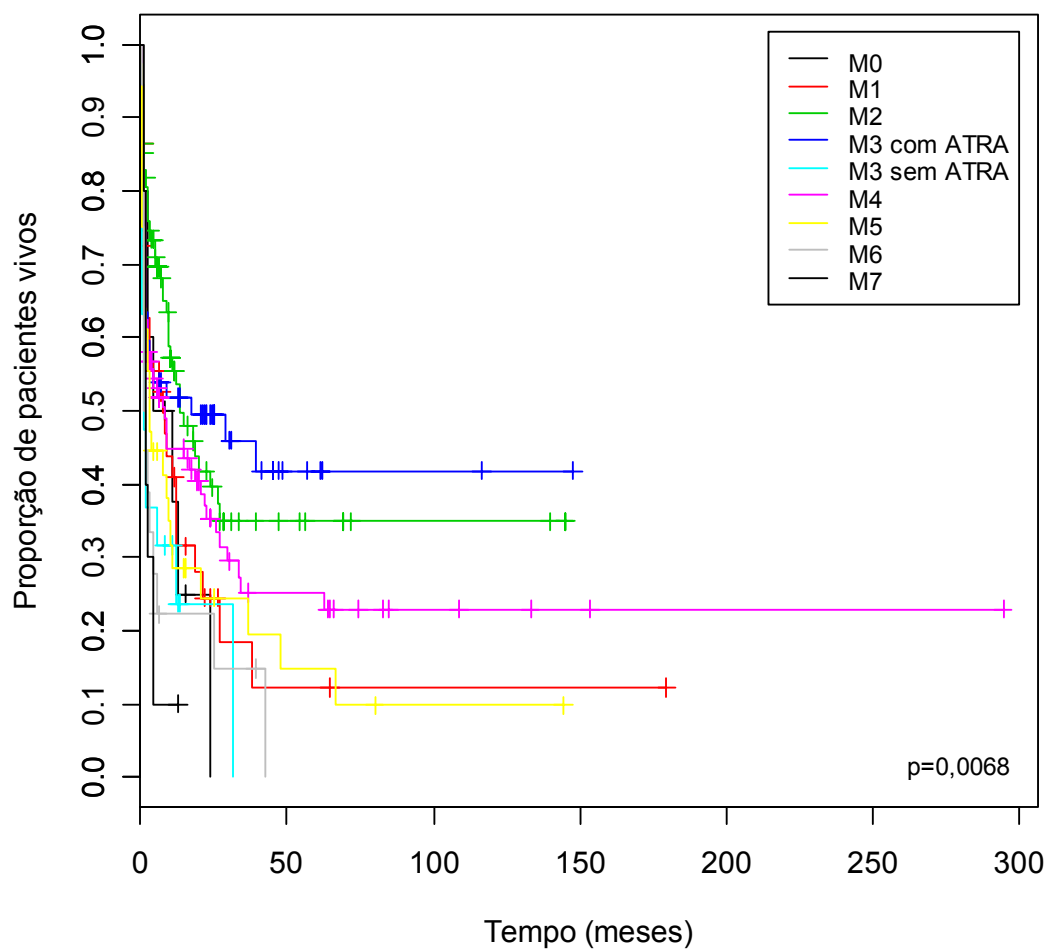


Figura 29 - Sobrevida global dos pacientes com tratamento curativo, de acordo com a classificação FAB

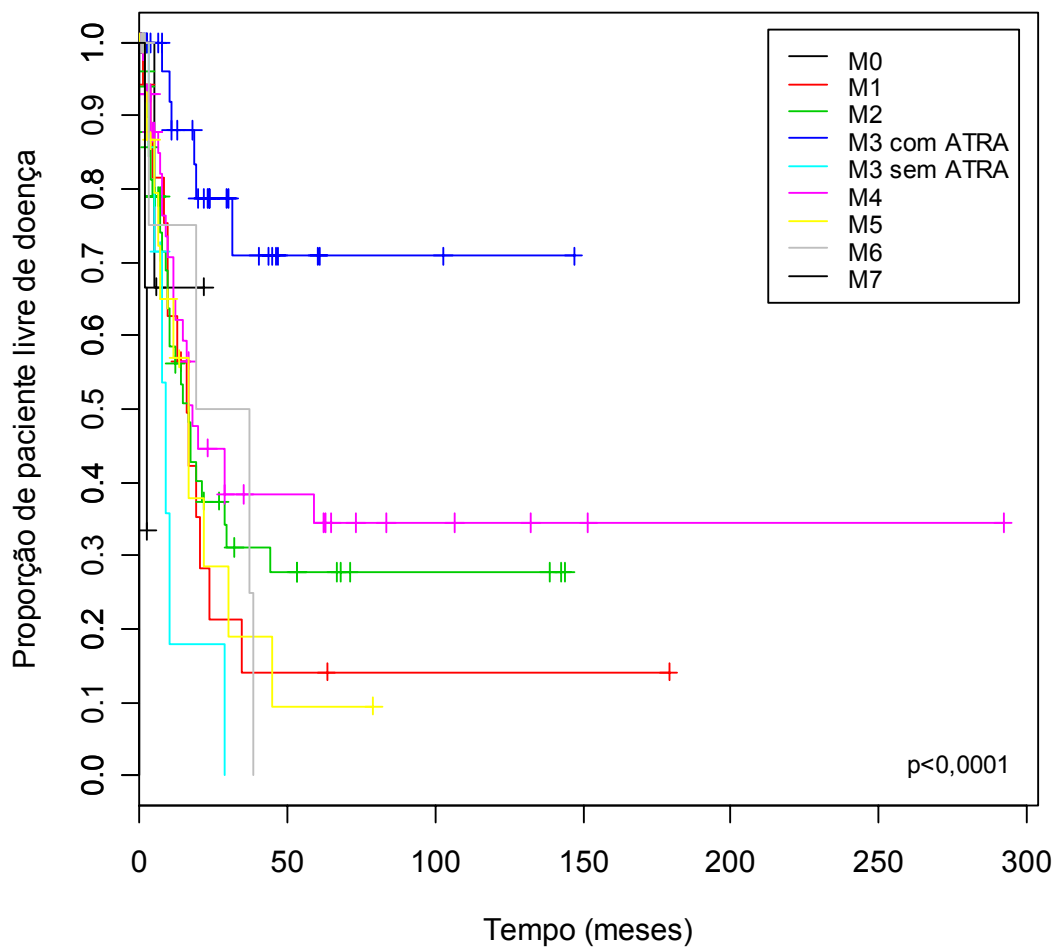


Figura 30 - Sobrevida livre de doença dos pacientes com tratamento curativo, de acordo com a classificação FAB

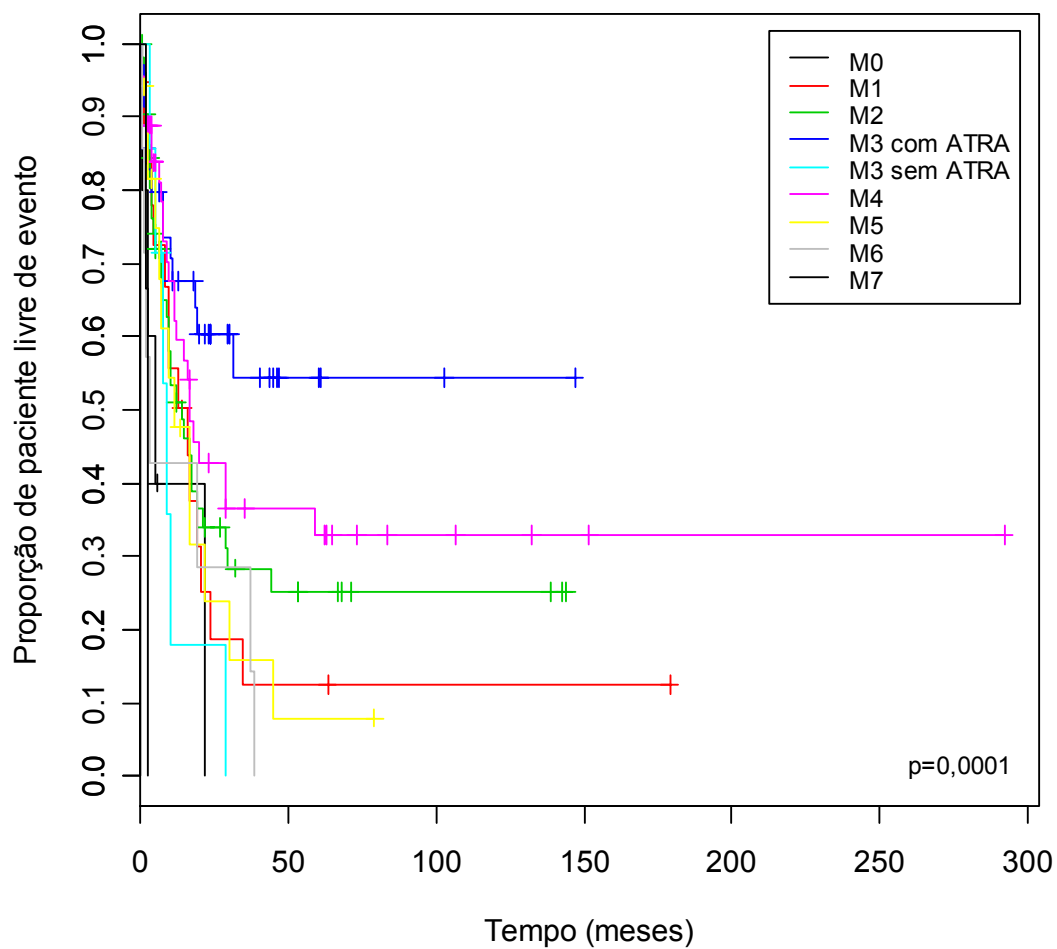


Figura 31 - Sobrevida livre de eventos dos pacientes com tratamento curativo, de acordo com a classificação FAB

4.3.11. Sobrevida, de acordo com as doses de citarabina na consolidação

Para os pacientes que receberam altas doses de citarabina como regime de consolidação (n=91), foi calculada a mediana da dose total efetivamente instituída, no valor de 45,45 g. Desta forma, foram criados três grupos:

- pacientes que receberam altas doses de citarabina e dose total maior ou igual a 45,45 g;
- pacientes que receberam altas doses de citarabina, mas dose total menor que 45,45 g;
- pacientes que não receberam altas doses de citarabina.

A Tabela 27 traz os valores medianos da sobrevida global, livre de doença e livre de eventos para estes três grupos.

Tabela 27 - Sobrevida (meses), de acordo com as doses de citarabina na consolidação

sobrevida global		N	mediana	p
alta dose, total ≥ 45450 mg	censura	26	25,85	<0,0001
	evento	8	17,12	
	Total	34	22,63	
alta dose, mas total < 45450 mg	censura	20	26,38	
	evento	14	9,40	
	Total	34	12,53	
baixa dose	censura	70	15,23	
	evento	142	2,53	
	Total	212	4,77	
sobrevida livre de doença		N	mediana	p
alta dose, total ≥ 45450 mg	censura	19	32,07	0,1675
	evento	15	11,93	
	Total	34	17,72	
alta dose, mas total < 45450 mg	censura	17	7,27	
	evento	16	7,95	
	Total	33	7,40	
baixa dose	censura	53	7,00	
	evento	53	9,83	
	Total	106	9,22	
sobrevida livre de evento		N	mediana	p
alta dose, total ≥ 45450 mg	censura	18	33,73	0,0222
	evento	16	11,92	
	Total	34	17,72	
alta dose, mas total < 45450 mg	censura	16	34,75	
	evento	17	7,40	
	Total	33	7,40	
baixa dose	censura	37	23,70	
	evento	69	7,23	
	Total	106	9,22	

Foram representadas graficamente as probabilidades de sobrevida global, livre de doença e livre de eventos, em meses, dos três grupos de pacientes.

As curvas de sobrevida, exceto pela sobrevida livre de doença, demonstram diferenças estatísticas importantes.

A sobrevida global em 60 meses foi igual a 68,3% no grupo que recebeu altas de citarabina e dose total maior ou igual a 45,45 g; 43,7% no grupo que recebeu altas doses da droga, mas total menor que 45,45 g e 21,1% no grupo que não recebeu altas doses de citarabina.

A sobrevida livre de eventos em 60 meses foi de 41,4% no grupo que recebeu altas doses de citarabina e dose total maior ou igual a 45,45 g; 34,5% no grupo que recebeu altas da medicação, mas total menor que 45,45 g e 22,9% no grupo que não recebeu altas doses de citarabina.

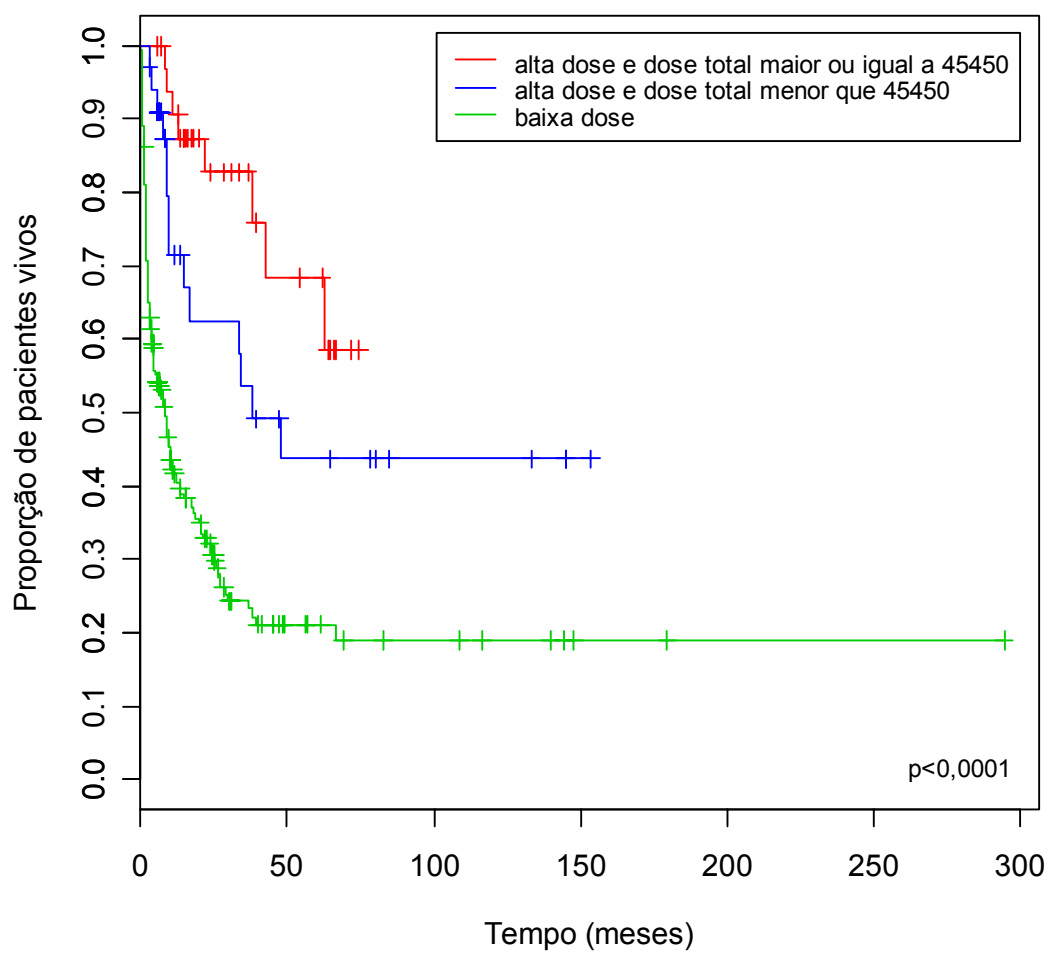


Figura 32 - Sobrevida global dos pacientes que chegaram à consolidação, de acordo com as doses de citarabina administradas

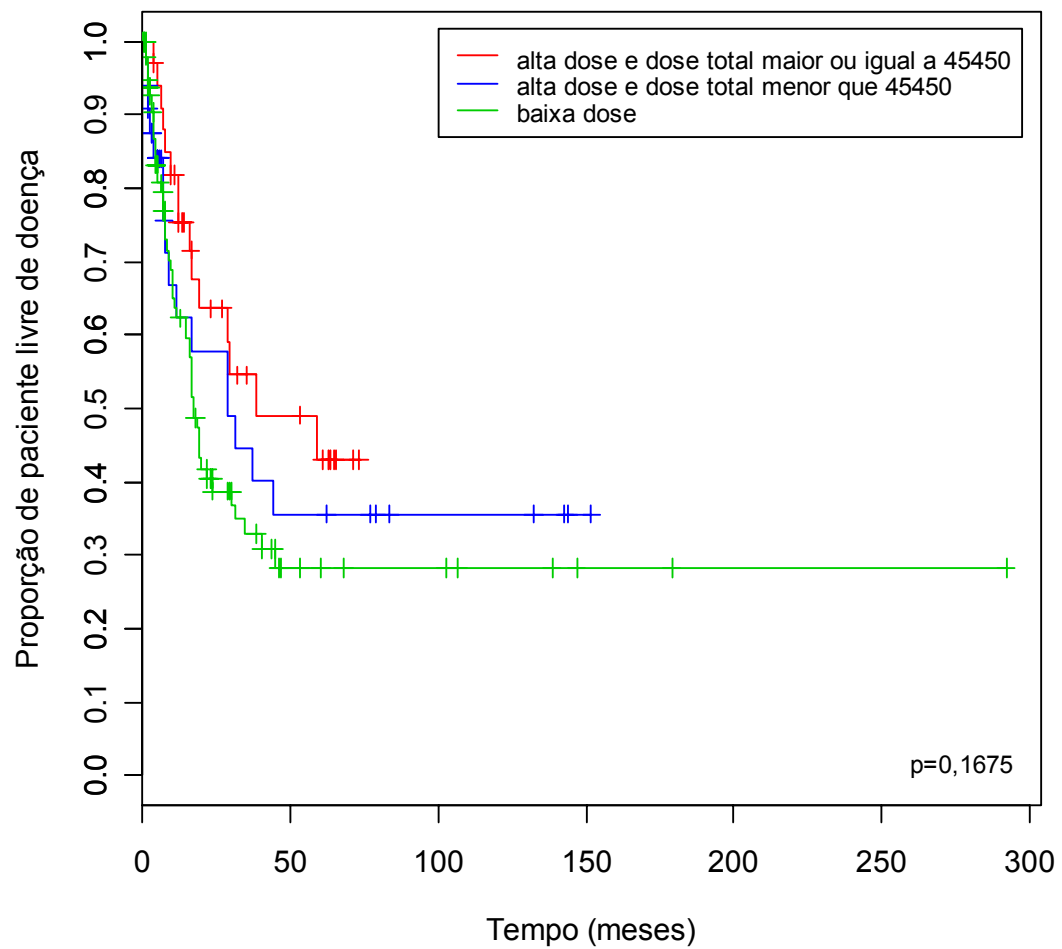


Figura 33 - Sobrevida livre de doença dos pacientes que chegaram à consolidação, de acordo com as doses de citarabina administradas

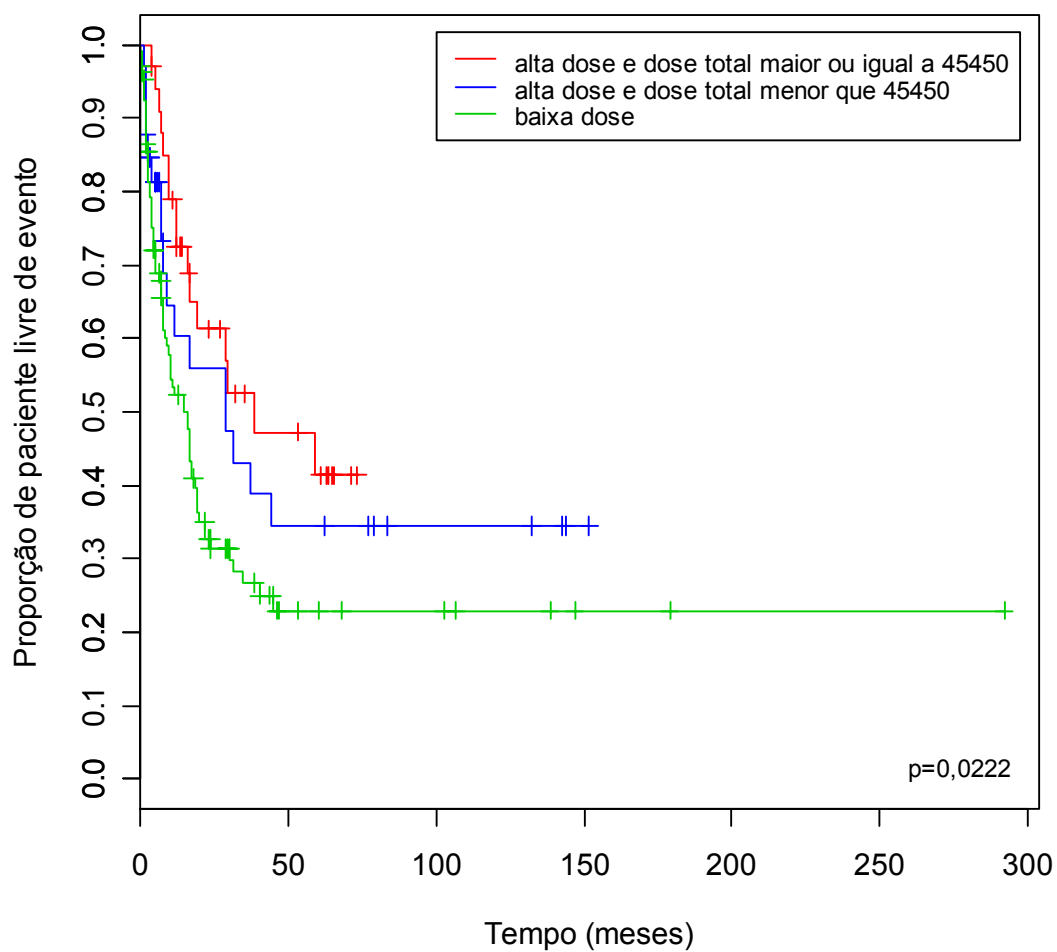


Figura 34 - Sobrevida livre de eventos dos pacientes que chegaram à consolidação, de acordo com as doses de citarabina administradas

4.3.12. Sobrevida, de acordo com origem da leucemia (primária ou secundária)

As informações resumidas quanto as sobrevidas global, livre de doença e livre de eventos estão apresentadas na Tabela 28 e na Figuras 34 a 36. É importante ressaltar que o grupo dos indivíduos com leucemia primária apresentou sobrevida global ($p=0,0014$) e sobrevida livre de evento ($p=0,0266$) maior que o grupo dos indivíduos com leucemia secundária. A sobrevida livre de doença não teve significado estatístico.

Tabela 28 - Sobrevida (meses), de acordo com a origem da leucemia (primária ou secundária)

	Origem		N	mediana	p
sobrevida global	primária	censura	126	25,23	0,0014
		evento	206	1,47	
		Total	332	6,32	
	secundária	censura	10	8,37	
		evento	58	1,73	
		Total	68	1,92	
sobrevida livre de doença	primária	censura	120	21,75	0,2329
		evento	76	9,30	
		Total	196	13,27	
	secundária	censura	14	2,07	
		evento	10	13,87	
		Total	24	6,13	
sobrevida livre de eventos	primária	censura	92	30,03	0,0266
		evento	104	7,03	
		Total	196	13,27	
	secundária	censura	7	5,20	
		evento	17	6,13	
		Total	24	6,13	

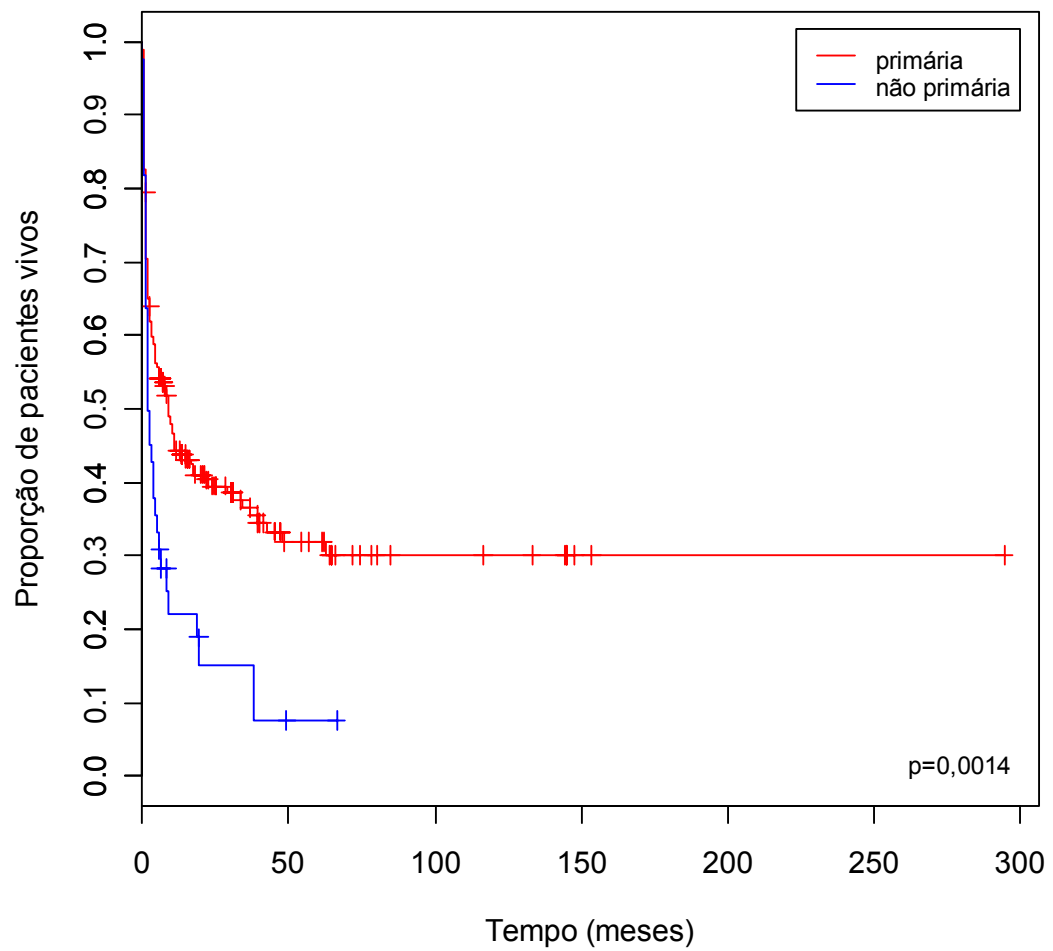


Figura 35 - Sobrevida global dos pacientes de acordo com a origem da leucemia

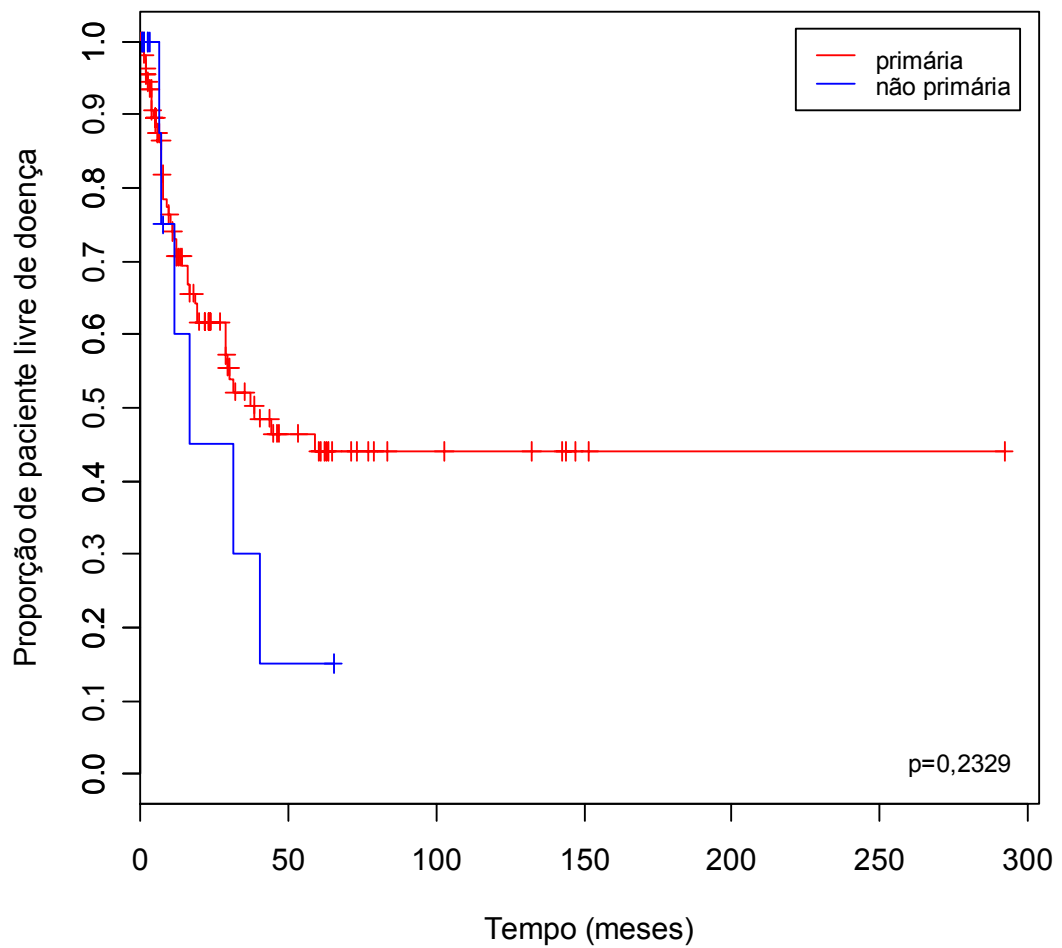


Figura 36 - Sobrevida livre de doença dos pacientes de acordo com a origem da leucemia

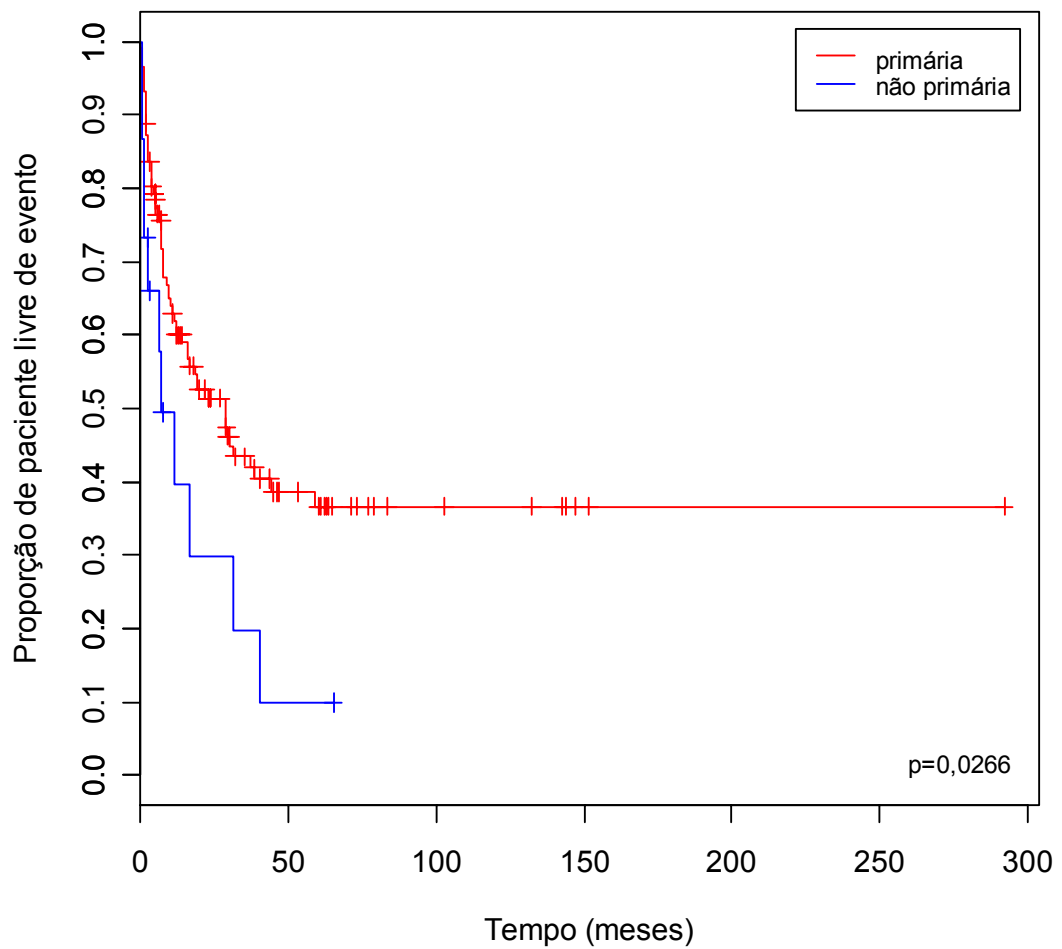


Figura 37 - Sobrevida livre de eventos dos pacientes de acordo com a origem da leucemia

4.4. ANÁLISE MULTIVARIADA DE SOBREVIDA

4.4.1. Sobrevida Global (SG)

Os resultados do ajuste do modelo de regressão de Cox revelaram que a idade ($p=0,088$), cariótipo ($p=0,418$), classificação FAB ($p=0,419$) e a origem ($p=0,079$) não apresentam riscos estatisticamente diferentes de morte.

O risco de morte de um indivíduo que recebeu altas doses de citarabina e dose total menor que 45,45 g (mediana) é 3,871 [1,043; 14,370]^a vezes o risco de morte de um indivíduo que recebeu altas doses de citarabina e dose total maior ou igual a 45,45 g ($p=0,043$), mantendo constante as informações da idade, cariótipo, classificação FAB e origem.

O risco de morte de um indivíduo que recebeu baixa dose de citarabina é 9,775 [2,493 ; 38,320]^a vezes o risco de morte de um indivíduo que recebeu altas doses de citarabina e dose total maior ou igual a mediana de 45,45 g ($p=0,001$), mantendo constante as informações da idade, cariótipo, classificação FAB e origem.

4.4.2. Sobrevida Livre de Doença (SLD)

Os resultados do ajuste do modelo de regressão de Cox revelaram que o cariótipo ($p=0,488$), classificação FAB ($p=0,664$), protocolo de indução ($p=0,366$) e consolidação com altas doses de citarabina ($p=0,174$) não apresentam resultados estatisticamente diferentes para a SLD.

^a intervalo com 95% de confiança.

4.4.3. Sobrevida Livre de Eventos (SLE)

Os resultados do ajuste do modelo de regressão de Cox revelaram que a idade ($p=0,528$), cariótipo ($p=0,333$), classificação FAB ($p=0,661$), consolidação com altas doses de citarabina ($p=0,182$) e origem ($p=0,270$) não apresentam resultados estatisticamente diferentes no que diz respeito à SLE.

5 DISCUSSÃO

5.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DEMOGRÁFICAS DOS PACIENTES

No total de 499 pacientes com LMA estudados, o fato de termos encontrado uma mediana de idade em torno de 43 anos, bem abaixo daquela comumente descrita na literatura internacional, foi digno de atenção. Por outro lado, estudo feito em uma população similar, também no estado de São Paulo, mostrou mediana de idade semelhante (Peloso et al., 2003).

É possível que os pacientes mais idosos, dadas as comorbidades clínicas e piores cariótipos geralmente descritos, evoluam de forma mais rápida e nem mesmo cheguem a vencer todas as etapas de um serviço público de saúde até que seja possível o diagnóstico de LMA. A incidência de LMA aumenta com a idade, e não há motivos para acreditar que nossa população apresente comportamento distinto do ponto de vista epidemiológico. Houve ainda ligeira predominância do sexo masculino.

No que diz respeito ao prognóstico citogenético, quando analisamos a distribuição dos cariótipos entre os grupos torna-se evidente o grande número de pessoas alocadas na categoria intermediária. Isto se deve ao achado frequente de cariótipo normal, embora hoje saibamos que estes casos requerem a pesquisa adicional de mutações como FLT3, NPM1, CEBPA e outras para a correta estratificação de risco. Assim, ficam claras as limitações de um estudo retrospectivo e abrangente como este, já que grande parte do grupo intermediário pode, na verdade, apresentar prognóstico favorável ou desfavorável. A avaliação do prognóstico molecular deve ser alvo de estudo específico.

Nesta análise, optamos por incluir doenças secundárias, de forma a mostrar um panorama real de um serviço de referência em LMA. A

incidência de LMA secundária em nossos pacientes, em torno de 17%, encontra respaldo na literatura médica, sendo sua condição primária mais frequente a SMD. A positividade para mieloperoxidase, em reação citoquímica, foi estimada visando uma eventual correlação com o prognóstico, motivo pelo qual excluímos as LPA desta avaliação em particular. Muito por conta disto, a maioria dos pacientes (cerca de 56%) tinha positividade para mieloperoxidase em menos que 50% dos blastos.

O protocolo de indução mais utilizado nestes quase 30 anos foi o D3A7 (34,5%), principalmente na forma em que foi originalmente instituído no serviço, em 1990, com daunorrubicina 50 mg/m² por 3 dias e citarabina 100 mg/m² por 7 dias. Isto se deve aos 10 anos em que permaneceu como regime de escolha, mais que qualquer outro. Esta mesma combinação de drogas, de forma intensificada, está em vias de suplantar o regime original em número de utilizações no HCFMUSP, tendo sido prescrita em 29% dos pacientes com tratamento curativo até 2007.

Como o estudo englobou um período de quase 30 anos, ainda há bastante ênfase na classificação FAB, hoje defasada. Neste aspecto, pudemos observar predomínio do tipo M4, seguido de M2 e M3, achados estes em conformidade com as publicações médicas.

Também seguindo a tendência iniciada na década de 90, a consolidação com altas doses de citarabina foi verificada em 2 grupos distintos e comparada com a consolidação que era anteriormente padrão, com doses convencionais. A maior parte de nossos pacientes (55%) ainda fez parte do grupo de doses convencionais, lembrando que neste grupo estão incluídos vários daqueles posteriormente encaminhados ao transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH).

5.2. ÍNDICES

5.2.1. Remissão Completa (RC)

O objetivo da terapia de indução é reduzir o número de células leucêmicas para níveis indetectáveis pela morfologia ou citogenética convencional. O regime pode ser repetido em 14 dias, caso ainda haja permanência destas células na medula óssea em quantidade superior a 5% das células nucleadas. A combinação padrão é constituída de um antracíclico e citarabina.

Em nosso estudo, o índice de remissão completa (RC) de 50,75% entre os 400 pacientes tratados com intenção de cura, considerando todos os tipos de LMA, mostra-se um tanto menor do que aquele geralmente atribuído aos regimes combinados (3+7) atuais, entre 60 e 80%. Isoladamente, estima-se que cada uma destas drogas seja capaz de levar à RC em 30 a 40% dos pacientes (Vogler et al., 1992; Wiernik et al., 1992).

Porém, vale lembrar que nosso índice engloba pelo menos 6 protocolos de indução, com drogas muitas vezes distintas e/ou diferentes formas de infusão. Um exemplo é que, a despeito da meia-vida de 15 minutos apenas, a infusão contínua da citarabina só teve início em 1990, quando foi introduzido o D3A7. Até então a droga era dada em 2 doses diárias, com intervalos de 12 horas, por 5 dias.

O antracíclico utilizado no HCFMUSP há muito tem sido a daunorrubicina. As supostas vantagens da idarrubicina (Vogler et al., 1992) ou mitaxontrona (Arlin et al., 1990) em termos de RC e sobrevida global foram obtidas quando comparadas a 45 mg/m² de daunorrubicina e desaparecem quando doses bioequivalentes, como 60 mg/m², são comparadas (Cassileth et al., 1998).

O uso de D3A7 nas doses aqui descritas como intensificadas, que permanece como o protocolo preferencial de indução em pacientes abaixo de 60 anos, resultou em RC em pouco mais de 59% dos casos. Parecia

haver uma vantagem estatística quando comparamos seus resultados com o D3A7 em doses usuais (RC em pouco mais de 50%) ou com protocolos anteriores (que não mostraram RC maior que 48%). Contudo, a comparação considerando o IC 95% exibiu intervalos coincidentes, o que não causou surpresa devido às limitações numéricas da amostra. Por isto, quando cruzamos a análise da RC com as diversas variáveis estudadas, mantivemos os protocolos de indução na busca de um p significativo, que não houve ($p=0,28$ para diferenças de RC entre os regimes).

Na literatura, não há evidência inequívoca de que o aumento da dose de citarabina na indução possa representar um maior índice de RC ou maior sobrevida global, mas é descrita a probabilidade de prolongar a sobrevida livre de doença. Alguns estudos recentemente publicados sugerem que maiores doses de antracíclicos nesta fase, como a daunorrubicina - e não de citarabina - sejam seguras e possam conferir vantagens em termos de remissão completa e sobrevida global (Fernandez et al., 2009), inclusive em indivíduos acima de 60 anos (Lowenberg et al., 2009). Estas proposições não foram ainda incorporadas à rotina do Serviço e portanto não foram estudadas, mas mostram-se promissoras, particularmente em pacientes com cariótipos favoráveis ou intermediários.

Conforme o esperado, constatamos maior índice de RC em pacientes abaixo de 60 anos, com cariótipos favoráveis ou intermediários e leucemias primárias. Estas três variáveis relacionam-se diretamente entre si, na medida em que os pacientes mais jovens e com LMA *de novo* tendem a apresentar melhores prognósticos citogenéticos. Também colabora para uma maior obtenção de RC o fato de que os pacientes mais jovens costumam exibir menos comorbidades clínicas e toleram maiores doses de quimioterapia, via de regra com uma melhor *performance-status* ao diagnóstico. Entre os pacientes abaixo de 60 anos, 55% atingiu RC *versus* 35% do grupo igual ou maior que 60 anos ($p=0,0013$). A análise de acordo com a origem primária ou secundária aponta resultados parecidos, com RC de 58% e 34%, respectivamente ($p=0,0033$).

Quanto aos grupos de prognóstico citogenético, observamos RC em 80% daqueles com cariótipos favoráveis, 54,7% dos intermediários e 48,5% dos considerados portadores de alterações desfavoráveis ($p=0,0055$). O grupo MRC (Grimwade et al., 1998), com critérios de grupos citogenéticos semelhantes aos de nosso estudo, achou índices de RC de 90% (favorável), 84% (intermediário) e 57% (desfavorável); já o SWOG (Slovak et al., 2000) publicou seus achados de RC como 84% (favorável), 76% (intermediário) e 55% (desfavorável). Entretanto, estes dois estudos incluíram apenas pacientes de até 55 anos, tornando difícil a comparação destes índices com nossa população, não selecionada pela idade e com 28% dos participantes com 60 ou mais anos. Consideramos que esta diferença pode também ser atribuída a um pior *performance-status* associado, pelo mesmo raciocínio.

Nas leucemias promielocíticas agudas (LPA), verificamos diferenças estatísticas no percentual de RC entre os usuários de ATRA *versus* o controle histórico sem a droga, o que não causou surpresa, haja visto o benefício amplamente demonstrado da terapia de diferenciação neste grupo de pacientes. Contudo, nossos resultados apontaram RC em cerca de 67% dos tratados na era do ATRA contra 37% dos tratados sem a droga ($p=0,0208$), números aquém dos rotineiramente descritos. Espera-se uma RC em torno de 90% quando da utilização de ATRA ou mesmo trióxido de arsênico (ATO), segundo a maioria das séries internacionais. Contudo, em estudo multicêntrico brasileiro (Jacomó et al., 2007), índice de RC muito semelhante foi descrito (68%). Especulamos que nossos pacientes com LPA possam apresentar um maior número de mortes precoces, por demora no diagnóstico e dificuldades estruturais até a admissão no Serviço de Hematologia para início de tratamento, iniciado muitas vezes já com coagulopatias evidentes.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes quando avaliamos o índice de RC e as categorias da classificação FAB, embora o valor de p (0,07) aproxime-se da significância. Isto poderia refletir a influência dos subtipos M3 (tratados com ATRA), M2 e M4, nessa ordem, que tiveram maiores percentuais de RC e costumam associar-se a

alterações citogenéticas de melhor prognóstico. Não houve relação estabelecida entre a RC e a positividade dos blastos para a reação citoquímica com mieloperoxidase.

5.2.2. Óbitos nos primeiros 30 dias da QT

A análise dos percentuais de óbitos nos 30 dias seguintes à terapia de indução tinha o objetivo principal de verificar diferenças na toxicidade entre os diferentes protocolos de tratamento, bem como de conhecer nosso índice de mortes neste período. Observamos que entre os 400 pacientes tratados com intenção de cura, 106 deles, isto é, 26,5% (IC_{95%} = [22,17%; 30,83%]) evoluíram a óbito. Os estudos internacionais costumam relatar um índice de óbitos precoces de 15 a 20%. É possível que fatores relacionados aos nossos pacientes, como o status nutricional, imunológico e encaminhamento tardio ao Serviço ajudem a explicar estas diferenças. É sabido que quase a metade daqueles que não alcançam RC com a terapia combinada não o fazem porque morrem antes que a resposta à indução possa ser avaliada. A morte geralmente resulta de falência múltipla de órgãos por conta de infecção, sendo o pulmão o sítio primário mais acometido.

A avaliação do índice de óbitos precoces por cada protocolo de indução utilizado no HCFMUSP não apontou diferenças estatísticas. Assim, não ficou caracterizada maior ou menor toxicidade de qualquer dos regimes quimioterápicos.

Da mesma forma, não conseguimos demonstrar alguma associação estatística entre o índice de óbitos após 30 dias da indução e idade, positividade para mieloperoxidase, cariótipo, uso de ATRA nas LPA, classificação FAB e origem da LMA.

5.2.3. Recidiva de Doença

Entre os pacientes que atingiram remissão completa, pouco mais da metade (107 de 203 - 52,7%) mostrou recidiva da doença em algum momento. Ocorre que quase a metade dos indivíduos estudados teve o diagnóstico antes de 1990, quando a consolidação com citarabina em altas doses não era ainda uma realidade, a citogenética estava restrita à pesquisa e as indicações para transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) eram bem mais restritas. Nos dias atuais, onde grande parte dos pacientes com LMA não promielocítica recebe altas doses de citarabina ou TCTH como consolidação, a depender do prognóstico citogenético e molecular, o índice de recidiva tende a ser menor.

5.2.4. Refratariedade Primária

Pudemos avaliar a resposta ao tratamento de indução em 231 dos 400 pacientes. Os demais faleceram antes que a medula óssea pudesse ser reexaminada. Constatamos um índice de refratariedade primária na casa de 10% (23 deles), classificando desta forma apenas após a ausência de remissão completa com dois ciclos de indução.

Este índice vai ao encontro dos dados de literatura, sugerindo que a refratariedade primária em LMA não é frequente. Quando ocorre, costuma estar associada a fatores de mau prognóstico, como cariótipo desfavorável, idade e leucemias secundárias.

5.3. ANÁLISE UNIVARIADA DE SOBREVIDA

5.3.1. Aspectos Gerais

Para fins de estimativa de sobrevida, seja global, livre de doença ou livre de eventos, consideramos apenas aqueles pacientes nos quais havia

possibilidade de cura e que chegaram a receber a quimioterapia de indução. Isto representa 400 dos 499 indivíduos estudados nesta série histórica.

A análise pura e simples destes 400 pacientes com LMA, sem considerar qualquer variável, aponta que não mais que 23% estavam vivos em 5 anos (sobrevida global). Este índice é muito semelhante ao obtido pelo grupo CALGB 8461 (Byrd et al., 2002). As sobrevidas livres de doença e de eventos foram próximas deste percentual, em torno de 30% e 25%, respectivamente.

Se forem retiradas do grupo as LPA, estes índices decrescem cerca de 2 a 3%. Menos do que se poderia supor, mas deve ser considerado o fato de que aproximadamente metade das LPA de nossa amostra foram tratadas antes da do advento do ATRA, quando tinham prognóstico ainda pior que os demais subtipos. Isto pode explicar a variação negativa ter sido pequena na análise geral de sobrevida das LMA não promielocíticas.

É bem provável que também por este motivo os índices de sobrevida global (SG), sobrevida livre de doença (SLD) e sobrevida livre de eventos (SLE) das LPA como um todo tenham atingido somente 35%, 27% e 47%, respectivamente.

Estes dados são meramente descritivos, servindo apenas como base para a análise das variáveis de maneira individual ou em conjunto.

5.3.2. Sobrevida, de acordo com a idade

A idade, descrita com frequência como um fator prognóstico dos mais importantes no tratamento da LMA, costuma ser dividida em pelo menos dois grupos: menor que 60 e maior ou igual a 60 anos. Alguns autores utilizam 55 anos como o ponto de corte, como os grupos MRC e SWOG, citados anteriormente.

Neste estudo, a probabilidade estimada de SG em 5 anos, no grupo abaixo de 60 anos, foi cerca de 27% *versus* 7% no grupo igual ou maior que 60 anos ($p=0,0014$). Esta nítida diferença deve ser resultado tanto de

melhores alterações cariotípicas e/ou moleculares do grupo mais jovem quanto da maior tolerância deste à quimioterapia com doses mais elevadas, principalmente na consolidação com citarabina. Nos mais idosos, além da maior chance de cariótipo desfavorável, a prevalência aumentada de mielotoxicidade, doenças cardiovasculares, metabólicas, hepáticas e renais prejudica o tratamento com doses e intervalos ideais.

Não foram observadas variações estatísticas na SLD e na SLE, embora esta última apresente um valor de p limítrofe (0,051). Esta tendência estatística poderia representar principalmente a diferença entre eventos cardiovasculares, como infarto agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca congestiva, desfavorecendo o grupo de idade mais avançada tratado com quimioterapia potencialmente curativa.

5.3.3. Sobrevida, de acordo com a positividade dos blastos para peroxidase

Segundo estudo japonês de 2003 (Matsuo et al.), poderia haver relação entre uma forte positividade para a reação citoquímica com mieloperoxidase e um melhor prognóstico. Para evitar um eventual viés envolvendo as LPA, que costumam ser fortemente positivas e apresentar cariótipo favorável, excluímos este subtipo da avaliação.

Em nossa amostra, conseguimos o resultado de 146 pacientes. Não houve diferença do ponto de vista estatístico em SG, SLD e SLE entre os grupos com positividade para mieloperoxidase menor que 50% e maior ou igual a 50%.

Mais estudos seriam necessários para corroborar a associação descrita por Matsuo et al., sempre com o cuidado de equilibrar os grupos considerando variáveis como idade, cariótipo, protocolo de tratamento, classificação FAB e etc.

5.3.4. Sobrevida, de acordo com o prognóstico citogenético

Tanto a SG ($p=0,0024$) quanto a SLD ($p=0,0017$) e a SLE ($p=0,0029$) mostraram diferenças estatísticas significantes entre os 3 grupos de prognósticos citogenéticos distintos, validando os achados de literatura nos pacientes do HCFMUSP.

A curva de SG deixa clara a diferença, com estimativa de sobrevida em 5 anos de 53% no grupo favorável, 28% no intermediário e 5% no desfavorável. Estes achados são muito semelhantes aos descritos por Byrd et al. (CALGB 8461), com 55%, 24% e 5% de SG em 5 anos, respectivamente. Quando comparados aos estudos de Grimwade et al. (MRC) e Slovak et al. (SWOG), nossos índices de SG quanto ao cariótipo mostram-se um pouco menores (Grimwade et al.: 65%, 41% e 14%; Slovak et al.: 55%, 38% e 11%, respectivamente), porém nestes estudos foram incluídos somente pacientes de até 55 anos.

A SLD foi estimada em 70% nos pacientes com cariótipos favoráveis e tendeu à equivalência nos grupos intermediário e desfavorável, entre 35 e 40% em 5 anos. A SLE encontrada foi de 58% no grupo com cariótipo favorável e também mostrou equivalência nos grupos intermediário e desfavorável, com 26% em 5 anos. Estes achados confirmam a vantagem atribuída às alterações citogenéticas de bom prognóstico também quanto a menor incidência de recidivas e eventos em geral.

5.3.5. Sobrevida, de acordo com o protocolo de tratamento

Se a SG e a SLE não foram diferentes entre os protocolos de tratamento, havia significância estatística na SLD favorecendo a intensificação do D3A7 ($p=0,0034$). Porém, todos os subtipos de LMA estavam incluídos na análise, o que poderia levar a um viés por conta dos melhores resultados das LPA tratadas com ATRA.

Quando retiramos as LPA da análise, não restam diferenças estatisticamente significantes na comparação da intensificação do D3A7

com sua dose original. Assim, não foi observada em nosso estudo a maior SLD descrita quando a dose de citarabina é aumentada de 100 para 200 mg/m² na fase de indução. Tampouco evidenciamos qualquer diferença em termos de SG, SLD e SLE favorecendo algum dos protocolos nas LMA não promielocíticas.

Não foram avaliadas maiores doses de daunorrubicina na indução, mas estudos recentes (Fernandez et al. e Lowenberg et al.) sugerem que doses de 90 mg/m² conferem vantagens em termos de RC, SG e SLD em pacientes de até 65 anos, sem aumento significativo de toxicidade. Estas proposições merecem ser alvos de estudo futuro em nossos pacientes.

5.3.6. Sobrevida dos casos de leucemias promielocíticas agudas, de acordo com o uso de ATRA

O grupo tratado curativamente antes do advento do ATRA é consideravelmente menor (19 pacientes) do que aquele constituído pelos que receberam a droga (52 pacientes), apesar do período de tempo em que cada grupo foi formado ser semelhante (1978 a 1993 sem ATRA vs 1993 a 2007 com ATRA). Considerando que a incidência de LPA nestes períodos foi semelhante, esta discrepância numérica pode ser explicada pelo fato de que indivíduos com LPA na era pré-ATRA e idade acima de 55 anos provavelmente receberam tratamento paliativo em boa parte dos casos, dada a altíssima mortalidade. Isto teria deixado de ocorrer após a incorporação do ATRA à prática clínica, quando as LPA tornaram-se as LMA de melhor prognóstico em qualquer idade.

A avaliação de SG ($p=0,0203$), SLD ($p<0,0001$) e SLE ($p=0,0140$) mostra diferenças importantes entre os pacientes com o diagnóstico de LPA tratados com e sem ATRA. Os resultados favorecem o grupo que usou ATRA, conforme o esperado. Porém, os percentuais de SG obtidos em nossa população ainda estão abaixo do desejável.

A SG em 5 anos daqueles que receberam ATRA é de cerca de 45%, contra virtualmente zero dos tratados sem a droga. Em estudo de Tallman et

al. em 2002, foi observada uma SG em 5 anos de 69% no grupo que utilizou ATRA na indução, consolidação e manutenção; em artigo de Sanz et al. publicado em 2004, foi descrita uma SG em 5 anos de 78% em grupo semelhante. Por outro lado, Jacomo et al. estudaram 134 casos brasileiros de LPA tratados com ATRA e relataram SG de 50% em 3 anos.

É fato que a menor RC observada em nossos pacientes (67%), quando comparada à literatura (85-90%), tem impacto na diminuição da SG. No já citado estudo brasileiro multicêntrico, Jacomo et al. obtiveram índice de RC similar aos nossos resultados. Talvez haja uma maior incidência de coagulopatias graves associada a um diagnóstico tardio destes pacientes até que iniciem o tratamento, pois sabemos que a maior causa de morte neste grupo são os eventos hemorrágicos. Outros estudos, específicos sobre as LPA em nossa população, seriam desejáveis para esclarecer a questão.

Os mesmos Tallman et al. e Sanz et al. descreveram uma SLD em 5 anos no grupo que utilizou ATRA de 74% e 81%, respectivamente. Em nosso estudo, obtivemos resultados semelhantes, com SLD de 72% no período. Isto também reforça a hipótese de que a precocidade e o suporte adequado na indução sejam determinantes para o resultado final, pois uma vez em RC, os números tornam-se semelhantes à literatura internacional.

Não comparamos diferentes protocolos envolvendo ATRA em nossos pacientes, como o uso daunorrubicina associada ou não à citarabina na terapia de indução. Também não analisamos as LPA estratificadas por risco, com parâmetros como o número de leucócitos ao diagnóstico. É provável que os resultados fossem diferentes entre os grupos se assim o fizéssemos. Jacomo et al. descreveram uma maior incidência de LPA de alto risco (com leucocitose) na população brasileira, o que não sabemos se é verdadeiro no HCFMUSP.

5.3.7. Sobrevida, de acordo com a classificação FAB

Em meio aos 400 pacientes tratados com intenção de cura, 366 foram classificados pelos critérios da FAB. Optamos ainda por subdividir as M3 de acordo com o uso de ATRA. Foram evidenciadas diferenças estatísticas na SG ($p=0,0068$), SLD ($p<0,0001$) e SLE ($p=0,0001$), sempre favorecendo as M3 tratadas com a droga.

A SG global da M3 com ATRA, de 45%, já foi discutida. Observamos SG de 36% entre as M2 e 27% entre as M4, sempre considerando um período de 5 anos. Não deve tratar-se de coincidência o fato de que os melhores grupos da FAB em termos de SG sejam aqueles mais comumente associados a um melhor prognóstico citogenético, como M3 (translocação 15;17), M2 (translocação 8;21) e M4 (inversão do cromossomo 16).

Também a SLD e SLE favorecem estas mesmas categorias da FAB e levam ao mesmo raciocínio, mostrando porém a M4 melhores resultados que a M2 (SLD e SLE de 35% e 30%, respectivamente).

5.3.8. Sobrevida, de acordo com as doses de citarabina na consolidação

No tratamento atual das LMA, a fase pós-remissão pode englobar somente quimioterapia ou TCTH, preferencialmente alogênico. Isto depende, é claro, do prognóstico citogenético ou molecular e da existência de doador compatível. Quando o cariótipo é desfavorável ou intermediário com alterações moleculares de mau prognóstico e não houver doador, pode ser considerado o TCTH autólogo. Os eventos envolvendo TCTH, em qualquer das suas modalidades, não foram o foco de nosso estudo, que limitou-se ao tratamento quimioterápico.

Ao considerarmos as pacientes com LMA não promielocíticas e que alcançaram a fase de consolidação, comparamos grupos distintos quanto às doses de citarabina: baixa dose vs alta dose, mas menor que a mediana de

45,45 g vs alta dose e maior que a mediana de 45,45 g. Observamos diferenças estatisticamente significantes entre os 3 grupos na SG ($p=0,0001$) e SLE ($p=0,0222$), enquanto que a SLD não mostrou valor de p significativo.

A SG em 5 anos foi estimada em pouco mais de 68% no grupo que recebeu altas de citarabina e dose total maior ou igual a 45,45 g; cerca de 44% no grupo que recebeu altas doses da droga, mas total menor que 45,45 g e 21% no grupo que não recebeu altas doses de citarabina. O estudo realizado pelo grupo CALGB (Mayer et al., 1994) popularizou a citarabina em doses elevadas na consolidação em pacientes abaixo de 60 anos, com SG de 59% no período de 5 anos.

Porém, torna-se difícil comparar as doses utilizadas pelo CALGB com as nossas, pois enquanto sua avaliação foi baseada na dose de 3 g/m² duas vezes ao dia por três dias não consecutivos, em um máximo de 4 ciclos, nós optamos por avaliar a partir da mediana de dose total. Nossa escolha deveu-se ao fato de que vários pacientes não conseguem tolerar os 4 ciclos em dose plena, que no protocolo do HCFMUSP prevê 2,5 g/m² duas vezes ao dia por três dias não consecutivos. Assim, acreditamos que a dose total efetivamente administrada é um parâmetro mais fiel para a avaliação de resultados. De todo modo, a SG de 59% obtida pelo CALGB fica entre aquelas observadas por nós no grupo de altas doses abaixo e acima de 45,45 g de dose total.

A SLE em 5 anos foi de aproximadamente 41% no grupo que recebeu altas doses de citarabina e dose total maior ou igual a 45,45 g; 34% no grupo que recebeu altas da medicação, mas total menor que 45,45 g e 23% no grupo que não recebeu altas doses de citarabina. O grupo ECOG (Cassileth et al., 1992) publicou dados sugerindo benefícios de altas doses de citarabina na SLE, utilizando a dose de 3 g/m² duas vezes ao dia por três dias não consecutivos, com máximo de 4 ciclos. Seus relatos foram de SLE de 27% no grupo de altas doses contra 16% do grupo que utilizou doses de manutenção apenas. Esta diferença tinha significância estatística ($p=0,0068$) em pacientes abaixo de 60 anos.

O número ideal de ciclos de citarabina em altas doses na consolidação permanece incerto. Um estudo finlandês comparou 4 ciclos vs 8 ciclos e não demonstrou vantagens para qualquer dos grupos, sugerindo que o mais importante seria a consolidação intensiva precoce, logo após a RC (Elonem et al., 1998). Em estudo americano do U.S. Intergroup, apenas 1 ciclo intensificado de citarabina na consolidação conferiu SLD de 52% em 5 anos (Cassileth et al., 1998).

Nossos dados sugerem que a consolidação intensificada com altas doses de citarabina seja determinante nos resultados de sobrevida das LMA não promielocíticas, principalmente se a dose total administrada for de pelo menos 45,45 g. Em LMA com rearranjos moleculares do tipo CBF, os resultados tendem a ser ainda melhores (não avaliado neste estudo).

5.3.9. Sobrevida, de acordo com a origem da leucemia

Quanto à origem, constatamos que dos 400 pacientes com LMA tratados com intenção de cura, 83% (332) apresentavam leucemia primária (*de novo*) e 17% (68) desenvolveram doença secundária, seja à síndromes mielodisplásicas, mieloproliferativas, drogas ou mais raramente anemias aplásticas.

A análise estatística apontou diferenças entre os 2 grupos em relação à SG ($p=0,0014$) e SLE ($p=0,0266$), enquanto a SLD não revelou-se significativa.

A SG em 5 anos nas LMA primárias foi estimada em 32%, contra apenas 7% nas secundárias. Em essência, a explicação é que as LMA secundárias costumam associar-se a alterações citogenéticas e moleculares de mau prognóstico, com SG semelhante às LMA primárias de cariótipo desfavorável. Nossos números corroboram os relatos da literatura médica. As alterações cariotípicas mais comumente encontradas envolvem os cromossomos 5 e 7 (Smith et al., 2003).

Assim, não causou surpresa o fato da SLE também sugerir vantagem para as LMA primárias, com 38% em 5 anos, enquanto que somente 10% dos pacientes com doença secundária mostravam-se livre de eventos no período.

5.4. ANÁLISE MULTIVARIADA DE SOBREVIDA

5.4.1. Sobrevida Global (SG)

Neste estudo, verificamos diferenças estatisticamente importantes favorecendo doses totais mais elevadas de citarabina na consolidação durante a análise multivariada. A administração de doses acima da mediana de 45,45 g, em pacientes abaixo de 60 anos, revelou-se um fator independente para uma maior SG.

Já os resultados do ajuste do modelo de regressão de Cox não demonstraram que variáveis como idade ($p=0,088$), cariótipo ($p=0,418$), classificação FAB ($p=0,419$) e origem da LMA ($p=0,079$) apresentem riscos estatisticamente diferentes de morte.

A falta de evidências estatísticas quanto ao papel do cariótipo na maior SG daqueles que receberam altíssimas doses de citarabina em nossa população causou surpresa. Em estudo de 1998, Bloomfield et al. relataram melhores resultados em termos de SG após consolidação semelhante naqueles pacientes com leucemias do tipo CBF (*core binding factor*), geralmente associadas a alterações cariotípicas favoráveis, como $t(8;21)$ e $inv(16)$. Este grupo apresentou SG em 5 anos de 64%, contra 35% naqueles com cariótipos normais e 27% nos que possuíam outras alterações.

Não acreditamos na hipótese de que nossos pacientes possam ter suas eventuais alterações citogenéticas de mau prognóstico sobrepujadas pela intensificação da consolidação, por maior que esta venha a ser. Fatores como o número limitado de cariótipos analisados, principalmente quando

consideramos o grupo favorável sem as t(15;17) - alvos de um protocolo distinto e sem altas doses de citarabina - prejudicam a comparação. Nosso grupo carotípico favorável foi formado, em grande parte, pelas t(15;17) e complementado com poucas t(8;21) e inv(16), conforme demonstrado na tabela 5 (p. 61).

Observamos que risco de morte de um paciente que recebeu altas doses de citarabina, mas dose total menor que a mediana de 45,45 g é cerca de 3,8 vezes maior em relação àquele tratado com altas doses de citarabina e dose total maior ou igual a 45,45 g ($p=0,043$), mantendo constantes as informações da idade, carótipo, classificação FAB e origem da LMA.

Evienciamos também que o risco de morte de um indivíduo que recebeu baixas doses de citarabina é aproximadamente 9,7 vezes maior quando comparado àquele que recebeu altas doses, com total maior ou igual a mediana de 45,45 g ($p=0,001$), com as mesmas informações de idade, cariótipo, classificação FAB e origem da doença.

5.4.2. Sobrevida Livre de Doença (SLD)

A análise multivariada não apresentou resultados estatisticamente diferentes quando consideramos cariótipo ($p=0,488$), classificação FAB ($p=0,664$), protocolo de indução ($p=0,366$) e consolidação com altas doses de citarabina ($p=0,174$).

Não conseguimos reproduzir em nossa amostra, portanto, possíveis vantagens na SLD em 5 anos, como Farag et al., que estudou pacientes de cariótipo normal e relatou SLD de 41% no grupo que recebeu consolidação com altas doses de citarabina *versus* 28% no grupo tratado com consolidação padrão.

5.4.3. Sobrevida Livre de Eventos (SLE)

Não foram evidenciadas diferenças quando analisamos idade ($p=0,528$), cariótipo ($p=0,333$), classificação FAB ($p=0,661$), consolidação com altas doses de citarabina ($p=0,182$) e origem da LMA ($p=0,270$) no que diz respeito à SLE.

6 CONCLUSÕES

- 1) Há um maior índice de remissão completa em pacientes abaixo de 60 anos, com cariótipos favoráveis e leucemias primárias (*de novo*).
- 2) Não foram evidenciadas diferenças entre os protocolos de indução das leucemias mielóides agudas não promielocíticas utilizados de 1978 a 2007, no que diz respeito à remissão completa, óbitos precoces e sobrevida. O aumento das doses de daunorrubicina pode ser considerado, para pacientes até 65 anos.
- 3) O prognóstico citogenético foi validado em nossa população e sua influência na sobrevida é comparável à literatura internacional.
- 4) O uso do ATRA mudou a história natural das leucemias promielocíticas agudas, porém nossos resultados ainda são inferiores àqueles comumente descritos, tanto em remissão completa quanto em sobrevida.
- 5) Doses totais elevadas de citarabina na fase de consolidação, principalmente de 45,45 gramas ou mais, constituem fator independente para maior sobrevida global em pacientes com leucemias mielóides agudas não promielocíticas.
- 6) A análise da influência do cariótipo nos resultados da consolidação foi prejudicada pelo pequeno número de casos de leucemias agudas não promielocíticas no grupo considerado favorável.

7 REFERÊNCIAS

1. Abe R, Umezu H, Uchida T, Kariyone S, Maseki N, Kaneko Y, Sakurai M. Myeloblastoma with an 8;21 chromosome translocation in acute myeloblastic leukemia. *Cancer*. 1986;58:1260-1264.
2. Abu-Duhier F, Goodeve AC, Wilson GA, Gari MA, Peake IR, Rees DC, Vandenberghe EA, Winship PR, Reilly JT. FLT3 internal tandem duplication mutations in adult acute myeloid leukaemia define a high-risk group. *Br J Haematol*. 2000;111(1):190-195.
3. Aksoy M. Benzene as a leukemogenic and carcinogenic agent. *Am J Indust Med*. 1985;8:9-20.
4. Albain KS, Le Beau MM, Ulirsch R, Schumacher H. Implication of prior treatment with drug combinations including inhibitors of topoisomerase II in therapy-related monocytic leukemia with a 9;11 translocation. *Genes Chromosomes Cancer*. 1990; 2(1):53-58.
5. Anderson JE, Kopecky KJ, Willman CL, Head D, O'Donnell MR, Luthardt FW, Norwood TH, Chen IM, Balcerzak SP, Johnson DB, Appelbaum FR. Outcome after induction chemotherapy for older patients with acute myeloid leukemia is not improved with mitoxantrone and etoposide compared to cytarabine and daunorubicin: A Southwest Oncology Group study. *Blood*. 2002; 100(12):3869-76.
6. Appelbaum FR. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute leukemia. *Semin Oncol*. 1997;24(1):114-123.

7. Arlin Z, Case DC Jr, Moore J, Wiernik P, Feldman E, Saletan S, Desai P, Sia L, Cartwright K. Randomized multicenter trial of cytosine arabinoside with mitoxantrone or daunorubicin in previously untreated adult patients with acute nonlymphocytic leukemia (ANLL). Lederle Cooperative Group. *Leukemia*. 1990;4(3):177-83.
8. Arthur DC, Bloomfield CD: Partial deletion of long arm of chromosome 16 and bone marrow eosinophilia in acute monomyelocytic leukemia: A new association. *Blood*. 1983; 61:994–998.
9. Avvisati G, Lo Coco F, Mandelli F. Acute promyelocytic leukemia: clinical and morphological features and prognostic factors. *Seminars in Hematology*. 2001;38(1):4-12.
10. Bader JL, Miller RW. Neurofibromatosis and childhood tumors. *J Pediatr* 1978;92:925-929.
11. Baer MR, Barcos M, Farrel H, Raza A, Preisler HD. Acute myelogenous leukemia with leukemia cutis: eighteen cases seen between 1969 and 1986. *Cancer*. 1989;63(11):2192-2200.
12. Baer MR. Management of unusual presentations of acute leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1993;7:275–292.
13. Beaupre DM, Kurzrock R. RAS and leukemia: From basic mechanisms to gene-directed therapy. *J Clin Oncol*. 1999;17(3):1071.
14. Béné MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, can't Veer MB. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia*. 1995; 9(10):1783-1786.

15. Béné MC, Bernier M, Castoldi G, Faure GC, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, van't Veer M. Impact of immunophenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica*. 1999;84(11):1024-1034.
16. Béné MC, Bernier M, Casasnovas RO, Castoldi G, Doekhran D, van der Holt B, Knapp W, Lemez P, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, Schoch C, Sperling C, van't Veer MB. Acute myeloid leukaemia M0: Haematological, immunophenotypic and cytogenetic characteristics and their prognostic significance: An analysis in 241 patients. *Br J Haematol*. 2001;113:737-45.
17. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. Proposals for the classification of the acute leukemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976;33(4):451-458.
18. Berman E. Chemotherapy in acute myelogenous leukemia: high-dose, higher expectations [Editorial]. *J Clin Oncol*. 1994;12:671-678.
19. Blatt J. Neufibromatosis and childhood tumors. *Cancer*. 1986;57(6):1225-1229.
20. Bloomfield CD, Lawrence D, Byrd JC, Carroll A, Pettenati MJ, Tantravahi R, Patil SR, Davey FR, Berg DT, Schiffer CA, Arthur DC, Mayer RJ. Frequency of prolonged remission duration after high-dose cytarabine intensification in acute myeloid leukemia varies by cytogenetic subtype. *Cancer Res*. 1998; 58(18):4173-4179.
21. Boffetta P. Diesel exhaust exposure and leukemia risk. *J Occup Environ Med*. 2004; 46(10): 1076-1083.

22. Boggs DR, Wintrobe MM, Cartwright GE. The acute leukemias. *Medicine*. 1962;41:163-225.
23. Bohr VA, Evans MK, Fornace AJ Jr. Biology of disease: DNA repair and its pathogenetic implications. *Lab Invest*. 1989;61(2):143-161.
24. Bos JL, Toksoz D, Marshall CJ, Verlaan-de Vries M, van der Eb AJ, van Boom JH, Janssen JW, Steenvoorden AC. Amino-acid substitutions at codon 13 of the N-ras oncogene in human acute myeloid leukaemia. *Nature*. 1985;315(6022):726-730.
25. Bradstock K, Matthews J, Benson E, Benson E, Page F, Bishop J. Prognostic value of immunophenotyping in acute myeloid leukemia. Australian Leukaemia Study Group. *Blood*. 1994; 84(4):1220-5.
26. Breitman TR, Collins SJ, Keene BR. Terminal differentiation of human promyelocytic leukemic cells in primary culture in response to retinoic acid. *Blood*. 1981; 57:1000.
27. Brunning RD, Vardiman J, Matutes E, et al. Acute myeloid leukemia. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, eds. *World Health Organization classification of tumors: tumors of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press, 2001. p.75-107.
28. Brunning RD. Classification of acute leukemias. *Semin Diagn Pathol*. 2003;20(3):142-153.
29. Büchner T, Hiddemann W, Berdel WE, Wörmann B, Schoch C, Fonatsch C, Löffler H, Haferlach T, Ludwig WD, Maschmeyer G, Staib P, Aul C, Gruneisen A, Lengfelder E, Frickhofen N, Kern W, Serve HL, Mesters RM, Sauerland MC, Heinecke A; German AML Cooperative Group. 6-Thioguanine, cytarabine, and daunorubicin (TAD) and high-dose cytarabine and mitoxantrone (HAM) for induction, TAD for

- consolidation, and either prolonged maintenance by reduced monthly TAD or TAD-HAM-TAD and one course of intensive consolidation by sequential HAM in adult patients at all ages with de novo acute myeloid leukemia (AML): A randomized trial of the German AML Cooperative Group. *J Clin Oncol* 2003;21:4496-504.
30. Buckner CD, Clift RA. Allogeneic transplantation in acute myelogenous leukemia: are we stuck? *Leuk Lymphoma*. 1993;11[Suppl 2]:25–28.
 31. Burnett AK, Goldstone AH, Stevens RMF, Hann IM, Rees JK, Gray RG, Wheatley K. Randomised comparison of addition of autologous bone marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. UK Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Lancet*. 1998;351:700-708.
 32. Burnett AK, Kell J, Rowntree C. Acute myeloid leukemia: therapeutic indications. *Curr Opin Hematol*. 2000;7(6):333-338.
 33. Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, Pettenati MJ, Patil SR, Rao KW, Watson MS, Koduru PR, Moore JO, Stone RM, Mayer RJ, Feldman EJ, Davey FR, Schiffer CA, Larson RA, Bloomfield CD; Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: Results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*. 2002; 100:4325-36.
 34. Caligiuri MA, Schichman AS, Strout MP, Mrózek K, Baer MR, Frankel SR, Barcos M, Herzig GP, Croce CM, Bloomfield CD. Molecular rearrangement of the ALL-1 gene in acute myeloid leukemia without cytogenetic evidence of 11q23 chromosomal translocations. *Cancer Res*. 1994;54(2):370-373.

35. Cassileth PA, Lynch E, Hines JD, Oken MM, Mazza JJ, Bennett JM, McGlave PB, Edelstein M, Harrington DP, O'Connell MJ. Varying intensity of postremission therapy in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1992; 79(8):1924-30.
36. Cassileth PA, Harrington DP, Appelbaum FR, Lazarus HM, Rowe JM, Paietta E, Willman C, Hurd DD, Bennett JM, Blume KG, Head DR, Wiernik PH. Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. *N Engl J Med*. 1998;339(23):1649-56.
37. Castagnola C, Nozza A, Corso A, Bernasconi C. The value of combination therapy in adult acute myeloid leukemia with central nervous system involvement. *Haematologica*. 1997;82(5):577-580.
38. Castilla LH, Wijmenga C, Wang Q, Stacy T, Speck NA, Eckhaus M, Marín-Padilla M, Collins FS, Wynshaw-Boris A, Liu PP. Failure of embryonic hematopoiesis and lethal hemorrhages in mouse embryos heterozygous for a knocked-in leukemia gene CBFβ-MYH11. *Cell*. 1996;87:687-96.
39. Champlin R, Gajewski J, Nimer S, Vollset S, Landaw E, Winston D, Schiller G, Ho W. Post remission chemotherapy for adults with acute myelogenous leukemia: improved survival with high-dose cytarabine and daunorubicin consolidation treatment. *J Clin Oncol*. 1990;8:1199-1206.
40. Chen GQ, Zhu J, Shi XG, Ni JH, Zhong HJ, Si GY, Jin XL, Tag W, Li XS, Xong SM, Shen ZX, Sun GL, Ma J, Zhang P, Zhang TD, Gazin C, Naoe T, Chen SJ, Wang ZY, Chen Z. In vitro studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide (As₂O₃) in the treatment of acute promyelocytic leukemia: As₂O₃ induces NB4 cell apoptosis with

- downregulation of Bcl-2 expression and modulation of PML-RAR alpha/PML proteins. *Blood*. 1996;88:1052-61.
41. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, Büchner T, Willman CL, Estey EH, Schiffer CA, Doehner H, Tallman MS, Lister TA, Lo-Coco F, Willemze R, Biondi A, Hiddemann W, Larson RA, Löwenberg B, Sanz MA, Head DR, Ohno R, Bloomfield CD; International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. Revised Recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2003;21:4642-4649.
 42. Cohen PR, Talpaz M, Kurzrok R. Malignancy-associated Sweet's syndrome: review of the world literature. *J Clin Oncol*. 1988;6:1887-1897.
 43. Del Vecchio L, Schiabone EM, Ferrara F, Pace E, Lo Pardo C, Pacetti M, Russo M, Cirillo D, Vacca C. Immunodiagnosis of acute leukemia displaying ectopic antigens: Proposal for a classification of promiscuous phenotypes. *Am J Hematol*. 1989;31:173-180.
 44. Diller L, Li FP. Epidemiology of cancer in childhood. In: Nathan DG, Orkin SH (eds). *Haematology of infancy and childhood*. 5th ed. Philadelphia: Saunders; 1998. chapter 27, p.1071-1091.
 45. Doll R. Effects of small doses of ionizing radiation. *J Radiol Prot*. 1998;18:163-174.

46. Dorreen MS, Gregory WM, Wrigley PF, Stansfeld AG, Lister TA. Second primary malignant neoplasms in patients treated for Hodgkin's disease at St. Bartholomew's Hospital. *Hematol Oncol.* 1986;4(2):149-161.
47. Elonen E, Almqvist A, Hanninen A, Jansson SE, Järventie G, Koistinen P, Koivunen E, Lahtinen R, Lehtinen M, Nousiainen T, Pelliniemi TT, Rajamäki A, Remes K, Timonen T, Vilpo J, Volin L, Ruutu T. Comparison between four and eight cycles of intensive chemotherapy in adult acute myeloid leukemia: A randomized trial of the Finnish Leukemia Group. *Leukemia.* 1998; 12:1041-8.
48. Estey EH. Advances in the management of AML in the elderly. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2007;5(3):185-187.
49. Falini B, Nicoletti I, Martelli MF, Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): biologic and clinical features. *Blood.* 2007;109(3):874-885.
50. Farag SS, Ruppert AS, Mrózek K, Mayer RJ, Stone RM, Carroll AJ, Powell BL, Moore JO, Pettenati MJ, Koduru PR, Stamberg J, Baer MR, Block AW, Vardiman JW, Kolitz JE, Schiffer CA, Larson RA, Bloomfield CD. Outcome of induction and postremission therapy in younger adults with acute myeloid leukemia with normal karyotype: a cancer and leukemia group B study. *J Clin Oncol.* 2005;23(3):482-93.
51. Fenaux P, Chomienne C, Degos L. Acute promyelocytic leukemia: biology and treatment. *Semin Oncol.* 1997;24:92-102.
52. Fernandez HF, Sun Z, Yao X, Litzow MR, Luger SM, Paietta EM, Racevskis J, Dewald GW, Ketterling RP, Bennett JM, Rowe JM, Lazarus HM, Tallman MS. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2009;361(13):1249-1259.

53. Ferrara F. Unanswered questions in acute myeloid leukaemia. *Lancet Oncol.* 2004;5(7):443-450.
54. Ferry JA, Snigley JR, Young RH. Granulocytic sarcoma of the testis: a report of two cases of a neoplasm prone to misinterpretation. *Mod Pathol.* 1997;10:320-325.
55. Frankel SR, Eardley A, Heller G, Berman E, Miller WH Jr, Dmitrovsky E, Warrell RP Jr. All-trans retinoic acid for acute promyelocytic leukemia. Results of the New York study. *Ann Intern Med.* 1994;120:278-286.
56. Furman WL, Fontanesi J, Hustu O, Dahl GV, Kalwinsky DK, Pui CH. Testicular relapse in children with acute nonlymphoblastic leukemia. *Cancer.* 1990;66:2095-2098.
57. Gale RP, Cline MJ. High remission-induction rate in acute myeloid leukaemia. *Lancet.* 1977 Mar 5;1(8010):497-9.
58. Gale RP, Foon KA. Therapy of acute myelogenous leukemia. *Semin Hematol.* 1987 Jan;24(1):40-54.
59. Gardin C, Turlure P, Fagot T, Thomas X, Terre C, Contentin N, Raffoux E, de Botton S, Pautas C, Reman O, Bourhis JH, Fenaux P, Castaigne S, Michallet M, Preudhomme C, de Revel T, Bordessoule D, Dombret H. Postremission treatment of elderly patients with acute myeloid leukemia in first complete remission after intensive induction chemotherapy: Results of the multicenter randomized Acute Leukemia French Association (ALFA) 9803 trial. *Blood.* 2007;109:5129-35.
60. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood.* 2002; 100(5):1532.

61. Goldstone AH, Burnett AK, Wheatley K, Smith AG, Hutchinson RM, Clark RE; Medical Research Council Adult Leukemia Working Party. Attempts to improve treatment outcomes in acute myeloid leukemia (AML) in older patients: The results of the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood*. 2001;98(5):1302-11.
62. Golub TR, Arceci RJ. Acute myelogenous leukemia. In: Pizzo P, Poplack D, eds. *Principles and practice of pediatric oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:545–590.
63. Greer JP, Baer MR, Kinney MC. Acute myeloid leukemia in adults. In: Wintrobe's Clinical Hematology 11th Edition. 2004.p.2097 -
64. Grimwade D, Walker H, Oliver F, Wheatley K, Harrison C, Harrison G, Rees J, Hann I, Stevens R, Burnett A, Goldstone A. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: Analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood*. 1998;92:2322-33.
65. Griffith J, Black J, Faerman C, Swenson L, Wynn M, Lu F, Lippke J, Saxena K. The structural basis for autoinhibition of FLT3 by the juxtamembrane domain. *Mol Cell*. 2004;13(2):169-78.
66. Griffin JD. Point mutations in the FLT3 gene in AML. *Blood*. 2001;97(8):2193A.
67. Grignani F, Fagioli M, Alcalay M, Longo L, Pandolfi PP, Dotti E, Biondi A, Lo Coco F, Grignani F, Pelicci PG. Acute promyelocytic leukemia: from genetics to treatment. *Blood*. 1994;83(1):10-25.

68. Grimwade D, Walker H, Oliver F, Wheatley K, Harrison C, Harrison G, Rees J, Hann I, Stevens R, Burnett A, Goldstone A. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood*. 1998; 92(7): 2322-2333.
69. Grimwade D, Walker H, Harrison G, Oliver F, Chatters S, Harrison CJ, Wheatley K, Burnett AK, Goldstone AH; Medical Research Council Adult Leukemia Working Party. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood*. 2001;98(5):1312-1320.
70. Grimwade D, Moorman A, Hills R, Wheatley K, Walker H, Harrison G, Harrison Ch, Goldstone A, Burnett A; NCRI Adult Leukaemia Working Party. Impact of karyotype on treatment outcome in acute myeloid leukemia. *Ann Hematol*. 2004;83(Suppl 1):S45-48.
71. Gutmann DH. Juvenile xanthogranuloma, neurofibromatosis 1, and juvenile chronic myeloid leukemia. *Arch Dermatol*. 1996;132(11):1390-1391.
72. Haferlach T, Schoch C, Löffler H, Gassmann W, Kern W, Schnittger S, Fonatsch C, Ludwig WD, Wuchter C, Schlegelberger B, Staib P, Reichle A, Kubica U, Eimermacher H, Balleisen L, Grüneisen A, Haase D, Aul C, Karow J, Lengfelder E, Wörmann B, Heinecke A, Sauerland MC, Büchner T, Hiddemann W. Morphologic dysplasia in de novo acute myeloid leukemia (AML) is related to unfavorable cytogenetics but has no independent prognostic relevance under the conditions of intensive induction therapy: results of a multiparameter analysis from the German AML Cooperative Group studies. *J Clin Oncol*. 2003;21(2):256-265.

73. Harousseau JL, Cahn JY, Pignon B, Witz F, Milpied N, Delain M, Lioure B, Lamy T, Desablens B, Guilhot F, Caillot D, Abgrall JF, Francois S, Briere J, Guyotat D, Casassus P, Audhuy B, Tellier Z, Hurteloup P, Herve P. Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. The Groupe Ouest Est Leucémies Aiguës Myéloblastiques (GOELAM). *Blood*. 1997;90(8):2978-2986.
74. Heaney ML, Golde DW. Myelodysplasia. *N Eng J Med*. 1999;340(21):1649-1660.
75. Henderson ES, Lister TA, Greaves MF. History of Leukemia. In: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF, eds. *Leukemia*. Philadelphia: Saunders; 2002. p.1-7.
76. Hernandez JA, Land KJ, McKenna RW. Leukemias, myelomas, and other lymphoreticular neoplasms. *Cancer*. 1995;75:381-394.
77. Hertenstein B, Heil G, Heimpel H. Allogeneic bone marrow transplantation or chemotherapy for patients with acute myeloid leukemia in first complete remission: a decision analysis approach. *Ann Hematol*. 1996;72:223-230.
78. Hess CE, Joyce RA. Acute myeloblastic leukemia presenting as progressive hepatic failure. *South Med J*. 1981;74(8):1028-1029.
79. Higuchi M, O'Brien D, Kumaravelu P, Lenny N, Yeoh EJ, Downing JR. Expression of a conditional AML1-ETO oncogene bypasses embryonic lethality and establishes a murine model of human t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2002;1:63-74.
80. Hillestad LK. Acute promyelocytic leukemia. *Acta Med Scand*. 1957;159(3):189-94.

81. Holmes R, Keating MJ, Cork A, Broach Y, Trujillo J, Dalton WT Jr, McCredie KB, Freireich EJ. A unique pattern of central nervous system leukemia in acute myelomonocytic leukemia associated with inv(16)(p13q22). *Blood*. 1985;65(5):1071-1078.
82. Illmer T, Schuler US, Thiede C, Schwarz UI, Kim RB, Gotthard S, Freund D, Schäkel U, Ehninger G, Schaich M. MDR1 gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients. 2002;62(17):4955-4962.
83. Jácomo RH, Melo RA, Souto FR, de Mattos ER, de Oliveira CT, Fagundes EM, Bittencourt HN, Bittencourt RI, Bortolheiro TC, Paton EJ, Bendlin R, Ismael S, Chauffaille Mde L, Silva D, Pagnano KB, Ribeiro R, Rego EM. Clinical features and outcomes of 134 Brazilians with acute promyelocytic leukemia who received ATRA and anthracyclines. *Haematologica*. 2007 Oct;92(10):1431-2.
84. Jaffee ES, Harris NL, Stein H, et al. (eds): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of haemopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2001.
85. Jagdeo J, Campbell R, Long T, Muglia J, Telang G, Robinson-Bostom L. Sweet's syndrome--like neutrophilic lobular panniculitis associated with all-trans-retinoic acid chemotherapy in a patient with acute promyelocytic leukemia. *J Am Acad Dermatol*. 2007;56(4):690-693.
86. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2002;52:23-47.
87. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin*. 2006;56(2):106-30.

88. Jurlander J, Caligiuri MA, Ruutu T, Baer MR, Strout MP, Oberkircher AR, Hoffmann L, Ball ED, Frei-Lahr DA, Christiansen NP, Block AM, Knuutila S, Herzig GP, Bloomfield CD. Persistence of the AML1/ETO fusion transcript in patients treated with allogeneic bone marrow transplantation for t(8;21) leukemia. *Blood*. 1996; 88(6): 2183-91.
89. Kanda Y, Hamaki T, Yamamoto R, Chizuka A, Suguro M, Matsuyama T, Takezako N, Miwa A, Kami M, Hirai H, Togawa A. The clinical significance of CD34 expression in response to therapy of patients with acute myeloid leukemia: an overview of 2483 patients from 22 studies. *Cancer*. 2000; 88(11):2529-2533.
90. Karp JE, Smith MA. The molecular pathogenesis of treatment-induced (secondary) leukemias: foundations for treatment and prevention. *Semin Oncol*. 1997;24:103-113.
91. Karp JE, Sarkodee-Adoo CB. Therapy related acute leukemia. *Clin Lab Med*. 2000; 20:71-78.
92. Kern W, Aul C, Maschmeyer G, Schönrock-Nabulsi R, Ludwig WD, Bartholomäus A, Bettelheim P, Wörmann B, Büchner T, Hiddemann W. Superiority of high-dose over intermediate-dose cytosine arabinoside in the treatment of patients with high-risk acute myeloid leukemia: results of an age-adjusted prospective randomized comparison. *Leukemia*. 1998;12(7):1049-1055.
93. Kent AB, Weinstein RS. Case report: Hypercalcemia in acute myeloblastic leukemia is caused by osteoclast activation. *Am J Med Sci*. 1993;306:169-73.

94. Kim DH, Park JY, Sohn SK, Lee NY, Baek JH, Jeon SB, Kim JG, Suh JS, Do YR, Lee KB. Multidrug resistance-1 gene polymorphisms associated with treatment outcomes in de novo acute myeloid leukemia. *Int J Cancer*. 2006;118(9):2195-2201.
95. King ME, Rowe JM. Recent developments in acute myelogenous leukemia therapy. *The Oncologist*. 2007;12(2):14-21.
96. Kiyoi H, Naoe T, Yokota S. Internal tandem duplication of FLT3 associated with leukocytosis in acute promyelocytic leukemia. Leukemia Study Group of the Ministry of Health and Welfare (Kohseisho). *Leukemia*. 1997 Sep;11(9):1447-1452.
97. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y, Yokota S, Minami S, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Jinnai I, Shimazaki C, Akiyama H, Saito K, Oh H, Motoji T, Omoto E, Saito H, Ohno R, Ueda R. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1999;93(9):3074-80.
98. Kolitz JE. Acute leukemias in adults. *Dis Mon*. 2008a;54(4): 226-241.
99. Kolitz JE. Acute leukemias in adults. In: Rakel RE, Bope ET. *Conn's Current Therapy*, 2008b, Elsevier: section 6, 441-446.
100. Kowal-Vern A, Mazzella FM, Cotelingam JD, Shrit MA, Rector JT, Schumacher HR. Diagnosis and characterization of acute erythroleukemia subsets by determining the percentages of myeloblasts and proerythroblasts in 69 cases. *Am J Hematol*. 2000;65:5-13.
101. Lee EJ, Pollak A, Leavitt RD, Testa JR, Schiffer CA. Minimally differentiated acute nonlymphocytic leukemia: a distinct entity. *Blood*. 1987;70:1400-1406.

102. Leith CP, Kopecky KJ, Godwin J, McConnell T, Slovak ML, Chen IM, Head DR, Appelbaum FR, Willman CL. Acute myeloid leukemia in the elderly: assessment of multidrug resistance (MDR1) and cytogenetics distinguishes biologic subgroups with remarkably distinct responses to standard chemotherapy. A Southwest Oncology Group study. *Blood*. 1997;89(9):3323-3329.
103. Lester TJ, Johnson JW, Cuttner J. Pulmonary leukostasis as the single worst prognostic factor in patients with acute myelocytic leukemia and hyperleukocytosis. *Am J Med*. 1985;79:43-48.
104. Levine EG, Bloomfield CD. Leukemias and myelodysplastic syndromes secondary to drug, radiation, and environmental exposure. *Semin Oncol*. 1992;19(1):47-84.
105. Linet MS. The leukemias: epidemiologic aspects. New York: Oxford University Press; 1985.
106. Linet MS, Devesa SS. Epidemiology of leukemia: overview and patterns of occurrence. In: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF, eds. *Leukemia*. Philadelphia: WB Saunders; 2002. p.131-151.
107. Liu P, Tarlé SA, Hajra A, Claxton DF, Marlton P, Freedman M, Siciliano MJ, Collins FS. Fusion between transcription factor CBFβ/PEBP2B and a myosin heavy chain in acute myeloid leukemia. *Science*. 1993;261:1041-4.
108. Llacer, PED. *Tratamento Quimioterápico da leucemia mielóide aguda: experiência de 16 anos da Disciplina de Hematologia e Hemoterapia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo*. Tese de Livre Docência. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo 1995.

-
109. Lorenzi TF. Patologia dos Leucócitos. In: *Manual de Hematologia Propedêutica e Clínica*. 3rd Edition. 2003. p.298.
110. Lowenberg B. Post-remission treatment of acute myelogenous leukemia [Editorial]. *N Engl J Med*. 1995;332:260-262.
111. Lowenberg B, Burnett AK. Acute myeloid leukaemia in adults. In: Degos L, Linch DC (ed). *Textbook of malignant haematology*, 1st ed. London: Martin Dunitz; 1999a. p.743-769.
112. Lowenberg B, Downing JR, Burnett AK. Acute myeloid leukaemia. *N Engl J Med*. 1999b;341(14):1051-1062.
113. Löwenberg B, Ossenkoppele GJ, van Putten W, Schouten HC, Graux C, Ferrant A, Sonneveld P, Maertens J, Jongen-Lavrencic M, von Lilienfeld-Toal M, Biemond BJ, Vellenga E, van Marwijk Kooy M, Verdonck LF, Beck J, Döhner H, Gratwohl A, Pabst T, Verhoef G; Dutch-Belgian Cooperative Trial Group for Hemato-Oncology (HOVON); German AML Study Group (AMLSG); Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK) Collaborative Group. High-dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2009;361(13):1235-1248.
114. Ma SK, Au WY, Kwong YL, Lam CK, Liang RH, Chan LC. Hematological features and treatment outcome in acute myeloid leukemia with t(8;21). *Hematol Oncol*. 1997; 15(2):93-103.
115. Mathieu J, Besançon F. Arsenic trioxide represses NF-kappaB activation and increases apoptosis un ATRA-treated APL cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1090: 203-8.

-
116. Matsuo T, Kuriyama K, Miyazaki Y, Ohtake S, Sakamaki H, Matsuo T, Emi N, Kobayashi T, Matsushima T, Shinagawa K, Ohno R, Tomonaga M; Japan Adult Leukaemia Study Group. The percentage of myeloperoxidase-positive blast cells is a strong independent prognostic factor in acute myeloid leukemia, even in patients with normal karyotype. *Leukemia*. 2003;17(8),1538-1543.
117. Matutes E, Catovsky D: The value of scoring systems for the diagnosis of biphenotypic leukemia and mature B-cell disorders. *Leuk Lymphoma*. 1994; 13(suppl 1):11-14.
118. Matutes E, Morilla R, Farahat N, Carbonell F, Swansbury J, Dyer M, Catovsky D. Definition of biphenotypic leukemia. *Hematológica*. 1997;82(1):64-66.
119. Mayer RJ, Davis RB, Schiffer CA, Berg DT, Powell BL, Schulman P, Omura GA, Moore JO, McIntyre OR, Frei E 3rd. Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. Cancer and Leukemia Group B. *N Engl J Med*. 1994; 331:896-903.
120. Mayer RJ. Allogeneic transplantation versus intensive chemotherapy in first-remission acute leukemia: is there a "best choice"? *J Clin Oncol* 1988;6:1532-1536.
121. Mazzella FM, Alvares C, Kowal-Vern A, Schumacher HR. The acute erythroleukemias. *Clin Lab Med*. 2000;20(1):119-137.
122. Meshinchi S, Woods WG, Stirewalt DL, Sweetser DA, Buckley JD, Tjoa TK, Bernstein ID, Radich JP. Prevalence and prognostic significance of Flt3 internal tandem duplication in pediatric acute myeloid leukemia. *Blood*. 2001;97(1):89-94.

-
123. Mir MA, Brabin B, Tang OT, Leyland MJ, Delamore IW. Hypokalaemia in acute myeloid leukaemia. *Ann Intern Med.* 1975;82(1):54-7.
124. Mizutani S: Recent advances in the study of the hereditary and environmental basis of childhood leukemia [review]. *Int J Haematol.* 1998; 63:131–143.
125. Brown LM, Gibson R, Blair A, Burmeister LF, Schuman LM, Cantor KP, Fraumeni JF Jr. Smoking and risk of leukemia. *Am J Epidemiol.* 1992;135:763-768.
126. Mrózek K, Heinonen K, de la Chapelle A, Bloomfield CD. Clinical significance of cytogenetics in acute myeloid leukemia. *Semin Oncol.* 1997;24(1):17-31.
127. Mrozek K, Heinonen K, Bloomfield CD. Clinical importance of cytogenetics in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2001;14(1):19-47.
128. Muller S, Sangster G, Crocker J, Nar P, Burnett D, Brown G, Leyland MJ. An immunohistochemical and clinicopathological study of granulocytic sarcoma (chloroma). *Hematol Oncol.* 1986;4:101-112.
129. Nakamura H, Kuriyama K, Sadamori N, Mine M, Itoyama T, Sasagawa I, Matsumoto K, Tsuji Y, Asou N, Kageyama SI, Sakamaki H, Emi N, Ohno R, Tomonaga M. Morphological subtyping of acute myeloid leukemia with maturation (AML-M2): Homogeneous pink colored cytoplasm of mature neutrophils is most characteristic of AML-M2 with t(8;21). *Leukemia.* 1997; 11(5):651-655.
130. Neiman RS, Barcos M, Berard C, Bonner H, Mann R, Rydell RE, Bennett JM. Granulocytic sarcoma: a clinicopathologic study of 61 biopsied cases. *Cancer.* 1981;48:1426-1437.

-
131. Neubauer A, Greenberg P, Negrin R, Ginzton N, Liu E. Mutations in the ras proto-oncogenes in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 1994;8(4):638-41.
132. Nowacki P, Zdziarska B, Fryze C, Urasinski I. Co-existence of thrombocytopenia and hyperleukocytosis ('critical period') as a risk factor of haemorrhage into the central nervous system in patients with acute leukaemias. *Haematologia. (Budap)* 2002;31(4):347-55.
133. Nucifora G, Dickstein JI, Torbenson V, Roulston D, Rowley JD, Vardiman JW. Correlation between cell morphology and expression of the AML1/ETO chimeric transcript in patients with acute myeloid leukemia without the (8;21). *Leukemia*. 1994;8(9):1533-38.
134. Okuda T, van Deursen J, Hiebert SW, Grosveld G, Downing JR. AML1, the target of multiple chromosomal translocations in human leukemia, is essential for normal fetal liver hematopoiesis. *Cell*. 1996; 84(2):321-30.
135. Okuda T, Cai Z, Yang S, Lenny N, Lyu CJ, van Deursen JM, Harada H, Downing JR. Expression of a knocked-in AML1-ETO leukemia gene inhibits the establishment of normal definitive hematopoiesis and directly generates dysplastic hematopoietic progenitors. *Blood*. 1998;91:3134.
136. Pabst T, Mueller BU, Zhang P, Radomska HS, Narravula S, Schnittger S, Behre G, Hiddemann W, Tenen DG. Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-alpha (C/EBPalpha), in acute myeloid leukemia. *Nat Genet*. 2001;27(3):263-270.
137. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 majors cancers in 1990. *Int J Cancer*. 1999;80:827-841.

138. Pedersen-Bjergaard J, Philip P. Two different classes of therapy-related and de-novo acute myeloid leukemia? *Cancer Genet Cytogenet.* 1991;55(1):119-124.
139. Pelloso LA, Chauffaille Mde L, Ghaname FS, Yamamoto M, Bahia DM, Kerbauy J. Karyotype in acute myeloid leukemia: importance and type of aberrations in 30 patients at diagnosis. *Rev Assoc Med Bras.* 2003 A;49(2):150-155.
140. Pierce DA, Shimizu Y, Preston DL, Vaeth M, Mabuchi K. Studies of the mortality of atomic bomb survivors. report 12, part 1. *Radiat Res.* 1996;146:1–27.
141. Piller GJ. Correspondence: Leukaemia – a brief historical review from ancient times to 1950. *Br J Haematol.* 2001;112:282-292.
142. Pui CH, Relling MV. Topoisomerase II inhibitor-related acute myeloid leukemia. *Br J Haematol.* 2000;109:13–23.
143. Reading CL, Estey EH, Huh YO, Claxton DF, Sanchez G, Terstappen LW, O'Brien MC, Baron S, Deisseroth AB. Expression of unusual immunophenotype combinations in acute myelogenous leukemia. *Blood.* 1993;81:3083-90.
144. Rees JK, Sandler RM, Challener J, Hayhoe FG. Treatment of acute myeloid leukaemia with a triple cytotoxic regime: DAT. *Br J Cancer.* 1977 Dec;36(6):770-776.
145. Ries LAG, Eisner MP, Kosary CL. *SEER Cancer statistics review, 1973-1999.* Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2002.

146. Rinsky RA, Smith AB, Hornung R, Filloon TG, Young RJ, Okun AH, Landrigan PJ. Benzene and leukemia. An epidemiologic risk assessment. *N Engl J Med.* 1987;316(17):1044-1050.
147. Ritter J, Vormoor J, Creutzig U, Schellong G. Prognostic significance of Auer rods in childhood acute myelogenous leukemia: results of the studies AML-BFM-78 and -83. *Med Pediatr Oncol.* 1989;17(3):202-209.
148. Rowe JM. Use of growth factors during induction therapy for acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 1996;10(1):40-43.
149. Rowe JM. Is there a role for postremission therapy in older adults with acute myelogenous leukemia (AML)? *Leukemia.* 2005;19(8):1324-27.
150. Rowley JD, Weissman IL. The role of chromosome translocations in leukemogenesis. *Semin Hematol.* 1999;36(4 Suppl 7):59.
151. Russel NH. Biology of acute leukemia. *Lancet.* 1997;349:118-122.
152. Salomoni P, Pandolfi PP. The role of PML in tumor suppression. *Cell.* 2002;108(2):165-70.
153. Sandler DP, Ross JA. Epidemiology of acute leukemia in children and adults. *Semin Oncol.* 1997a;24:3-16.
154. Sandler ES, Friedman DJ, Mustafá MM, Winick NJ, Bowman WP, Buchanan GR. Treatment of children with epipodophyllotoxin – induced secondary acute myeloid leukemia. *Cancer.* 1997b;79(5):1049-1054.
155. Sanz MA, Martin G, Gonzalez M, León A, Rayón C, Rivas C, Colomer D, Amutio E, Capote FJ, Milone GA, De La Serna J, Román J, Barragán E, Bergua J, Escoda L, Parody R, Negri S, Calasanz MJ, Bolufer P; Programa de Estudio y Traitmiento de las Hemopatías

- Malignas. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans-retinoic acid and anthracycline monochemotherapy: A multicenter study by the PETHEMA group. *Blood*. 2004; 103:1237-43.
156. Schiller G. Dose-intensive treatment of acute myelogenous leukemia: improved survival [letter]. *J Clin Oncol*. 1995;13:1828-1830.
157. Schiller G, Lee M, Miller T, Lill M, Mittal-Henkle A, Paquette R, Sawyers C, Territo M. Transplantation of autologous peripheral blood progenitor cells procured after high-dose cytarabine-based consolidation chemotherapy for adults with acute myelogenous leukemia in first remission. *Leukemia*. 1997;11(9):1533-1539.
158. Schlenk RF, Dohner K, Krauter J, Fröhling S, Corbacioglu A, Bullinger L, Habdank M, Späth D, Morgan M, Benner A, Schlegelberger B, Heil G, Ganser A, Döhner H; German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2008;358(18):1909-1918.
159. Schumacher HR, Alvares CJ, Blough RI, Mazzella F. Acute leukemia. *Clin Lab Med*. 2002; 22(1): 153-192.
160. Schwaegerle SM, Bergfeld WF, Senitzer D. Pyoderma gangrenosum: a review. *J Am Acad Dermatol*. 1988;18:559-568.
161. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, Harrington DH, Theil KS, Mohamed A, Paietta E, Willman CL, Head DR, Rowe JM, Forman SJ, Appelbaum FR. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood*. 2000;96(13):4075-4083.

162. Smith SM, Le Beau MM, Huo D, Karrison T, Sobecks RM, Anastasi J, Vardiman JW, Rowley JD, Larson RA. Clinical-cytogenetic associations in 306 patients with therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia: The University of Chicago series. *Blood*. 2003; 102(1):43-52.
163. Speck NA, Gilliland DG. Core-binding factors in haematopoiesis and leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(7):502-13.
164. Stirewalt DL, Radich JP. The role of FLT3 in haematopoietic malignancies. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(9):650-65.
165. Stone RM. Postremission therapy in adults with acute myeloid leukemia. *Semin Hematol*. 2001;38[3 Suppl 6]:17-23.
166. Stone RM, Berg DT, George SL, Dodge RK, Paciucci PA, Schulman PP, Lee EJ, Moore JO, Powell BL, Baer MR, Bloomfield CD, Schiffer CA. Postremission therapy in older patients with de novo acute myeloid leukemia: A randomized trial comparing mitoxantrone and intermediate-dose cytarabine with standard-dose cytarabine. *Blood*. 2001;98(3):548-53.
167. Sullivan AK. Classification, pathogenesis, and etiology of neoplastic diseases of the hematopoietic system. In: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, et al., eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. p.1725-1791.
168. Takatsuki K, Matsuoka M, Yamaguchi K. Adult T-cell leukemia. In Henderson E, Lister T, Greaves M (eds): *Leukemia*. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 596-602.

-
169. Tallman MS, Andersen JW, Schiffer CA, Appelbaum FR, Feusner JH, Ogden A, Shepherd L, Willman C, Bloomfield CD, Rowe JM, Wiernik PH. All-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med.* 1997; 337:1021-28.
170. Tallman MS, Andersen JW, Schiffer CA, Appelbaum FR, Feusner JH, Woods WG, Ogden A, Weinstein H, Shepherd L, Willman C, Bloomfield CD, Rowe JM, Wiernik PH. All-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia: Long-term outcome and prognostic factor analysis from the North American Intergroup protocol. *Blood.* 2002; 100(13):4298-302.
171. Tallman MS, Nabhan C, Feusner JH, Rowe JM. Acute promyelocytic leukemia: Evolving therapeutic strategies. *Blood.* 2002;99(3):759-67.
172. Taylor GM, Birch JM. The hereditary basis of human leukemia. In:Henderson ES, Lister TA, Greaves MF, ed. *Leukemia*, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p.210.
173. Thirman MJ, Larson RA. Therapy-related myeloid leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1996; 10(2):293.
174. Tsai WH, Hsu HC, Lin CC, Ho CK, Kou YR. Role of interleukin-8 and growth-regulated oncogene-alpha in the chemotactic migration of all-trans retinoic acid-treated promyelocytic leukemic cells toward alveolar epithelial cells. *Crit Care Med.* 2007;35(3):879-885.
175. Vardiman JW, Harris NL, Burnning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood.* 2002;100:2292-2302.

-
176. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, Harris NL, Le Beau MM, Hellström-Lindberg E, Tefferi A, Bloomfield CD. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009; 114(5): 937-951.
177. Vogler WR, Velez-Garcia E, Weiner RS, Flaum MA, Bartolucci AA, Omura GA, Gerber MC, Banks PL. A phase III trial comparing idarubicin and daunorubicin in combination with cytarabine in acute myelogenous leukemia: A Southeastern Cancer Study Group Study. *J Clin Oncol*. 1992; 10:1103-11.
178. Walpole AL. Carcinogenic action of alkylating agents. *Ann N Y Acad Sci*. 1958;68:758-761.
179. Wang Q, Stacy T, Binder M, Marin-Padilla M, Sharpe AH, Speck NA. Disruption of the Cbfa2 gene causes necrosis and hemorrhaging in the central nervous system and blocks definitive hematopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93:3444-49.
180. Welch P, Grossi C, Carroll A, Dunham W, Royal S, Wilson E, Crist W. Granulocytic sarcoma with an indolent course and destructive skeletal disease: tumor characterization with immunologic markers, electron microscopy, cytochemistry, and cytogenetic studies. *Cancer*. 1986;57(5):1005-1010.
181. Wiernik PH, Sutherland JC, Stechmiller BK, Wolff J. Clinically significant cardiac infiltration in acute leukemia, lymphocytic lymphoma, and plasma cell myeloma. *Med Pediatr Oncol*. 1976;2(1):75-85.

182. Wiernik PH, Glidewell OL, Hoagland HC, Brunner KW, Spurr CL, Cuttner J, Silver RT, Carey RW, DeDuca V, Kung FH, Holland JF. A comparative trial of daunorubicin, cytosine arabinosine and thioguanine and a combination of the three agents for the treatment of acute myelocytic leukemia. *Med Pediatr Oncol.* 1979;6(3):261-277.
183. Wiernik PH, Banks PL, Case Jr DC, Arlin ZA, Periman PO, Todd MB, Ritch PS, Enck RE, Weitberg AB. Cytarabine plus idarubicin or daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood.* 1992; 79:313-319.
184. Wiernik PH. Extramedullary manifestations of adult leukemia. In: *American Cancer Society atlas of clinical oncology adult leukemias.* London: BC Decker Inc; 2001. p.275-305.
185. Willman CL. Molecular evaluation of acute myeloid leukemias. *Semin Hematol.* 1999;36(4):390-400.
186. Witwer MW, Schmid RF, Tesar JT. Acute myelomonocytic leukemia and multiple myeloma after sulphinpyrazone and colchicine treatment of gout. *BMJ.* 1976;2:89.
187. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Yagasaki F, Shimazaki C, Akiyama H, Saito K, Nishimura M, Motoji T, Shinagawa K, Takeshita A, Saito H, Ueda R, Ohno R, Naoe T. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood.* 2001;97(8):2434-2439.
188. Yin SN, Li GL, Tain FD, Fu ZI, Jin C, Chen YJ, Luo SJ, Ye PZ, Zhang JZ, Wang GC, et al. Leukaemia in benzene workers: a retrospective cohort study. *Br J Ind Med.* 1987;44:124-128.

-
189. Zelent A, Guidez F, Melnick A, Waxman S, Licht JD. Translocations of the RARalpha gene in acute promyelocytic leukemia. *Oncogene*. 2001; 20(49):7186-203.
 190. Zhou GB, Zhang J, Wang ZY, Chen SJ, Chen Z. Treatment of acute promyelocytic leukaemia with all-trans retinoic acid and arsenic trioxide: a paradigm of synergistic molecular targeting therapy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2007; 362(1482): 959-71.
 191. Zittoun RA, Mandelli F, Willmnze R, de Witte T, Labar B, Resegotti L, Leoni F, Damasio E, Visani G, Papa G, et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups. *N Engl J Med*. 1995;332(4):217-223.