

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ANABELLE MARINA DE OLIVEIRA SANTANA

**LEUCEMIA PROMIELÓCITICA AGUDA: DO DIAGNÓSTICO
PRECOCE AO TRATAMENTO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como requisito parcial ao curso de Biomedicina
do UniCEUB, sob orientação do professor Dr.
Milton Rego de Paula Júnior.

BRASÍLIA
2019

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus que não me abandonou em nenhum momento dessa jornada, e me permitiu escrever esse trabalho

Agradeço a minha família que me amparou e me motivou a nunca desistir, e a todas as pessoas que de alguma forma colaboraram para que eu chegasse até aqui.

Agradeço ao meu orientador Pf. Dr. Milton Rego de Paula Júnior que me conduziu pelos melhores caminhos durante todo o trabalho e me norteou da melhor forma possível.

Leucemia Promielocítica Aguda: do diagnóstico ao tratamento

Anabelle Marina de Oliveira Santana¹

Milton Rego de Paula Júnior²

Resumo

A leucemia promielocítica aguda (LPA) é uma doença clonal do tecido hematopoiético e é caracterizada pelo acúmulo de promielócitos no sangue e na medula óssea. Cerca de 98% dos pacientes diagnosticados com LPA apresentam a translocação recíproca e balanceada entre os cromossomos 15 e 17, envolvendo os genes *PML* e *RARa* respectivamente. A translocação afeta a transcrição do receptor do ácido transretinóico (ATRA), necessário para a maturação dos granulócitos em geral. A introdução do ATRA e do Trióxido de Arsênio (ATO) nos esquemas terapêuticos revolucionou o tratamento da LPA, que atualmente é o subtipo mais curável das Leucemias Mielóides Agudas. A correta suspeita e a confirmação do diagnóstico permite a detecção e a estabilização das principais complicações desenvolvidas pelos pacientes, que incluem a coagulação intravascular disseminada e a síndrome da diferenciação. Assim sendo, objetivo desse trabalho se resume em apresentar a importância do diagnóstico precoce da LPA, assim como apresentar, os mecanismos de ação do ATRA e do ATO usados no tratamento da LMA-3, e os principais fatores que contribuem para o desenvolvimento da síndrome da diferenciação e da coagulação intravascular disseminada.

Palavras-chave: promielócitos, ácido transretinóico, trióxido de arsênio

Acute Promyelocytic Leukemia: from diagnosis to treatment

Abstract

Acute promyelocytic leukemia (APL) is a clonal disease of the hematopoietic tissue and is characterized by the accumulation of promyelocytes in the blood and bone marrow. About 98% of the patients diagnosed with PML exhibit mutual and balanced translocation between chromosomes 15 and 17, involving the *PML* and *RARa* genes respectively. The translocation affects the transcription of the transretinóic acid (ATRA), necessary for the maturation of granulocytes. The introduction of the ATRA and the Tiróxido of Arsênio (ACT) in therapeutic schemes revolutionized the treatment of LPA, which is currently the most curable subtype of Acute Myeloid Leukemia. The correct suspicion and confirmation of the diagnosis allows detection and stabilization of the main complications developed by patients, including disseminated intravascular coagulation and the syndrome of differentiation. Thus, aim of this work is summarized in present the importance of the early diagnosis of APL, as well as present, the mechanisms of action of ATRA and the Act used in the treatment of AML-3, and the main factors that contribute to the development of differentiation and syndrome of disseminated intravascular coagulation

Key-words: promyelocytes, retinoic acid, arsenic trioxide

¹ Acadêmica de Biomedicina do UniCeub

² Professor Dr. Do UniCeub

1. Introdução

A leucemia é caracterizada como uma doença clonal dos progenitores hematopoiéticos que invadem o sangue e a medula óssea, bloqueando a diferenciação celular e promovendo a expansão dessas células. As leucemias podem ser classificadas como agudas ou crônicas, levando em consideração a velocidade que evoluem. E ainda de acordo com a linhagem celular acometida, são categorizadas como mielóides ou linfóides, quando atingem os precursores das linhagens granulocítica ou linfóide, respectivamente (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2011; VARDIMAN et al., 2009).

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é um grupo heterogêneo de doenças clonais que se caracteriza pelo crescimento desregulado de células imaturas da linhagem mielóide, denominadas de “mieloblastos”. Ocasionalmente causa uma produção insuficiente de células sanguíneas normais, com consequente substituição do tecido da medula óssea. (HAMERSCHLAK, 2008). Representa cerca de 90% das leucemias da fase adulta, e o número de casos aumenta com a idade. Estima-se que cerca de 55% dos casos possuem alterações genéticas ao diagnóstico. Essas alterações citogenéticas podem estratificar as LMAs em graus de risco e ainda determinar o prognóstico dos pacientes (BITTENCOURT et al., 2008).

A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) corresponde a um subtipo das LMAs, e é caracterizada por acúmulo de promielócitos no sangue e na medula óssea. Recebe a denominação de M3 e M3 variante pela classificação do grupo conhecido como *French-American British* (FAB), que utiliza a morfologia e a citocímica para dividir em oito grupos a Leucemia Mielóide Aguda. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a LPA está incluída no grupo das leucemias com anormalidades genéticas recorrentes, já que a LPA está quase sempre associada com translocações envolvendo o cromossomo 17 (BENNETT et al., 1976; ZERBINI et al., 2011).

A alteração genética mais recorrente encontrada na LPA, identificada em mais de 98% dos casos, é a translocação recíproca e balanceada entre os cromossomos 15 e 17, envolvendo os genes *PML* (*Promyelocytic Leukaemia*), localizado no braço longo do cromossomo 15 e o gene *RAR α* (*Receptor Alfa do Ácido Retinóico*), localizado no braço longo do cromossomo 17, dando origem a genes e oncoproteínas quiméricas. O gene *RAR α* codifica um fator de transcrição

chamado receptor do ácido transretinóico alfa. A proteína desse gene controla a transcrição de genes que são importantes para a maturação dos leucócitos em geral (JACOMO et al., 2008).

A LPA constitui cerca de 10 a 15% de todas as LMAs. No campo da medicina já foi considerada a leucemia humana mais agressiva e com o pior prognóstico, e atualmente é considerada uma leucemia frequentemente curável (LO-COCO; CICONI, 2011; WATTS; TALLMAN, 2014). Além de estar associada à translocações recíprocas entre os cromossomos, observa-se em cerca de 60 a 90% dos pacientes, uma coagulopatia grave com desfecho fatal (BRECCIA; LO COCO, 2014; LO COCO; CICONI, 2014).

A evidenciação de anormalidades genéticas no diagnóstico da LPA é de grande importância para conduzir o tratamento adequado, e monitorar a resposta terapêutica. As LPAs variantes, que envolvem translocações em outros cromossomos podem não responder ao ácido transretinóico (ATRA) ou apresentar morfologia atípica. Apesar dos progressos desenvolvidos na morfologia e citotóxica, a análise citogenética agrega confiabilidade ao diagnóstico, já que a morfologia é considerada um critério insuficiente pela OMS (ZERBINI et al., 2011).

O ATRA usado na terapia para a LPA alcançou resultados satisfatórios. Estima-se que a taxa de remissão dos pacientes com LPA que utilizam o ATRA, associado à antracíclicos, seja de 90%. O ATRA assim como os retinóides derivados da vitamina A, assumem papel significativo no estímulo da diferenciação mielóide e na apoptose celular das células leucêmicas (JACOMO et al., 2008).

Outro medicamento que tem sido empregado no tratamento da LPA é o Trióxido de arsênio (ATO). O ATO tornou-se uma alternativa para pacientes que não podem utilizar a quimioterapia, ele representa uma alternativa que causa menor toxicidade ao organismo. Além disso, pode induzir remissão molecular em pacientes que tiveram recaída após o tratamento com ATRA (LO COCO et al, 2013).

Entretanto, o tratamento da LPA pode desenvolver efeitos colaterais, cerca de 50% dos pacientes desenvolvem a síndrome de diferenciação (WATTS; TALLMAN, 2014). É caracterizada por início súbito dos sintomas, entre o 1º e 22º dia do tratamento, que envolvem: febre, edema generalizado, insuficiência respiratória aguda, derrame pleural ou no pericárdio, hipotensão arterial e insuficiência renal (REGO; SANTIS, 2011).

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho é apresentar a importância do diagnóstico precoce da LPA, assim como apresentar, os mecanismos de ação do ATRA e do ATO usados no tratamento da LMA-3, e os principais fatores que contribuem para o desenvolvimento da síndrome da diferenciação e da coagulação intravascular disseminada (CIVD).

2. Metodologia

O presente trabalho refere-se a um estudo bibliográfico, escrito sob o formato narrativo. De acordo com Rother (2007), as publicações feitas em formato narrativo são amplas e apropriadas para descrever e discutir determinado assunto, ao contrário das revisões sistemáticas que possuem alto rigor metodológico. As fontes de informação utilizadas que compõe as publicações narrativas encontram-se na literatura publicadas em livros, artigos, periódicos e revistas impressas.

As bases de pesquisas utilizadas para a obtenção de informações e fundamentações foram: Scielo, Google Acadêmico, e PubMed, além de livros disponibilizados pela biblioteca do UniCEUB. Os idiomas dos artigos utilizados para dar embasamento e fundamentação para esse trabalho foram o inglês e o português. Foram excluídos os artigos e trabalhos com data de criação ou publicação antes de 2005, assim sendo, o período de pesquisa estabeleceu-se entre 2005 a 2019.

As palavras chave utilizadas para a obtenção dos resultados da pesquisa foram: Leucemia promielocítica, síndrome do ácido retinóide, ácido transretinóico, Leucemias agudas, síndrome de diferenciação, trióxido de arsênio, coagulopatia e promielócitos

3. Desenvolvimento

3.1 A Leucemia Mielóide Aguda

O distúrbio hematopoiético pode acontecer em qualquer linhagem celular, isso permite a divisão e categorização das LMAs em grupos. O grupo *Franco Americano-Britânico* (FAB) separou as leucemias mielóides agudas em oito grupos, utilizando os critérios morfológicos e citoquímicos, de acordo com a Tabela 1 (SILVA et al., 2006).

Tabela 1 – Tipos de leucemia segundo a classificação da FAB

Tipos	Definição	Características morfológicas
M0	Leucemia mielóide de blastos muito indiferenciados	Blastos muito indiferenciados, citologia e imunocitoquímica não definem dados específicos
M1	Leucemia mieloblástica sem maturação	Blastos indiferenciados em alta % (>30%) Pouca maturação para mieloblastos; Por vezes, bastonetes de Auer
M2	Leucemia mielóide com maturação	Blastos indiferenciados (>30%); Diferenciação acontece até promielócitos; Citoplasma com grânulos azurofílicos, e bastões de Auer
M3	Leucemia promielocítica	Blastos com características de promielócitos Bastões de Auer, denominados como células de Faggott; Possui duas variantes: hipergranular e hipogranular
M4	Leucemia mielomonocítica	Assemelha-se a M2 e M5 >20% de promonócitos
M5a	Leucemia mielocítica diferenciada	Morfologia monoblástica (>80%), porém com diferenciação monocítica; Quantidade de monócitos no sangue é maior que na medula
M5b	Leucemia mielocítica indiferenciada	Morfologia promonocítica (> 80% são promonócitos); blastos grandes c/ cromatina delicada, citoplasma basófilo e volumoso e pseudópodos.
M6	Eritroleucemia	> 50% são eritroblastos (formas bizarras) e > 30% são mieloblastos ou promonócitos (associação com blastos M1, M2 ou M4).
M7	Leucemia megacarioblástica	Células indiferenciadas (> 30%) "tipo linfoblastos ou megacariócitos" no sangue. Expressão de antígenos de plaquetas.

Fonte: Adaptado de BENNETT et al.(1976); BENNETT et al. (1981); BENNETT et al.(1985).

A classificação da OMS (Organização Mundial de Saúde) estabelece o diagnóstico de LMA quando os blastos correspondem a mais de 20% na contagem diferencial, quando atingem 200 células no sangue periférico e 500 células na medula óssea. A OMS divide as LMAs em 4 grandes grupos, incluindo os critérios citogenéticos: neoplasias mielóides relacionadas a terapia, LMA com alteração relacionada a mielodisplasia, LMA com alterações genéticas recorrentes, e LMA sem categorização (VARDIMAN et al., 2009).

O diagnóstico da LMA se dá primeiramente através da suspeita clínica, em seguida é realizada análise da morfologia das células do sangue periférico e da medula óssea. Além da morfologia, outras técnicas são empregadas no diagnóstico,

como por exemplo, as colorações citoquímicas: a mieloperoxidase (MPO) e a sudan black B (SBB). Quando apresentam resultado positivo em mais de 3% de todas as células nucleadas, indicam que os blastos são de origem mielóide (SILVA et al., 2006).

3.2. A Leucemia Promielocítica Aguda

A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é caracterizada pelo acúmulo de promielócitos no sangue e na medula óssea. Corresponde a cerca de 20% das LMAs nos países latino americanos (JÁCOMO et al. 2009). De acordo com os critérios morfológicos da FAB, a LPA pode receber duas classificações: M3 (hipergranular), e M3 variante (hipogranular). Ao contrário das LMAs a LPA tem maior incidência entre a população dos adultos jovens, na faixa etária entre 20 e 59 anos. Não há predomínio em nenhum dos sexos (BENNETT et al., 1976; JACOMO et al., 2009).

A leucemia promielocítica aguda faz parte do grupo das leucemias com anormalidades genéticas recorrentes de acordo com a classificação da OMS. O diagnóstico de leucemia pode ser estabelecido pela demonstração, através do estudo do cariótipo, da translocação $t(15;17)(q22;q12)$ independente da contagem de blastos no sangue periférico ou na medula óssea (ZERBINI et al., 2011)

3.3. O diagnóstico da Leucemia Promielocítica Aguda

3.3.1. Manifestações clínicas

As principais manifestações clínicas que podem levantar a hipótese de LPA são, geralmente, coincidentes com os sintomas observados em outros tipos de LMA. Incluem a palidez cutâneo-mucosa, fadiga, cansaço fácil e dispneia. Há ainda a presença de uma síndrome hemorrágica, com aparecimento de púrpuras e epistaxe. É comumente observado o aparecimento de febre, em virtude das infecções que ocorrem com frequência. Em decorrência da infiltração de órgãos e tecidos, os pacientes costumam apresentar dor óssea, linfadenopatia, hepatomegalia e esplenomegalia (DEVITA; LAWRENCE; ROSENBERG, 2011). A LPA apresenta uma característica clínica singular que a difere de outras LMAs: a coagulopatia que pode resultar em diátese hemorrágica capaz de comprometer severamente o cérebro e os pulmões (RYAN, 2018).

3.3.2. Diagnóstico laboratorial

O hemograma dos pacientes com LPA apresenta anemia, na maioria das vezes normocítica e normocrômica, decorrente da falha da hematopoese. Apesar da maioria dos pacientes apresentar pancitopenia, cerca de 10 a 30% dos pacientes apresentam leucocitose. Além disso, os pacientes apresentam plaquetopenia, achado que elucida as complicações hemorrágicas. (DEVITA; LAWRENCE; ROSENBERG, 2011).

Alterações da hemostasia também podem ser detectadas e a causa mais comum é o consumo de fatores da coagulação, o que caracteriza o quadro de CIVD comum aos pacientes portadores de LPA. No coagulograma encontra-se o alargamento do Tempo de Protombina (TP), do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa), do Tempo de Trombina (TT), aumento de Produtos de Degradação de Fbrina (PDF) e dos D-dímeros de fibrina. Outro achado também frequente é a hiperuricemia devido a elevada produção e da lise celular, elevando os níveis séricos da enzima Lactato Desidrogenase (LDH) (SILVA et al., 2006).

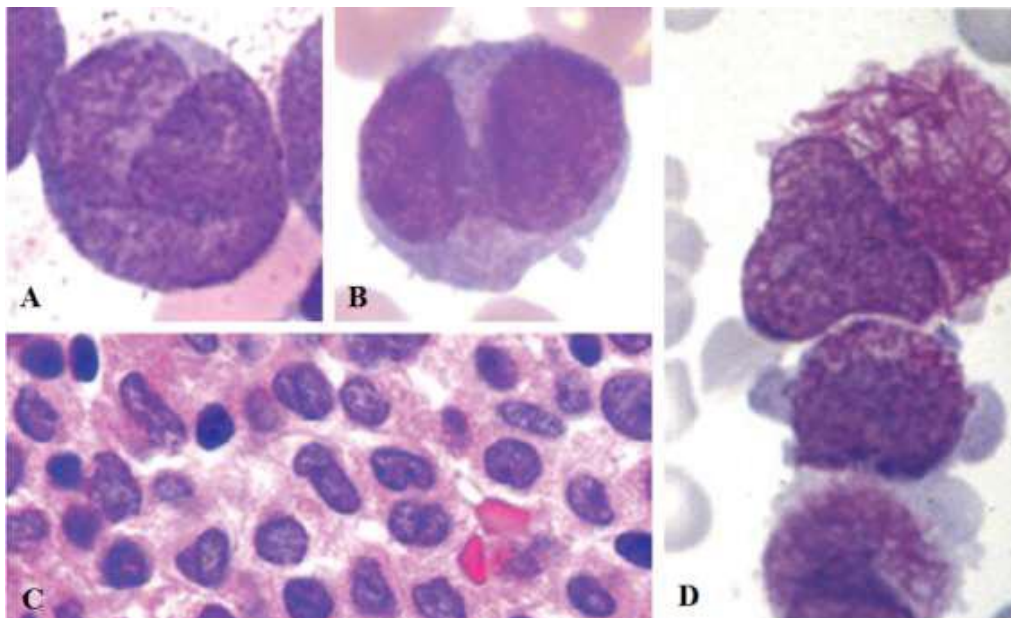
Para confirmação do diagnóstico as características morfológicas dos blastos devem ser analisadas. O aspirado de medula óssea comumente revela células correspondentes com a forma hipergranular, apresentando células com granulações grosseiras e intensas, o que reflete na tonalidade escura. Os blastos possuem núcleo lobulado ou dobrado, e é frequente a presença de bastonetes de Auer que formam feixes conhecidos como células de Faggot. Na variante hipogranular, que corresponde a cerca de 20% das LPAs, o citoplasma exibe granulação fina e o núcleo é irregular, como pode ser observado na figura 1 (JURCIC; SOIGNET; MASLAK, 2007; LO- COCO; CICONI, 2011).

3.3.3. Citoquímica e imunofenotipagem:

A análise citoquímica dos promielócitos leucêmicos revela intensa positividade para MPO (mieloperoxidase) e SBB (sudan black B), que indicam diferenciação mielóide (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2011). Juntamente a citoquímica, a imunofenotipagem desempenha um papel importante quando a interpretação morfológica é difícil. A principal vantagem da imunofenotipagem é o diagnóstico de subtipos de leucemias que não podem ser diagnosticadas apenas com a análise morfológica. Através de um anticorpo marcado com um fluorocromo, é

possível reconhecer antígenos específicos de superfície, citoplasmáticos ou nucleares, e com o auxílio das técnicas de citometria de fluxo ou imunocitoquímica, a imunofenotipagem é capaz de determinar a linhagem celular acometida, e o estágio de maturação das células leucêmicas (BASHARAT et al., 2019).

Figura 1- Alterações morfológicas visualizadas por microscopia ótica presentes na LPA; Em (A) Promielócito hipergranular; (B) Promielócito hipogranular; (C) Imagem obtida por biópsia de medula óssea, demonstrando hipergranularidade (D) Blastos de LPA com múltiplos bastões de Auer.



Fonte: adaptado de HOFFMAN R. (2013); HOFFBRAND, A.V; MOSS, P.A.H.; PETTIT (2011).

Os promielócitos são células parcialmente diferenciadas, por isso apresentam marcador mielóide CD33 positivo. Ainda assim apresentam perda ou intensidade fraca da expressão de HLA-DR (antígeno leucocitário humano), positivo em células mais precoces, e CD34 esse último é positivo em células estaminais. A LPA clássica é caracterizada com a expressão positiva de CD9, CD13, CD64, CDw65, CD68, MPO citoplasmático e CD117 (SILVEIRA; ARRAES, 2008).

A ausência de expressão dos marcadores CD11b e CD11c revela alta sensibilidade para LPA, porém a expressão de CD11b e simultaneamente a expressão de CD16 podem ser comumente observados com a indução da

terapêutica de diferenciação (DONG et al., 2011). Em alguns casos, pode-se observar a presença do fenótipo aberrante, que consiste na expressão de marcadores associados a linhagem linfóide em mieloblastos, ou de marcadores associados a linhagem mielóide em linfoblastos. Como é o caso da expressão aberrante de CD2, antígeno de superfície de células T encontrado na variante hipogranular (BASHARAT et al., 2019).

Apesar de esse perfil imunofenotípico ser característico de LPA e reforçar a suspeita diagnóstica, não representa um sinal patognomônico. As características morfológicas e o perfil imunofenotípico são tidos como importantes exames de triagem e a detecção da t(15;17) confirma o diagnóstico. Um dos métodos mais comumente utilizados para a detecção da translocação é a técnica de FISH (hibridização com fluorescência in situ), em casos mais raros de LPA onde a translocação não é citogeneticamente visível, pode ser realizado PCR (reação em cadeia polimerase) para detecção do gene de fusão (KARAI et al., 2019).

3.3.4. Técnica de hibridização com fluorescência in situ (FISH)

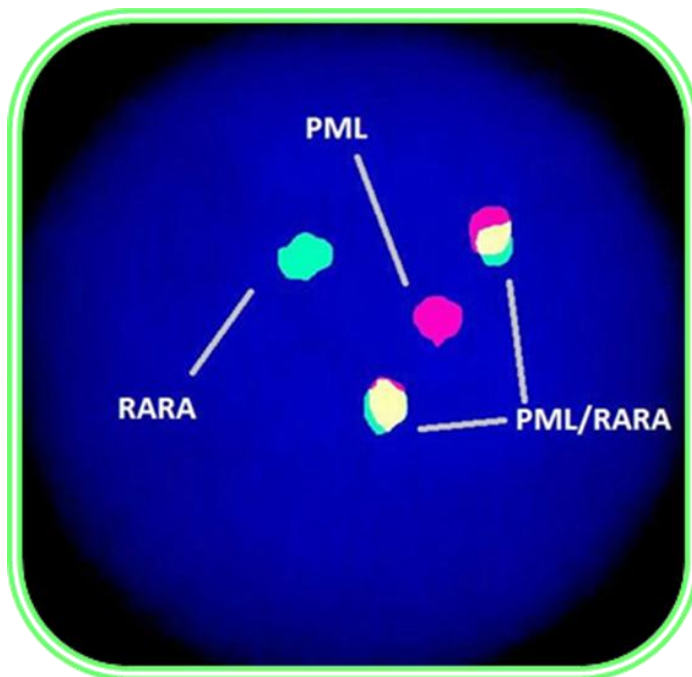
O diagnóstico da translocação pode ser realizado de várias formas, um dos mais sensíveis utilizados, é o teste de FISH que se resume no uso de sondas marcadas com fluorocromos que se anelam em regiões específicas do DNA, nos cromossomos em estágio de metáfase ou intérfase. Esse método permite identificar as células que tiveram origem a partir do clone neoplásico, excluindo assim, os resultados “falsos negativos”, obtidos através da análise de células que não pertencem ao clone. Cada sonda específica para o gene em questão é marcada com um fluorocromo de cor diferente, nos casos em que há a translocação, ou seja, a fusão dos dois genes, uma fluorescência é produzida com sinais coincidentes, como pode ser observado na figura 2 (SAGRILLO et al., 2005).

3.3.5. Características genéticas e moleculares

Cerca de 98% dos pacientes que desenvolvem a LPA, possuem a translocação recíproca envolvendo os genes RARA (*Receptor Alfa do Ácido Retinóico*), localizado no braço longo do cromossomo 17 (17q21), e o gene PML (*Promyelocytic Leukaemia*) localizado no braço longo do cromossomo 15 (15q22), apresentada na figura 3. Outras translocações envolvendo o gene RARa já foram

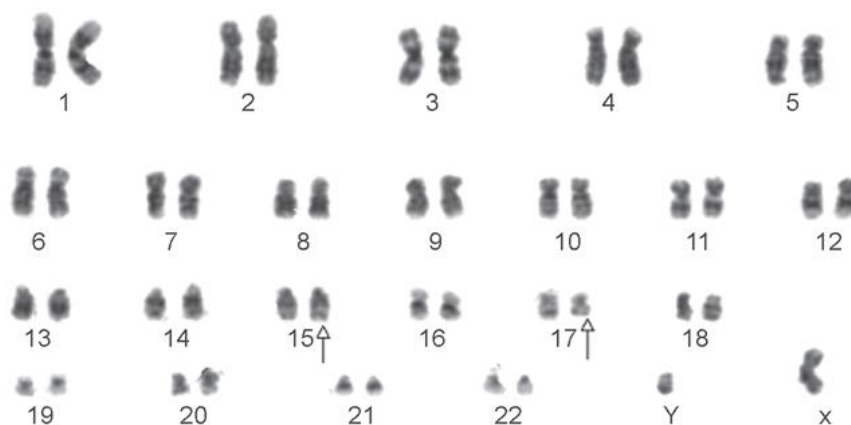
descritas em pacientes com LPA, validando a hipótese de que a patogênese dessa doença está relacionada nos rearranjos envolvendo esse gene. (ADAMS; NASSIRI, 2015).

Figura 2 - Análise FISH evidenciando a fusão PML / RARA (sinal de fusão verde, vermelho e amarelo).



Fonte: Gadhia; Patel; Vaniawala, 2016.

Figura 3 – cariótipo de paciente com presença da $t(15;17)(q22;q21)$ representada pela setas.



Fonte: LEAL; KIMEDA; VELLOSO, 2009.

Os genes que já tiverem estudo sobre rearranjos com o gene *RARA* descritos são: o *PLZF* (*Promyelocytic Leukaemia Zinc Finger*) localizado no cromossomo 11, com atividade no desenvolvimento e diferenciação celular, o *NPM* (*Nucleophosmin*) uma ribonucleoproteína de maturação e transporte, localizado no cromossomo 5, o *NUMA* (*Nuclear Mitotic Apparatus*) com papel estrutural na mitose e apoptose, localizado no cromossomo 11, e o *STAT5B* (*Signal Transducer and Activator of Transcription*) um fator de transcrição responsável pela transdução de sinal, localizado no cromossomo 17 (JURCIC; SOIGNET; MASLAK, 2007).

O gene *PML* localizado no locus 15q22, é um gene de supressão de crescimento e apoptose celular. Esse gene é ainda responsável por formar estruturas conhecidas como corpos nucleares (*PML-NB*) e são responsáveis por regular a transcrição e a replicação do DNA (ácido desoxirribonucleico). A proteína codificada pelo gene *PML* potencializa a ação do gene *p53*, acetilando-o, quando há danos ou mutações no DNA que podem desenvolver a oncogênese. A acetilação do gene *p53* ocorre na presença dos corpos nucleares, que funcionam como sensores de danos ao DNA, altamente sensíveis, garantindo a integridade da molécula de DNA (ZEINAB; SOUDEH, 2014; JOANNIDES, 2011).

O gene *RARA* está envolvido em todos os rearranjos conhecidos que dão origem a LPA, ou seja, um distúrbio nesse gene participa de forma significativa na patogênese da doença. O gene *RARa* codifica o receptor alfa do ácido retinóico, que faz parte da superfamília dos receptores hormonais. São receptores nucleares ligante-induzíveis, ou seja, são capazes de produzir fatores de transcrição, através da ligação a sequências específicas de DNA localizadas na região promotora. A ação dos retinóides depende da ativação de duas classes de receptores proteicos nucleares: receptores do ácido retinóico (RARs) e os receptores X retinóides (RXRs) (LO COCO; HASAN, 2014).

3.4. Abordagem terapêutica

3.4.1. Mecanismo de Ação

Os receptores existem em formas diferentes e são característicos em cada tecido. A isoforma *RARa* é a mais relevante para a granulopoiese, e na presença de concentrações de ATRA consegue dimerizar com os receptores X retinóides (RXRs), formando o complexo *RARA/RXR* (RICE; THÉ, 2014). Em situações normais, o

ácido retinóico se liga ao sítio ativo do complexo *RARA/RXR*, e libera o complexo repressor, formado por HDAC (histonas desacetiladas) recrutadas pelos correpressores SMRT ou CoR. Após a liberação do complexo repressor, a acetilação das histonas permite que o processo de transcrição seja realizado (JÁCOMO; PONTES; REGO, 2008).

A ligação entre o *RARA* e o *RXR* pode possibilitar o recrutamento tanto de complexos correpressores (CoR), como de complexos coativadores (CoA), a fim de regular o momento da transcrição. Na ausência do ligante, o ATRA, o *RARA* encontra-se emparelhado à CoR, porém, com concentrações fisiológicas, o CoR não consegue se ligar ao complexo *RARA/RXR*, então os complexos coativadores são recrutados juntamente com as histonas acetiltransferases (HAT). A hiperacetilação dos elementos sensíveis a ácido retinóico (RARE) remodela a cromatina e ativa a transcrição (LO-COCO; HASAN, 2014).

A translocação entre os cromossomos 15 e 17 impede a diferenciação mielóide pelo sequestro do complexo *RXR*, e de cofatores do *RARA*. A oncoproteína oriunda da translocação apresenta afinidade de ligação com histonas desacetiladas (HDAC), DNA metil transferases (DNMTs), e histonas metiltransferases, o que contribui para a condensação da cromatina que impede a transcrição. Além disso, a proteína originada pela fusão dos genes tem sensibilidade diminuída ao ácido retinóico, apenas em doses supra fisiológicas acontece à ligação com o receptor e a dissociação do complexo repressor, devido ao excesso de agrupamento de complexos CoR. (MEHDIPOUR; SANTORO; MINUCCI, 2014).

3.3.1 Esquema terapêutico

A maior descoberta no tratamento da LPA, foi sem dúvidas, a demonstração que o ATRA em doses suprafisiológicas permite a continuidade da diferenciação mielóide, o que torna o clone leucêmico suscetível aos mecanismos de morte celular. O ATRA associado a outras terapias, como o uso de antraciclinas ou trióxido de arsênio (ATO), pode elevar a sobrevida dos pacientes em comparação com qualquer um dos tratamentos usados de forma isolada. Estima-se que a taxa de remissão seja de 95% e de sobrevida global de 80% (LO-COCO et al., 2013).

Figura 3 – Mecanismo de ação do ATRA. (A) complexo repressor formado pelo receptor α do ácido transretinóico (*RAR α*), receptor X dos retinóides, correpressores nucleares (Sin3a e Sin3b), histonas desacetilases (HDAC) e DNA metiltransferases (*DNMT*). Em (B) o *RARA* quando ligado ao ácido transretinóico (ATRA) dissocia o complexo repressor permitindo a transcrição. (C) a proteína originada pelo gene de fusão *PML/RARA* tem sensibilidade diminuída ao ATRA. (D) administração de doses supra fisiológicas que permite a dissociação do complexo repressor.



Fonte: LEAL; KUMEDA; VELOSO, 2009.

O tratamento com o ATRA deve ser iniciado logo após a suspeita diagnóstica, mesmo antes da confirmação citogenética, pois diminui o risco de óbito precoce por sangramentos ocasionados pela coagulopatia. Mesmo levando à remissão hematológica, as chances de desenvolver recaída são altas. Por esse motivo, a administração do ATRA deve ser associada à antracíclico e citarabina (Ara-C), exceto para pacientes com alguma contraindicação clínica ao uso de antracíclicos, que nesse caso, utilizam o ATO em associação (BRASIL, 2014).

Em pequenas dosagens, o ATO pode estimular a diferenciação celular através do mecanismo farmacológico que se baseia na degradação dos transcritos *PML/ RAR α* e ativação indireta das caspases conduzindo a apoptose dos promielócitos leucêmicos (LO-COCO; CICCONI, 2014; LI et al., 2014). A combinação ATO/ATRA provoca uma regulação sinérgica nas telomerasas, causando encurtamento dos telômeros, e posterior morte celular. Outro efeito

notável, na terapia com o ATO, é a degradação da proteína de fusão *PML/RARA* (ADAMS; NASSIRI, 2015).

O Tratamento da LPA é dividido em três etapas, a primeira delas é a terapia de indução, que permite a remissão hematológica em 90% de todos os pacientes diagnosticados com LPA. A segunda etapa se refere à terapia de consolidação, e é necessária para evitar que um quadro de recidiva se instale, e ainda permite uma remissão molecular e citogenética completa. A terapia de consolidação elimina as células leucêmicas que sobreviveram à terapia de indução. A remissão molecular completa (RCm) é definida pela ausência do transcrito de fusão *PML/RARA*. Para analisar a ausência do transcrito é realizado o exame de reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR), com aspirado de medula óssea, com um limiar de sensibilidade de pelo menos 10^{-4} . Os pacientes que alcançam RCm, são encaminhados para a terapia de manutenção (AVVISATI, 2011).

A contagem aumentada de leucócitos está relacionada com maior risco de morte precoce e de recidiva (CULL; ALTMAN, 2014). A distinção laboratorial para diferenciar os pacientes de acordo com o risco, é feita através da contagem de plaquetas e de leucócitos. O grupo PETHEMA propôs um escalonamento das doses de antracíclicos na fase de consolidação para diminuir as taxas de recaída nos grupos de médio e alto risco (JÁCOMO; PONTES; REGO, 2008).

Para pacientes recém-diagnosticados, dos grupos de baixo e médio risco, o regime de tratamento utilizado como alternativa para a diminuição da toxicidade em relação aos tratamentos que utilizam quimioterapia é a combinação de ATRA e ATO (BRASIL, 2014). A preferência pela combinação de ATRA e ATO se mantém pelo menor risco de toxicidade cardíaca, menor risco de mielosupressão e diminuição dos efeitos colaterais comuns ao uso de antraciclina, assim como diminuição do risco de desenvolvimento de leucemias secundárias (RYAN, 2018).

Durante anos, a LPA foi considerada a forma mais maligna das leucemias agudas, devido à tendência severa ao sangramento e a coagulação intravascular disseminada e altas taxas de morte precoce. Uma das complicações mais recorrentes, presente em cerca de 60 % dos pacientes diagnosticados com LPA é a coagulação intravascular disseminada (CIVD), principal causa dos distúrbios hemostáticos, que tendem a aumentar nos primeiros dias de tratamento. Apesar da excelente resposta que os pacientes obtêm com o tratamento, a identificação das

principais complicações deve ser realizada rapidamente (JURCIC, SOIGNET, MASLAK, 2007; LO-COCO; CICONI, 2011; BREEN, GRIMWADE, HUNT, 2012).

3.5. Complicações inerentes ao tratamento

3.5.1. *Fisiopatologia da Coagulação Intravascular Disseminada (CID)*

A coagulopatia depende de dois fatores: o aumento da fibrinólise e a ativação da cascata da coagulação pela elevação dos fatores da coagulação. Os promielócitos são capazes de apresentar dois procoagulantes: o Fator Tecidual (FT) e o Procoagulante Cancerígeno (PC). A ativação do FT é desencadeada pela exteriorização dos fosfolípidios de membrana, evento que ocorre durante a apoptose celular dos promielócitos mediada pelo tratamento com ATRA e ATO. O FT ativa o fator VII da coagulação e posteriormente o fator X, já o PC é capaz de ativar diretamente o fator X sem a participação do fator VII (KAWAAN, 2014, KAWAAN; CULL, 2014).

Além da hipercoagulação, o paciente pode desenvolver concomitantemente hiperfibrinólise, pela elevação de anexina A2 (receptor de superfície do plasminogênio e do tPA), que converte plasminogênio em plasmina, e pelos baixos níveis de fibrinogênio. As citocinas inflamatórias como a IL-1 e a TNF- α modulam a expressão de FT, e, além disso, causam danos no endotélio que diminuem a trombomodulina e elevam os níveis do inibidor do plasminogênio do tipo I (PAI-1) (JACOMO; REGO, 2009).

O desenvolvimento de hemorragias nesses pacientes acomete especialmente, o cérebro e os pulmões, manifestações hemorrágicas menos comuns incluem sangramento no trato gastrointestinal e nas mucosas, e geralmente possuem um desfecho fatal. Existem fatores que contribuem para o desenvolvimento das complicações hemorrágicas, como por exemplo, idade superior a 60 anos, níveis anormais de creatinina, contagem de leucócitos superior a $10 \times 10^9/L$ e de blastos superior a $30 \times 10^9/L$ (LI et al., 2014; KWAAN, 2014; KAWAAN; CULL, 2014).

Os episódios trombóticos envolvem complicações arteriais e venosas, como por exemplo, trombose venosa profunda, embolia pulmonar, acidente vascular encefálico isquêmico, infarto do miocárdio e oclusão hepática e da veia porta. Essas complicações se dão, principalmente pelo depósito de fibrina que leva a oclusão dos vasos sanguíneos. Essa deposição de fibrina é mediada pela presença da trombina,

que é regulada pelo complexo FT/FVIII e pela inibição dos anticoagulantes naturais, antitrombina, proteína C, proteína S e inibidor da via do fator tissular (BREEN; GRIMWADE; HUNT, 2012).

3.5.2. Síndrome da diferenciação

Tanto o ATRA como o ATO, usados em combinação ou isoladamente podem desencadear a síndrome de diferenciação (SD), anteriormente conhecida como síndrome do ácido retinóide. Clinicamente a SD caracteriza-se por comprometimento respiratório, que pode incluir infiltrado pulmonar, derrame pleural e desconforto respiratório. Há ainda envolvimento cardíaco, incluindo derrame do pericárdio, dor torácica por obstrução coronariana, edema periférico e hipotensão. Outros sintomas que podem ser observados são: tosse, ganho de peso, insuficiência renal aguda, e febre não atribuível à infecção (REGO; SANTIS, 2011).

Os pacientes com contagem elevada de leucócitos podem desenvolver remissão completa semelhante aos pacientes com contagem normal, porém apresentam maiores chances de desenvolver recaídas e estão mais propensos a desenvolver a SD (AVVISATI, 2011). Essa síndrome ocorre entre 50% dos pacientes com LPA tratados com ATRA, dentro de 2 a 21 dias após o início do tratamento (WATTS; TALLMAN, 2014). Não há sinal patognomônico ou teste laboratorial para a identificação de SD, por isso a SD pode ser diagnosticada erroneamente ou confundida com outra condição, como pneumonia, sobrecarga de volume pulmonar ou hemorragia alveolar (CULL; ALTMAN, 2014).

A frequência do aparecimento da SD quando utilizado o ATO é similar à frequência dos pacientes que utilizam o ATRA isoladamente. No entanto, a associação de ATRA e ATO pode diminuir a indução de SD em até 16% dos pacientes. O ATO após a comprovação da sua eficácia tem sido utilizado como tratamento de resgate em recidivas, e em alguns ensaios clínicos é o fármaco de primeira linha no tratamento da LPA (REGO; SANTIS, 2011).

Os mecanismos moleculares que levam ao aparecimento da SD não são completamente elucidados, acredita-se que uma resposta inflamatória excessiva seja o principal fator desencadeante. Essa resposta inflamatória é provocada pelas células leucêmicas no processo de diferenciação, ocasionado pelo ATRA, o que resulta no aumento da produção de quimiocinas e na expressão de moléculas de adesão nas células blásticas. O mecanismo é semelhante ao recrutamento de

granulócitos normais pelas células endoteliais para sítios com inflamação, esse processo é conhecido como rolamento. Essa inflamação resulta na infiltração de órgãos, especialmente o pulmão e o sistema nervoso central, pelas células blásticas (REGO; SANTIS, 2011).

A cascata que causa a SD é mediada pela diferenciação das células mielóides e por interleucinas, como IL-1, IL-6, IL-8, IL-beta, que levam a uma resposta inflamatória sistêmica que inclui dano endotelial, oclusão da microcirculação e infiltração celular. Estima-se que a mortalidade da SD em pacientes não tratados seja de 30% ocasionada por complicações neurológicas ou pulmonares. Assim que diagnosticada, o tratamento inclui dosagens agressivas de dexametasona, os pacientes costumam responder ao tratamento dentro de 12 horas, com melhora dos sintomas e queda da taxa de mortalidade para 5%. Em pacientes que requeiram internação em unidades de terapia intensiva, o uso de ATRA ou ATO é frequentemente descontinuado após o início dos sintomas (RYAN, 2018).

A produção de quimiocinas pelas células epiteliais alveolares é aumentada pelo tratamento com ATRA, essas quimiocinas recrutam células blásticas para o tecido e espaço alveolar, o que ocasiona o comprometimento da função pulmonar, e infiltração. Além disso, as células leucêmicas tratadas com ATRA aumentam a expressão de CD54 e CD18, moléculas responsáveis pela adesão leucocitária, e ao mesmo tempo o ATRA aumenta a produção dessas moléculas em células endoteliais. Os blastos com capacidade de infiltração celular demonstram atividade aumentada de mieloperoxidase. A administração de corticoesteroides suprime a produção de quimiocinas o que reduz a migração das células leucêmicas para o pulmão e o sistema nervoso central (REGO, SANTIS, 2011).

4. Considerações Finais

Ao longo dos anos observou-se que a LPA se tornou uma neoplasia com altas taxas de cura, quando um tratamento rápido e específico é oferecido. Para aumentar a taxa de sobrevivência global dos pacientes, é necessário a correta e rápida suspeita diagnóstica. O correto diagnóstico, permite sobretudo a detecção e a estabilização das principais complicações inerentes ao tratamento, que inclui a estabilização do quadro hemorrágico, e a identificação dos principais sintomas relacionados à

síndrome de diferenciação, diminuindo consideravelmente os fatores que levam a morte precoce nesses pacientes.

O diagnóstico citogenético, através do cariótipo, é um dos mais importantes fatores prognósticos, já que os achados citogenéticos são preditivos na evolução clínica dos pacientes. A confirmação diagnóstica é obrigatória em todos os casos e deve ser obtida através de técnicas capazes de detectar a alteração genética específica da LPA: a translocação t(15;17) ou o gene híbrido PML/RARA uma vez que a eficácia do tratamento de diferenciação (com retinóides ou derivados arsênicos) depende diretamente da presença da fusão dos genes nas células leucêmicas.

Os estudos sobre os protocolos do tratamento da LPA, ambicionam o aperfeiçoamento dos regimes. O tratamento busca muito mais do que uma remissão molecular completa, mas se baseia em uma atuação direta no alvo molecular, preservando assim, a qualidade de vida dos portadores, oferecendo opções com baixos índices de toxicidade sem que isso comprometa a eficácia anti-leucêmica.

5. Referências

ADAMS, J.; NASSIRI, M.D. Acute Promyelocytic Leukemia: A Review and Discussion of Variant Translocations. **American Medical Association College of American Pathologists**, Chicago, v.139, n.10, p. 1308-1313, out., 2015.

AVVISATI, G. Newly Diagnosed Acute Promyelocytic Leukemia. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, Roma, v. 3, n.1, doi: 10.4084/MJHID.2011.064, dez., 2011.

BASHARAT et al. Immunophenotypic characterisation of morphologically diagnosed cases of Acute Myeloid Leukaemia (AML). **Pakistan journal of medical sciences**, Paquistão, v. 35, n. 2, p. 470-476, mar./abr., 2019.

BENNETT J. M. et al. Proposals for the classification of the acute leukaemia. **French- American- British (FAB) co-operative group**, England, v.33, n. 4, p. 451-458, ago., 1976.

BITTENCOURT, R. I. et al. Leucemia mielóide aguda: o olhar dos anos 2000 no Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre-RS. **Revisa**

Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, São José do Rio Preto, v. 30, n.3., p. 202- 207, 2008.

BRASIL. Trióxido de arsênio para o tratamento da Leucemia Promielocítica Aguda (LPA). **Relatório de Recomendação da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS – Conitec -129**, 2014.

BRECCIA M., LO COCO F. Thrombo-hemorrhagic deaths in acute promyelocytic leukemia. **Thrombosis research**, Nova Iorque, v.133, n.2, p.112- 116, maio, 2014.

BREEN, K.A.; GRIMWADE, D.; HUNT, B.J. The pathogenesis and management of the coagulopathy of acute promyelocytic leukaemia. **British journal of haematology**, Inglaterra, v.1556, n.1., p. 24-36, jan., 2012.

CULL, E.H.; ALTMAN, J.K. Contemporary Treatment of APL. **Current hematologic malignancy reports**, Philadelphia, v.9, n.2, p.193-201, jun., 2014.

DEVITA, V.T; LAWRENCE, T.S; ROSENBERG, S.A. **DeVita, Hellman, and Rosenberg's câncer: principles & practice of oncology**. 9 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

DONG H.Y. et al. Flow cytometry rapidly identifies all acute promyelocytic leukemias with high specificity independent of underlying cytogenetic abnormalities. **American journal of clinical pathology**, England, v. 135, n.1, p. 76-84, jan., 2011.

GADHIA, P.K.; PATEL M.V.; VANIAWALA S.N. Role of Cytogenetic Evaluation in Diagnosis of Acute Myeloid Leukemia. **American Journal of Biomedical and Life Sciences**, Nova Iorque, v. 4, n. 6, p. 98-1-2, dez., 2016.

HAMERSCHLAK, N. Leucemia: fatores prognósticos e genética. **Jornal de pediatria**, Porto Alegre, v. 84, n. 4, suppl., p. S52- S57, ago., 2008.

HOFFBRAND, A.V; MOSS, P.A.H.; PETTITE, J. E. **Essential haematology**. 6. ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2011.

HOFFMAN, R. **Hematology: basic principles and practice**. 6. ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2013.

JACOMO, R. H.; PONTES, L.L.F; REGO, E.M. Do Paradigma molecular ao impacto no prognóstico: uma visão da leucemia promielocítica aguda. **Revista de Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 54, n. 1, p 82-89, jan/fev., 2008.

JACOMO, R. H.; REGO, E. M.. Coagulation abnormalities in acute promyelocytic leukemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 31, supl. 2, p. 48-50, ago., 2009 .

JOANNIDES M. et al. Molecular pathogenesis of secondary acute promyelocytic leukemia. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, Roma, v. 3, n. 1, doi: 10.4084/MJHID.2011.045, out., 2011.

JURCIC J.G.; SOIGNET S.L.; MASLAK A.P. Diagnosis and treatment of acute acute promyelocytic leukemia. **Current oncology reports**, Philadelphia, v. 9, n.5, p. 337-344, set., 2007.

KARAI, B. A novel flow cytometric method for enhancing acute promyelocytic leukemia screening by multidimensional dot-plots. **Annals of hematology**, Alemanha, v. 98, n. 6, p. 1413-1420, jun., 2019.

KWAAN, H. C. The unique hemostatic dysfunction in acute promyelocytic leukemia. Seminars in thrombosis and hemostasis. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, New York, v. 40, n.3, p. 332-336, abr., 2014.

KWAAN, H.C.; CULL, E.H. The coagulopathy in acute promyelocytic leukaemia--what have we learned in the past twenty years. **Best practice & research Clinical haematology**, Londres, v.27, n. 1, p.11-18, mar., 2014.

LEAL, A. M.; KIMEDA, C. A.; VELLOSO, E. D. R.P. Características genéticas da leucemia promielocítica aguda de novo. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 454-462, abr., 2009.

LI J. et al. Progress in the treatment of acute promyelocytic leukemia: optimization and obstruction. **International journal of hematology**, Japão, v. 100, n. 1, p. 38-50, jul, 2014.

LO-COCO, F. et al. Retinoic Acid and Arsenic Trioxide for Acute Promyelocytic Leukemia. **The new england journal of medicine**, New England, v.2, n. 369, p. 111-121, jul., 2013.

LO-COCO, F.; CICCONI, L. History of acute promyelocytic leukemia: a tale of endless revolution. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, Roma, v. 3, n. 1, doi: 10.4084/MJHID.2011.067, dez., 2011.

LO-COCO, F.; CICCONI, L. What is the standard regimen for patients with acute promyelocytic leucemia?. **Current hematologic malignancy reports**, Philadelphia, v.9, n.2, p. 138-143, jun., 2014.

LO-COCO, F.; HASAN, S.K. Understanding the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. **Best practice & research Clinical haematology**, Londres, v. 27, n.1, p. 3-9, mar., 2014.

MEHDIPOUR, P.; SANTORO, F.; MINUCCI, S. Epigenetic alterations in acute myeloid leucemias. **Federation of European Biochemical Societies jornal**, England, v. 282, n. 9, p. 1786-1800, maio, 2015.

REGO, E.M.; SANTIS; G.C. Differentiation Syndrome in Promyelocytic Leukemia: Clinical Presentation, Pathogenesis and Treatment. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, v.3, n.1, doi: 10.4084/MJHID.2011.048, out., 2011.

RICE, K. L.; THÉ, H. The acute promyelocytic leukaemia success story: curing leukaemia through targeted therapies. **Journal of Internal medicine**, England, v.276, n.1, p. 61-70, jul., 2014.

RYAN, M.M. Acute Promyelocytic Leukemia: A Summary. **Journal of the advanced practitioner in oncology**, Cold Spring Harbor, v.9, n.2, p.178-187, mar., 2018.

SAGRILLO, C. P.; PREVEDELLO, M. R.; Leucemia Promielocítica aguda. **Disciplinarum Scientia**, Santa Maria, v. 9, n. 1, p. 39-50, 2005.

SILVA, G. C. et al. Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 2, p. 77-84, abr. 2006.

SILVEIRA N.A., ARRAES, S.M.A.A. A imunofenotipagem no diagnóstico diferencial das leucemias agudas: uma revisão. **Arquivos do Mundi**, Maringá, v. 12, n. 1, p. 5-14, jun., 2008.

VARDIMAN, J.W. et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. **Blood**, New York, v.114, n. 5, p. 937-951, abr., 2009.

WATTS, J.M., TALLMAN, M.S. Acute promyelocytic leukemia: what is the new standard of care? **Blood reviews**, England, v.28, n.5, p.205-212, set., 2014.

ZEINAB, I.S., SOUDEH G.F. Promyelocytic Leukemia Gene Functions and Roles in Tumorigenesis. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, Thailand, v.15, n.19, p. 8021-8028, dez., 2014.

ZERBINI, M.C.N. et al. Classificação da Organização Mundial da Saúde para os tumores dos tecidos hematopoiético e linfóide, 4ª edição, 2008 – principais modificações introduzidas em relação à 3ª edição, 2001. **Revista de Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.57, n.1, p. 66-73, fev., 2011.