

CONDICIONAMENTO MOLECULAR AO USO DE ATRA EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA – LPA

Andressa Silva Sant'anna¹; Thayglerson Augusto A. Paixão¹; Thays Birindiba Rangel Gomes¹; Karine Lourenzone²

RESUMO

A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um dos subtipos com maior criticidade da leucemia mielóide, definida como um conjunto de condições fisiopatológicas moleculares, apresentando características de proliferação celular intensificada, resultando no déficit da capacidade celular quando substanciais a identificação e a morte celular. Caracterizada por alterações genéticas que englobam o receptor alfa do ácido retinóico, tendo como consequência a síntese de proteína (PML-RAR α), apresentando sensibilidade limitada ao ligante e resistência a diferenciação de linhagem mielóide. A translocação t(15;17) sendo presente em mais de 90% dos casos de LPA é resultante ao acríve e associação dos genes PML instalado no cromossomo 15 e RAR α , instalado no cromossomo 17. A consequência se faz a partir da síntese de genes codificadores de proteínas híbridas PML-RAR α e RAR α -PML. As mesmas apresentam multiplicidade dos controles funcionais e atuam como efeitos oncogênicos negativos-dominantes capazes de induzir e interferir nas funções do PML via retinóide. Podem ser relacionadas com condições agudas, onde a proliferação celular se torna um composto de células apresentando características imaturas ou maduras, decaindo a capacidade de diferenciação de modo exitoso. Os esquemas terapêuticos foram revolucionados com a introdução do ácido trans-retinóico (ATRA) ao tratamento da LPA, atualmente o subtipo (M3) com melhor prognóstico e mais curável entre as leucemias mielóides agudas. Se trata de uma patologia que apresenta complicações hemostáticas, como a contração intravascular disseminada

(CIVD). O presente trabalho vem com uma revisão de literatura em respeito a Leucemia Promielocítica Aguda para que seja apresentado a importância do diagnóstico e as condições moleculares com esquemas terapêuticos ao uso de ATRA.

Palavras chaves: ATRA; LPA; Leucemia;

ABSTRACT

Acute promyelocytic leukemia (APL) is one of the most critical subtypes of myeloid leukemia, defined as a set of molecular pathophysiological conditions, presenting characteristics of intensified cell proliferation, resulting in a deficit in cell capacity when substantial identification and cell death. Characterized by genetic alterations that encompass the retinoic acid receptor alpha, resulting in protein synthesis (PML-RAR α), presenting limited sensitivity to the ligand and resistance to myeloid lineage differentiation. The t(15;17) translocation, being present in more than 90% of ALI cases, results from the increase and association of the PML genes installed on chromosome 15 and RAR α , installed on chromosome 17. The consequence is caused by the synthesis of genes PML-RAR α and RAR α -PML hybrid protein coding. They present a multiplicity of functional controls and act as dominant-negative oncogenic effects capable of inducing and interfering with the functions of the PML and retinoid pathway. They can be related to acute conditions, where cell proliferation becomes a composite of cells presenting immature or mature characteristics, decreasing the capacity for successful differentiation. Therapeutic regimens were revolutionized with the introduction of trans-retinoic acid (ATRA) to the treatment of ALI, currently the subtype (M3) with the best prognosis and most curable among acute myeloid leukemias. This is a pathology that presents hemostatic complications, such as disseminated intravascular contraction

(CIVD). The present work comes with a literature review regarding Acute Promyelocytic Leukemia to present the importance of diagnosis and molecular conditions with therapeutic schemes for the use of ATRA.

Keywords: ATRA; LPA; Leukemia;

INTRODUÇÃO

A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) mostrou ser uma subclassificação peculiar devido a sua morfologia observada em lâmina e de outras particularidades, por exemplo, a presença da translocação entre os cromossomos (15;17) t(15;17), resultando na síntese da proteína PML-RAR α . Com a presença dessa mutação cromossômica, o resultado, de acordo com a classificação Franco-Americana- Britânica (FAB), não é necessário critério de classificação de origem aguda, que é presença blástica superior a 20%, sendo que qualquer presença destas células bastaria para complementação de diagnóstico e condução clínica prévia (ZERBINI *et al.*, 2010; BENICIO, REGO, 2013).

Tal constatação da presença de translocação cromossômica t(15;17) afeta o gene PML no cromossomo 15q22, sendo representativo em cerca de 95% dos casos de LPA. Assim, foi identificado que os casos de LPA que não apresentam modificações citogenéticas identificadas por metodologias clássicas, apresentaram anível molecular o rearranjo PML-RAR α (ALBERTO, 2000).

Diversos estudos e pesquisas sobre características da LPA já resultam as particularidades existentes. Foi possível observar que tal leucemia possui intervenções e protocolos direcionados de forma única de tratamento terapêutico, realizando administração do fármaco ácido trans-retinóico (ATRA), apresentando prognósticos, remissões e taxas de recuperação elevadas. Em pacientes que venham apresentar intercorrências e complicações a condição terapêutica ao administrarem o ATRA, as possibilidades com capacidade para direcionar o tratamento de forma exitosa são diversas (LÖWENBERG *et al.*, 2003; LO-COCO *et al.*, 2013;).

É de conhecimento evidente na literatura que a LPA possui excelentíssimo condicionante terapêutico de grandes taxas de remissões, no

entanto, segue apresentando um extenso quadro de possibilidades a complicações concomitantes a Contração Intravascular Disseminada (CIVD), onde pacientes são evoluídos a óbito com rapidez (SAGRILLO *et al.*, 2005; LO-COCO, 2013;).

O ATRA apresenta-se como um metabólito decorrente do retinol e pertencente a classe dos retinóides onde se tem moléculas relacionadas a vitamina

A. De acordo com Fenaux *et al.* (2000) foi verificado que *in vitro* destaca-se a propriedade de diferenciar e inibir a exacerbada proliferação celular que apresentam linhagens de conjuntos celulares hematopoiéticos modificados, incluindo-se as células progenitoras de linhagem mielóide. O mecanismo de ação do ATRA não está esclarecido, no entanto, estudos mostram que é baseado na modificação do receptor de ácido retinóico (RAS) quando ocorre a ligação do ATRA. (FENAUX, 2000).

Com a ativação de duas classes de receptores proteicos nucleares, sendo eles, receptores de ácido retinóico (RaRs) x retinóides (RXRs). A ação que compete aos retinóides está dependente destes receptores intracelulares que se apresentam de diversas formas, seguindo a característica de padrão tecidual. No contexto mais relevante a granulopoiese se tem a isoforma RAR α que em concentrações de ATRA, se torna possível a dimerização dos receptores X retinóides (RXRs), originando um complexo de RAR α /RXR com a capacidade de estimular ou deprimir a transcrição ativa dos genes em alvo (LO-COCO *et al.*, 2013).

A punção aspirativa de medula óssea é primordial para a confirmação de LPA, uma vez que, pode ser identificada em sua morfologia mais de uma variante desta enfermidade, sendo elas variantes subtipo FAB M3-Hipergranular, como condição mais frequente em até 75% dos casos, e M3V-Hipogranular. Nas duas ocorrências é comum observar mais de 20% de células mielóides que equivalem a blastos e auxilia no diagnóstico no momento do exame. A condição M3 torna-se mais constante por conta dos promielócitos que geralmente apresentam granulação primária não específica, podendo até cobrir o núcleo com cor violeta intenso, apresentando nucléolos e região perinuclear evidente (LO-COCO *et al.*, 2013; MANTHA *et al.*, 2016;).

É comum identificar inclusões citoplasmáticas como bastonetes de Auer de forma patognomônica quando se aglomeram de forma exacerbada são denominados como Fagot Cell (LO-COCO *et al.*, 2013; MANTHA *et al.*, 2016;).

Efetivamente, a LPA é uma coagulopatia multifatorial, ou seja, reduz o número de plaquetas (trombocitopenia) em consonância com coagulação intravascular disseminada, infiltração medular sendo capaz de apresentar sangramentos significativos que podem afetar o SNC (sistema nervoso central) junto ao sistema gastrointestinal. Um fator de manifestação muito importante é a síndrome de diferenciação que consiste na presença de dificuldade respiratória logo após o início do tratamento com (ATRA ou ATO) que são agentes diferenciadores, condição clínica essa que se acredita originar-se a partir de liberação de citocinas através dos grânulos promielócitos que ocorre em determinada circunstância de maturação como bandas, neutrófilos e metamielócitos da linhagem mieloide. A maioria dos efeitos obtidos pela Vitamina A são relacionados à ativação de receptores esteróides ou receptores de ácido retinóico (RAR), porém, o uso exacerbado de ácido retinóico pode tornar-se teratogênico (ASOU *et al.*, 2016; MANTHA *et al.*, 2016).

REFERÊNCIAL TEÓRICO

Leucemia é uma condição fisiopatológica clonal maligna caracterizada por manifestar a proliferação desordenada das células originadas da medula óssea. É uma doença segmentada em condições agudas ou crônicas, apresentando linhagem mieloide ou linfóides, concordante a linhagem celular apresentada no paciente (ZAGO *et al.*, 2004; OMS, 2006; VARDIMAN *et al.*, 2008).

LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma condição fisiopatológica clonal maligna hematopoiética, caracterizada pela proliferação desordenada das células originadas na medula óssea de linhagem mielocítica,

ocasionando a produção escassa de células maduras (ZAGO *et al.*, 2004; VARDIMAN *et al.*, 2009;).

Estudos epidemiológicos preconizam que fatores de origem genética, faixa etária, exposição à radiação e condicionamentos tóxicos e químicos, ambientais e ocupacionais são fatores de risco importantes no mecanismo de patogenicidade da LMA (ZAGO *et al.*, 2004), no entanto, não se limitam ou reconhecem como específicos e únicos fatores a contribuir para tal patogênese, onde de forma genética são os maisrecorrentes. A incidência epidemiológica apresenta quantitativos mais expressivos em países subdesenvolvidos e desenvolvidos, e em grandes cidades industrializadas, onde que se diferencia através de seus fatores de riscos não serem específicos, tendo o fator genético como principal causa, não único, estilos de vida, condições socioeconômicas, incidência de tabagismos, radiação e gênero agregam a incidência epidemiológica nacional e regional (JACOMO *et al.*, 2009; VARDIMAN *et al.*, 2009;).

No que tange classificação da LMA, e de acordo com o grupo FAB, inicialmente há alguns subtipos distintos, ou seja, não se trata de uma doença homogênea, mas sim de uma doença heterogênea que caracteriza-se por diferentes anormalidades cromossômicas e mutações genéticas. Se torna concreto o diagnóstico dos subtipos através da apresentação das características da LPA. A identificação é iniciada a partir dos sinais e sintomas, presença de blastos com características de promielócitos displásicos em visualização microscópica em sangue periférico ou aspirado de medula, bastonetes de Auer e apresentando a reações citoquímicas para mieloperoxidase altamente positiva (MARTINS; FALCÃO, 2000).

LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA

A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) corresponde em média cerca de 20% das leucemias mielóides agudas (LMAs) e se caracteriza devido ao acúmulo de promielócitos em sangue periférico e na medula óssea (JACOMO *et al.*, 2009).

Nos últimos anos promissores, a clínica da LPA foi remodelada de uma leucemia aguda extremamente letal para uma leucemia apresentando a maior taxa de remissões e a mais curável. O pioneirismo de agentes terapêuticos

que apresentam atuação em condicionamentos moleculares, o ATRA e ATO, apresentaram grande impacto no prognóstico e sobrevida dos pacientes portadores de LPA (SWERDLOW *et al.*, 2008; RIBEIRO; REGO, 2006).

O diagnóstico prévio da LPA deve-se ser de grande rapidez, pois seu risco defatidade precoce acomete os pacientes não diagnosticados, devido diversas complicações, tais como a expressão do CD34 identificado por meio de imunofenotipagem, valores séricos de desidrogenase láctica (LDH) elevados, mutações genéticas do gene FLT3, sendo que a CIVD apresenta maior complexidade. O Brasil apresenta a maior incidência da LPA com números superiores (20%) a Europa Ocidental e Estados Unidos em conjunto (5 a 15%) (SWERDLOW *et al.*, 2008; RIBEIRO; REGO, 2006).

A LPA se mostrou ser uma subclassificação peculiar devido a sua morfologia observada em lâmina e de outras particularidades, por exemplo, a constatação da presença da translocação entre os cromossomos t(15;17), resultando na síntese da proteína PML-RAR α de modo que com este resultado não seria necessário o critério de classificação de origem aguda com presença blástica superior a 20%, portanto, qualquer contagem destas células bastaria para complementação de diagnóstico e condução clínica prévia (ZERBINI *et al.*, 2010; BENICIO; REGO, 2013).

A particularidade estrutural da LPA é a aparição de blastos com núcleo excêntrico e citoplasma com excessiva granulação, em alguns exames a granulação do citoplasma se faz tão presente e numerosa que se torna complexa a diferenciação entre núcleo e citoplasma (MARTINS; FALCÃO, 2000; RIBEIRO; REGO, 2006).

Seguindo os critérios de morfologias propostos pelo conjunto FAB, a LPA recebe duas classificações, sendo, Hipergranular (M3) e Hipogranular (M3 Variante). Com características morfológicas celulares e com representatividade em cada classificação. O subtipo M3 apresenta maior criticidade e possuiu protocolos terapêuticos que se difere do protocolo usual da LMA, obtendo eficácia terapêutica a uso de ATRA (BENNETT *et al.*, 2000; JACOMO *et al.*, 2009).

O ATRA é indicado para busca da remissão em LPA. Pode-se iniciar o tratamento com o ATRA tanto em pacientes ainda não tratados, como pacientes que apresentaram recidiva após quimioterapia (tratamentos

equivalentes a antraciclina e citosina arabinosídeo) ou pacientes refratários a quaisquer tipos de quimioterapia. O aumento da sobrevida e a redução do risco a recidiva consiste na associação quimioterápica ao ATRA (LO-COCO *et al.*, 2013; ABLAIN *et al.*, 2014;).

O medicamento deve ser usado para o tratamento da leucemia promielocítica aguda. Estudos com tretinoína demonstraram ação em células sanguíneas, incluindo a linhagem de células leucêmicas mielóides humanas. O medicamento começa a funcionar logo após ser administrado (MARTINS; FALCÃO, 2000).

O ATRA é um metabólito endógeno de Retinol (Vitamina A), normalmente encontrado em níveis séricos presentes no plasma. As doses por via de administração oral apresentam boa absorção e concentrações plasmáticas em níveis máximos se apresentam em voluntários fisiologicamente saudáveis após 3 horas. Em condições plasmáticas, se apresentam ligando-se de forma extensa as proteínas plasmáticas (albumina, globulinas e fibrinogênio). Respeitando a especificidade de cada paciente, as variações de absorção ATRA podem ser divergentes (LO-COCO *et al.*, 2013; ABLAIN, 2014;).

O ATRA sendo isomerizado em ácido 13-Cis-retinóico e oxidado em metabólitos 4-Oxo. Esses metabólitos têm meia-vida mais longa que o ATRA e pode ocorrer algum acúmulo. Durante o tratamento contínuo, pode ocorrer uma diminuição acentuada da concentração plasmática, possivelmente devido à indução enzimática do citocromo P-450, reduzindo sua biodisponibilidade após administração por vias orais (LO-COCO *et al.*, 2013; ABLAIN, 2014;).

TRATAMENTO

O ATRA é um metabólito natural do retinol e pertence ao grupo dos retinóides. Estudos *in vitro* demonstraram a capacidade de induzir a diferenciação e inibir a proliferação celular em linhagens de células hematopoiéticas transformadas. Isso inclui a linha celular mielóide humana. O mecanismo de ação na LPA não é conhecido em razão da modificação na ligação do ATRA a um receptor no núcleo celular de ácido retinóico (RAS),

dado que o receptor do ácido retinóico é alterado pela fusão com a proteína chamada PML (FENAUX *et al.*, 2008).

O ATRA inverte o efeito inibitório de PML/RARA tanto no gene RARA quanto no gene PML, resultando em uma diferenciação completa de promielócitos a granulócitos desenvolvidos. Independente do ATRA induzir a diferenciação das células leucêmicas, o mesmo não consegue extinguir o clone leucêmico; causa pela qual manipula-se com a quimioterapia. Não são todos os pacientes que respondem ao ATRA, pois sua eficácia está diretamente associada com a translocação t(15,17), a qual se correlaciona ao receptor RARA. Assim sendo, para que os pacientes respondam bem, devem apresentar essa translocação nos promieloblastos (MUÑOZ, 2001).

No momento em que a combinação de ATRA é administrada simultaneamente com quimioterapia, a indução da remissão completa é efetiva. A antraciclina, idarrubicina originalmente sintetizada em laboratório, intercala-se com adenosina, interage com a topoisomerase II e tem efeito inibitório na síntese de ácidos nucleicos. Mielossupressão em casos graves acontecerão em todos os pacientes que obtenham doses terapêuticas desse agente. O perfil hematológico deverá ser avaliado previamente e no decorrer de cada ciclo da terapia apenas a função hepática e/ou renal, para reavaliação a cada conduta clínica para prováveis interferências (KOWALSKI *et al.*, 2002).

Por conseguinte, o trióxido de arsênio (ATO) também é utilizado no tratamento da LPA, ele tem se apresentado apto a induzir remissão naqueles pacientes que apresentam reincidência da LPA posteriores ao tratamento com o ATRA. Uma vez que esse composto dispõe da capacidade de induzir apoptose em altas concentrações plasmáticas, pois interfere na diferenciação celular, degrada a proteína quimérica e amplia as expressões das caspases, ativando, assim, a apoptose (GARICOCHEA, 1997).

No tempo em que, o mecanismo de ação do ATO não se encontra definido, este estimula, *in vitro*, transformações morfológicas e fragmentação do ácido desoxirribonucleico (DNA), em particularidade a apoptose das células de leucemia promielocítica humana. Além disso, provoca danos ou degradação da proteína de fusão PML/RARa (LIMA *et al.*, 2000).

O ATRA tem sido reconhecido, exceto pela “Síndrome do ácido retinóico” que ocorre em 9 a 26% dos pacientes (KOTOWSKI; MONTEIRO; ARAÚJO, 2007) ou até 38% (PINHEIRO *et al.*, 2003). Tal condição é decorrente de manifestações de resposta inflamatória sistêmica, infiltração tecidual e dano endotelial/obstrução da microcirculação. A maioria dos sintomas se apresenta através de febre, dispneia, respiração ofegante, infiltrados pulmonares, hiperleucocitose, hipotensão, derrame pleural, insuficiência hepática, insuficiência renal e falência múltipla dos órgãos (TALMAN *et al.*, 2000). Seu diagnóstico é essencialmente clínico, necessitando ser diagnosticado precocemente para obter um êxito terapêutico (TERNBLÓM *et al.*, 2002; PINHEIRO, 2003).

O aparecimento da síndrome ocorre em torno do décimo dia do uso do ATRA. Para seu tratamento, utiliza-se a dexametasona, que, quando usada no primeiro sinal da síndrome, consegue reverter e controlar o quadro clínico dentro de poucas horas (PINHEIRO *et al.*, 2003; KOTOWSKI; MONTEIRO; ARAÚJO, 2007). Se não for tratada adequadamente, pode ser fatal (TALMAN *et al.*, 2000).

Affonso, H.A. *et al* (2021) relatam que certa paciente do sexo feminino, 25 anos, portadora de Leucemia Promielocítica Aguda, em fase de consolidação quimioterápica com ATRA, procurou atendimento na emergência hospitalar por queda do estado geral, tosse e dispneia de início agudo. Foi internada e realizou radiografia do tórax na qual se evidenciou infiltrado pulmonar, complementada com tomografia computadorizada, que demonstrou extensas áreas de consolidação em ambos os pulmões, opacidades em vidro fosco e espessamento de septos interlobulares. Foi-se aventada a possibilidade de síndrome ATRA, e a paciente foi tratada com dexametasona 10 mg duas vezes ao dia, respondendo bem clínica e radiologicamente.

O mecanismo subjacente ainda não é bem compreendido, mas acredita-se que esteja relacionado à liberação de citocinas vasoativas e quimiotáticas pelos promielócitos à medida que ocorre a rápida diferenciação em neutrófilos. Neste seguimento, há uma resposta inflamatória sistêmica com síndrome de extravasamento capilar sistêmico. Algumas alterações

radiológicas, no geral, estão relacionadas ao quadro de má distribuição hídrica, mas podem ser decorrentes das alterações hematológicas se considerarmos a hipótese de hemorragias pulmonares associadas. Foram observados aumento da área cardíaca, ingurgitamento dos hilos pulmonares, espessamento septal, derrame pleural, opacidades mal definidas, ou em vidro fosco ou até nódulos e consolidações, sendo que suas localizações podem variar. Essas alterações, muitas vezes, podem ser diagnosticadas apenas pela radiografia convencional (TALMAN *et al.*, 2000; JUNG *et al.*, 2002; PINHEIRO, 2003).

BASES MOLECULARES – RAR α x Ácido trans-retinóico (ATRA)

Os retinóides derivados sintéticos ou naturais de retinol (vitamina A) consistem em ser metabólitos dietéticos ativos, ou seja, necessários a condição fisiológica do organismo, tornando-se essencial para o desenvolvimento, proliferação e diferenciação celular. A tretinoína e o ATRA tem como importante e necessária função na diferenciação de linhagem mielóide ao atingirem a estimulação da granulopoiese (LO-COCO *et al.*, 2013).

O objetivo de interesse molecular está envolvido com a ativação de duas classes de receptores proteicos nucleares, sendo eles, receptores de RaRs x RXRs. A ação que compete aos retinóides está dependente destes receptores intracelulares que se apresentam de diversas formas, seguindo a característica de padrão tecidual. No contexto mais relevante, a granulopoiese encontra-se na isoforma RAR α que, em concentrações de ATRA, se torna possível a dimerização dos receptores X retinóides (RXRs), originando um complexo de RAR α /RXR com a capacidade de estimular ou deprimir a transcrição ativa dos genes em alvo (FENAUX *et al.*, 2000; LO-COCO *et al.*, 2013; ABLAIN, 2014).

Já o receptor RAR α compõe-se em fatores de transcrição que viabiliza a ligação em escala nuclear do ácido retinóico, sendo ativado em doses fisiológicas de ATRA como pelo 9Cis-Ácido Retinóico (9-cis-RA), opostamente aos RXRs. A dinâmica de ligação de receptores se torna importantemente notável aos estudos relacionados a LPA em conjunto a

descoberta que o ATRA, quando se apresenta em altas doses superfisiológicas, obtém-se a particularidade de se manifestar como estímulo capaz de reindução a diferenciação as células blásticas, como os promielócitos (NICHOL- JN, GARNIER *et al.*, 2014).

Em condições moleculares, a extensão de ATRA em concentrações farmacológicas promovem a dissociação proteica de PML-RAR α e seus receptores, ativação da transcrição, a remodelação de cromatina e a busca de co-ativadores. Em resposta a administração terapêutica, a degradação da proteína PML-RAR α traz sugestão de métodos alternativos que com a perda das proteínas de fusão seria possível abrir caminho para os demais fatores de transcrição buscarem seus genes- alvo e possibilitando a condição fisiológica normalizada de sua transcrição (FENAUX *et al.*, 2000; ABLAIN, 2014;).

Por ser uma doença hemato-oncológica caracteriza-se agressividade e letalidade, tal condição se agrava quando não tratada adequadamente, o que a torna uma emergência médica. Diante disso, faz-se necessário um diagnóstico precoce para impulsionar o tratamento de forma positiva para o paciente (DA SILVA *et al.*, 2019). Entre os exames utilizados para esse diagnóstico, como análise de amostra de medula óssea e exame de sangue, existem também os exames específicos como, hemograma e citogenéticos moleculares (ZERBINI *et al.*, 2011; PANDOLFI *et al.*, 2001).

A avaliação laboratorial inicial deve incluir hemograma completo e esfregaço de sangue periférico. Avaliação dos parâmetros bioquímicos: ionograma, nitrogênio ureico, creatinina, bilirrubina total, transaminases, ácido úrico, lactato desidrogenase e testes de coagulação. Tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada e dosagem de fibrinogênio (JACOMO *et al.*, 2008 DA SILVA *et al.*, 2019;).

Por conta da falta da hematopoese, alguns pacientes portadores da doença apresentam anemia normalmente normocítica e normocrônica, embora uma parte significativa de portadores da LPA apresentem pancitopenia, estima-se que cerca de 30% apresentam leucocitose. Além de tudo, as complicações hemorrágicas se dão por conta de pacientes com plaquetopenia. (DEVITA; LAWRENCE; ROSENBERG, *etal.*, 2011).

A técnica molecular de FISH é uma importantíssima ferramenta para

observar em células frescas ou congeladas seus ácidos nucleicos por conta de sua alta sensibilidade, é realizado através de sondas específicas marcadas com fluorocromo em regiões específicas do DNA se anelam em cromossomos em estágio de interfase ou metáfase no caso de genes PML e RARa, além de reconhecer as células que se originaram a partir do clone neoplásico, eliminando resultados “falsos negativos” analisando células que não fazem parte do clone. As marcações são feitas com fluorocromo de cores diferentes para cada gene analisado em questão, quando ocorre translocação de dois genes é produzida uma fluorescência com sinais concordantes (SAGRILLO *et al.*, 2005).

Este método pode apontar a origem da leucemia, acompanhar o avanço da terapia no tratamento, capaz também de reconhecer a recaída da doença de maneira que seja visível a deleção e amplificação de genes. Consiste em uma técnica altamente específica e sensível, menos demorada e com custos econômicos menores que a cariotipagem. Embora seja uma técnica importante para a caracterização de translocações variantes, pode não ser a mais adequada para o estudo da maioria dos pacientes com o rearranjo PML-RARA. (PALLOTTA *et al.*, 2000; SAGRILLO *et al.*, 2005;)

O teste mais aplicado é o hemograma, devido a sua agilidade em liberar o resultado quando comparado aos demais exames. Além disso, normalmente, os blastos com características de promielócitos displásicos costumam ficar em grande evidência no sangue periférico e por essa razão é preferível que seja feito hemograma. Todavia, nada impede durante o processo de diagnóstico realizar outros métodos de confirmação e acompanhamento da evolução da doença, como por exemplo o método de hibridização *in situ* de fluorescência (FISH) e citogenética.

Vale destacar então, a importância que os laboratórios, que prestam esses exames, capacitem os profissionais e técnicos presentes para que estejam aptos a identificar células e suas morfologias. Em geral, o hemograma indica leucocitose e costuma ser discreta além de evidenciar pancitopenia e características hematológicas em comum a LPA (SAGRILLO *et al.*, 2005; JACOMO *et al.*, 2008; DA SILVA *et al.*, 2019;).

Enquanto a citogenética tem caráter substancial no acompanhamento do tratamento da LPA, em razão da remissão clínica ou hematológica do

diagnóstico. A remissão citogenética consiste no desaparecimento da insólita alteração e, futuramente, caso haja reincidência da mesma anomalia identifica-se recaída. O diagnóstico citogenético também se mostra muito importante na confirmação do exame, já que integra a credibilidade do exame uma vez que, segundo a OMS, sua morfologia é vista como critério insuficiente (AVVISATI, 2001; MANDELLI, 2001; LO COCO, 2003).

Embora a imunofenotipagem seja um teste de citometria de fluxo, não é um método apropriado para diagnóstico definitivo, ela apenas reforça a suspeita do diagnóstico e auxilia na indicação terapêutica precoce e consente através de antígenos de superfície, determinar clones celulares (PALLOTTA *et al.*, 2000; JACOMO *et al.*, 2008).

Os blastos com autofluorescência se evidenciam no teste de imunofenotipagem, evidenciando precocemente marcadores mielóides como o CD117 com fluorescência baixa, o CD13 se mantém no padrão homogêneo e o CD33 com padrão heterogêneo. Habitualmente se mantém negativo o marcador das células precursoras hematopoiéticas CD34 tal como HLA-DR (antígeno leucocitário humano), em contrapartida, a maturidade mielóide CD11b e CD15 se dão por negativo ou de baixa pressão. A imunofenotipagem é eficaz para identificar o estágio de maturação das células leucêmicas, além de especificar a linhagem celular alterada (JACOMO *et al.*, 2008; BASHARAT *et al.*, 2019).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As leucemias, tipo de câncer que agride as células sanguíneas, estão entre as neoplasias malignas mais comuns em crianças e jovens. No decorrer dos últimos anos, a Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) se converteu em um verdadeiro exemplo na aplicação clínica em conhecimentos fisiopatológicos a nível molecular. Sendo caracterizada por possuir condicionamentos genéticos assíduos capazes de comprometer a diferenciação na linhagem mielóide, apresentando a constatação de translocação t(15;17), que afeta os genes RAR α e PML. A translocação resulta na síntese de uma oncoproteína associada ao déficit de sensibilidade

aos retinóides derivados, se traduzindo pelo fenótipo dos promielócitos na região da medula óssea.

A base indeclinável para o sucesso de forma terapêutica da LPA se fundamenta nos estudos que mostram que doses supra-fisiológicas de ácido trans-retinóico (ATRA) proporcionam uma condição de bloqueio na maturação e retoma a diferenciação de linhagem granulocítica, sendo possível uma sobrevivência quando o plano terapêutico apresenta êxito. Se torna admirável a evolução na eficácia terapêutica com a introdução do ATRA aos pacientes portadores de LPA. Combinado com formas quimioterápicas, apresenta prognóstico muito promissor ao longo prazo, sendo combinado com ATO, outra sugestão terapêutica eficaz em conjunto com ATRA, antraciclinas ou métodos equivalentes.

A evolução terapêutica ao uso de ATRA proporcionou taxas de remissões e prognósticos relevantes. Hoje, os estudos que se debruçam sobre a abordagem terapêutica da LPA, outrora em busca da remissão completa da doença e cura dos doentes, ambicionam o aperfeiçoamento dos protocolos terapêuticos, não só com o intuito curativo como também de forma a proporcionar uma melhoria da qualidade de vida aos doentes que sobrevivem a esta patologia hemato-oncológica.

O tratamento da LPA avançou notavelmente e de maneira incontestável, quando a atual abordagem terapêutica, para além da remissão completa da patologia, almeja preservar a qualidade de vida dos pacientes no período pós-doença — visão que há algumas décadas atrás seria aceite como insensata.

Embora as vantagens e eficácia terapêutica com a administração ATRA, se faz necessário manter a busca clínica para sanar e amenizar os desafios ocasionados pelo ATRA, a síndrome do ácido retinóico que ocorre em até 38% dos pacientes que decorre com manifestações de reposta inflamatória sistêmica com mecanismo subjacente não sendo esclarecedor.

A pesquisa de novos agentes terapêuticos prossegue como atividade contínua, incluindo a pesquisa de novos medicamentos com outras vias de administração. Qualquer mudança no tratamento de uma doença que apresente taxas de cura tão altas quanto as obtidas pelo atual regime terapêutico de LPA deve ser muito bem considerada.

Novas propostas terapêuticas devem ser reservadas para estudos clínicos no âmbito da pesquisa, bem como para pacientes não candidatos ou resistentes aos esquemas terapêuticos convencionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABLAIN, J., RICE, K., SOILIH, H. *et al.* **Activation of a promyelocytic leukemia– tumor protein 53 axis underlies acute promyelocytic leukemia cure.** *Nat Med* **20**, 167–174 - 2014

AFFONSO, H.A.; AVILA, J.I.M.; BOUSQUET, G.O.; COSTA, H.S.B.; CRUZ, C.M.B.Q.;

JAUREGUI, G.F.; MARTINS, S.A.C.; NUNES, S.L.G. **Políticas e serviços de saúde: Síndrome ATRA em paciente portadora de Leucemia.** Atena Editora, Paraná, cap. 20, p. 163-166, 2021

ALBERTO, F. L. PML-RARa: **ferramenta molecular no diagnóstico da leukemia promielocítica aguda (FAB LMA-M3)**, out., 2000.

ASOU N, ADACHI K, TAMURA J, KANAMARU A, KAGEYA-MA S, HIRAOKA A, et al.

Analysis of prognostic factors in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and chemotherapy. Japan Adult Leukemia Study Group. *J Clin Oncol*.1998;16(1):78-85. DOI 10.1200/JCO.1998.16.1.78

AVVISATI, G.; LO COCO, F.; MANDELLI, F. **Acute promyelocytic leukemia: clinical and morphologic features and prognostic factors.** *Semin Hematol*, v. 38, p. 4-12, 2001

BENNETT, JM et al. Hypergranular promyelocytic leukemia: correlation between morphology and chromosomal translocations including t(15;17) and t(11;17). *Leukemia*, v.14, n.7, p.1197-1200, 2000.

CICCONI, L.; LO-COCO, F. **Current management of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia.** *Annals Of Oncology*, [s.l.], v. 27, n. 8, p.1474-1481, ago. 2016.

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.

FENAUX, P. et al. **Long –term folow-up confirms the benefit of all-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. European APL group. Leukemia**, v. 14, p. 1371-1377, 2008.

GARICOCHEA, B. Trióxido de arsênico em leucemia promielocítica: cada vez mais próximo da cura. **Rev. da Sociedade Brasileira de Cancerologia**, São Paulo, n. 5, 1997

JÁCOMO, R. H.; FIGUEIREDO-PONTES, L. L.; REGO, E. M. **Do paradigma**

molecular ao impacto no prognóstico: uma visão da leucemia promielocítica aguda. Revista da Associação Médica Brasileira, [s.l.], v. 54, n. 1, p.82-89, fev. 2008.

JUNG, Jung Im, et al. **Radiologic Features of All-Trans-Retinoic Acid Syndrome**. American Journal of Roentgenology, v. 178, n. 2, p. 475-480, 2002.

KOTOWSKI, Aline; MONTEIRO, Greice Ane; ARAÚJO, Maria Do Carmo Dos Santos. **LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA**. Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde, v. 8, n. 1, p. 69-89, 2007.

KOWALSKI, L. P. ET AL. **Manual de condutas diagnósticas e terapêuticas em oncologia**. 2. ed. São Paulo: Âmbito editores, 2002.

LEAL, A.M.; KUMEDA, C. A.; VELLOSO, E. D. R. P.. **Características genéticas da leucemia promielocítica aguda de novo**. Rev. Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Rio de Janeiro, v.31, n.6, p. 454-462, dez. 2009

LIMA, J. L. O. et al. Terapia rediferenciadora do câncer. **Rev. da Sociedade Brasileirade Cancerologia**, São Paulo, ano III, n. 9, 2000.

LO-COCO, F; AVVISATI, G; VIGNETTI, M; et al. **Retinoic Acid and Arsenic Trioxide for Acute Promyelocytic Leukemia**. New England Journal Of Medicine, v.369, n.2, p.111-121, 2013.

LOWENBERG, B.; FENAUX, P.; ESTEY, E. H.; NAOE, T.; LENGFELDER, E.;

BÜCHNER, T.; DÖHNER, H.; BURNETT, A. K.; LO-COCO, F. **Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet.** *Blood*, Washington, v. 113, n. 9, p. 1875-1891, feb. 2003.

MANTHA S, Tallman MS, SOFF GA. **What's new in the pathogenesis of the coagulopathy in acute promyelo-cytic leukemia?** *Curr Opin Hematol.* 2016;23(2):121-6. DOI 10.1097/MOH.0000000000000221

MARTINS, SLR; FALCÃO, RP. **A importância da imunofenotipagem na Leucemia Mielóide Aguda.** *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.46, n.1, p.57-62, 2000.

MUÑOZ, K. V. Leucemia promielocítica aguda: del origen a la remission. **Acta. Pediatr. Costarric**, San José, v. 15, n. 1, 2001.

NICHOL JN, GARNIER N, MILLER WH, JR. **Triple A therapy: the molecular underpinnings of the unique sensitivity of leukemic promyelocytes to anthracyclines, all-trans-retinoic acid and arsenic trioxide.** *Best practice & research Clinical haematology.* 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS. Câncer. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Acesso em: 10 de out. 2022.

PALLOTTA, R. et al. **Metodologia diagnóstica e tratamento da recaída após transplante de medula óssea em paciente com leucemia promielocítica aguda.** *Revista Brasileira de Hematologia e hemoterapia*, São José do Rio Preto, v. 22, n. 3, 2000.

PANDOLFI PP. et al. **Oncogenes and tumor suppressors in the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia.** *Hum Mol Genet.* 2001 Apr;10(7):769-75.

PINHEIRO, R. F. Síndrome ATRA: experiência de 10 anos. **Rev. da Sociedade Brasileira de Cancerologia**, São Paulo, v. 49, n. 1, 2003.

RIBEIRO A. A. B. **A importância de exames laboratoriais no diagnóstico e monitoramento da leucemia promielocítica aguda com PML-RARA: relato de um caso raro.** Monografia. Florianópolis: 2018.

RIBEIRO R, REGO R. Management of APL in developing countries: **epidemiology, challenges and opportunities for international collaboration.** Hematology Am Soc Hematol Educ Program., p. 162-168, 2006.

SAGRILLO, M. R. et al. **Leucemia promielocítica aguda: caracterização de alterações cromossômicas por citogenética tradicional e molecular (FISH).** Rev. Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, São José do Rio Preto, v. 27, n. 2, 2005.

SILVA, K. R. et al. **A importância do hemograma no diagnóstico da leucemia promielocítica aguda.** (Pós-Graduanda em Hematologia) - Biomédica - São José do Rio Preto, São Paulo, 2019

SWERDLOW, S.H.; CAMPO, E.; HARRIS, N.L.; JAFFE, E.S.; PILERI, S.A.; STEIN, H.; THIELE, J.; VARDIMAN, J.W. (Eds). **Who Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues.** Lyon, IARC Press, 2008.

TALMAN, M. S. et al. Clinical description of 44 patients with acute promyelocytic leukemia who develop the retinoic acid syndrome. **Blood**, v. 95, p. 90-95, 2000.

TERNBLÓM, A. P. et al. **Complicaciones con ácido transretinoico en la leucemia promielocítica.** Habana, Cuba: Instituto de Hematología e Inmunología, 2002.

VARDIMAN, J.; ORAZI, A.; BENNETT, J. M.; GERMING, U.; BRUNNING, R. D.; BAIN, B. J.; THIELE, J.; **Chronic Myelomonocytic Leukemia.** In **WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.** Ed. SWERDLOW, S. H.; CAMPO, E.; HARRIS, N. L.; JAFFE, E. S.; PILERI, S. A.; STEIN, H.; THIELE, J.; W. 4 ed., WHO Press, Geneva, 2008.

ZAGO, M. A. et al. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2004

ZERBINI, MCN; SOARES, FA; VELLOSO, EDRP; et al. **Classificação da Organização Mundial da Saúde para os tumores dos tecidos hematopoiético e linfoide**. Revista da Associação Médica Brasileira, São Paulo, v.57, n.1, p.66- 73, 2010.