

# TERAPÊUTICA DA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA COM ÁCIDO TRANS-RETINÓICO

## Experiência do Hospital de Santa Maria, Faculdade de Medicina de Lisboa

JOÃO FORJAZ DE LACERDA, JOSÉ ALVES DO CARMO, MARGARIDA CARNEIRO DE MOURA,  
M. LURDES GUERRA, CONCEIÇÃO LOPES, JOÃO RAPOSO, ALCINDA MELO,  
J. J. GOMES DE OLIVEIRA, J. M. FORJAZ DE LACERDA

Unidade de Hematologia, Serviço de Patologia Clínica e Centro de Hematologia e Imunologia da Universidade de Lisboa.  
Hospital de Santa Maria. Faculdade de Medicina de Lisboa. Lisboa.

### RESUMO

A leucemia promielocítica aguda (LPM) é um subtipo raro de leucemia mieloblástica aguda que frequentemente se associa a complicações hemorrágicas fatais. O ácido *trans*-retinóico (ATRA) é um derivado da vitamina A que diferencia o clone leucémico, corrige as alterações da coagulação e induz remissão completa na maioria dos doentes com LPM. Entre Junho de 1992 e Setembro de 1993 foram tratados na nossa Unidade com ATRA 8 doentes com LPM (4 com doença de *novo*, 3 em primeira recaída e 1 em segunda recaída). Foi induzida remissão completa em 7 dos 8 doentes; em 5 unicamente com ATRA e em 2 com ATRA seguido de quimioterapia citotóxica por desenvolvimento de hiperleucocitose assintomática. Os primeiros sinais indicativos de resposta à terapêutica foram a correcção da coagulopatia e o aumento do número de leucócitos no sangue periférico. Os exames sequenciais morfológico e imunofenotípico da medula óssea demonstraram diferenciação progressiva do clone leucémico, não acompanhada de hipoplasia da medula óssea. Dos 5 doentes tratados unicamente com ATRA até remissão completa, 4 apresentaram leucopenia tardia. Os efeitos adversos mais frequentes foram secura da pele e mucosas, hipertrigliceridémia e hipercolesterolémia, e aumento moderado das transaminases hepáticas. O aparecimento de leucocitose no decurso do tratamento foi comum, excedendo  $35.0 \times 10^9/l$  em 2 casos. Um destes doentes apresentou múltiplas trombozes das extremidades após quimioterapia citotóxica. Um achado frequente foi o aumento da desidrogenase láctica sérica, coincidente com o pico da leucocitose no sangue periférico. O único doente em que não foi obtida remissão completa tinha 60 anos, história de doença pulmonar crónica obstrutiva, e faleceu na terceira semana de tratamento com uma síndrome de dificuldade respiratória. Dos 8 doentes tratados, 6 receberam quimioterapia de consolidação e 5 mantêm remissão completa com uma mediana de 12 meses após a terapêutica com ATRA (extremos 9 - 16 meses). Concluímos que o ATRA actua por diferenciação do clone celular leucémico e é um agente eficaz na indução de remissão completa em doentes com LPM.

### SUMMARY

#### Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia With All-Trans - Retinoic Acid. Results of the University of Lisbon, Santa Maria Hospital

Acute promyelocytic leukemia (APL) is a rare subtype of acute myelogenous leukemia that is usually associated with a fatal hemorrhagic diathesis. All *trans*-retinoic acid (ATRA) is an active metabolite of vitamin A that differentiates the malignant cell clone, corrects the coagulopathy, and induces complete remission in the vast majority of patients with APL. Between June 1992 and

September 1993, 8 patients with APL (4 previously untreated, 3 in first relapse and 1 in second relapse) received ATRA. Complete remission was achieved in 7 patients; in 5 with ATRA alone and in 2 with ATRA followed by cytotoxic chemotherapy due to the development of asymptomatic hyperleukocytosis. The earliest signs of response were the correction of the coagulopathy and an increase in the white blood cell count. Sequential morphological and immunophenotypical analyses of the bone marrow revealed differentiation of the malignant cell clone, in the absence of bone marrow hypoplasia. 4 of 5 patients treated only with ATRA until complete remission had late leukopenia. The most frequent adverse effects were dryness of skin and mucosae, hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia, and a moderate increase in liver transaminases. An increase in the white blood cell count was common, and in two cases exceeded  $35.0 \times 10^9/l$ . One of these patients developed multiple thrombosis of the extremities after cytotoxic chemotherapy. We frequently observed an increase in lactic dehydrogenase levels that was concomitant with the peak in the white blood cell count. The only patient on whom complete remission was not achieved was 60 years old, had chronic obstructive pulmonary disease, and died in the third week of therapy with a pulmonary distress syndrome. Of the 8 patients treated, 6 received consolidation chemotherapy and 5 remain in complete remission with a median follow-up of 12 months after ATRA treatment (range 9 - 16 months). We conclude that ATRA differentiates the malignant promyelocytes and is an effective agent for inducing complete remission in patients with APL.

## INTRODUÇÃO

A leucemia promielocítica aguda (LPM) é um subtipo raro de leucemia mieloblástica aguda. Acompanha-se com frequência de uma síndrome hemorrágica que é desencadeada ou agravada pelo início da quimioterapia citotóxica de indução<sup>1-5</sup>. A libertação de factores pró-coagulantes pelo clone leucémico, com indução de coagulação intravascular disseminada, e a hiperactivação do sistema fibrinolítico estão implicados na sua etiopatogenia<sup>6-10</sup>. Devido à elevada incidência de complicações hemorrágicas fatais antes ou durante os primeiros dias de terapêutica citotóxica, a taxa de indução de remissão completa (RC) em doentes com LPM é habitualmente inferior à obtida nos restantes subtipos de leucemia mieloblástica aguda. No entanto, uma vez induzida RC, estes doentes têm maior probabilidade de cura<sup>1-5</sup>.

Os doentes com LPM apresentam uma alteração citogenética específica, a translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomas 15 e 17, t(15;17)(q22;q12-21), presente em mais de 90% dos casos<sup>11,12</sup>. No final da década de 80, Huang *et al*<sup>13</sup> e Castaigne *et al*<sup>14</sup> demonstraram que um derivado da vitamina A, o ácido *trans*-retinóico (ATRA), induz RC na maioria dos doentes com LPM. Estes resultados estimularam profícua investigação laboratorial, aprofundando o conhecimento sobre o significado molecular da t(15;17) e o mecanismo de acção do ATRA. A nível molecular dá-se a fusão do gene que codifica o receptor nuclear alfa do ácido retinóico (RAR- $\alpha$ ), localizado no cromossoma 17, com o gene PML, no cromossoma 15, resultando na transcrição de duas formas anormais de ácido ribonucleico mensageiro (ARNm), PML/RAR- $\alpha$  e RAR- $\alpha$ /PML<sup>5,15-18</sup>. O ATRA interage com este receptor nuclear e induz diferenciação do clone neoplásico. Clinicamente observa-se uma rápida correcção da coagulopatia, com consequente redução da incidência de complicações hemorrágicas<sup>13,14,19-22</sup>.

O estudo por nós conduzido confirma que o ATRA diferencia o clone neoplásico e é um agente eficaz na indução de RC em doentes com LPM.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Doentes** – A eficácia do ATRA na indução de RC em doentes com LPM *de novo*, em recaída ou com doença resistente à quimioterapia convencional foi demonstrada por vários investigadores<sup>13,14,19-22</sup>. Na nossa Unidade, consideraram-se elegíveis para serem tratados com ATRA todos os doentes com critérios morfológicos de LPM definidos pelo grupo cooperativo Francês-Americano-Britânico (FAB)<sup>23,24</sup>.

Entre Junho de 1992 e Setembro de 1993 foram tratados 8 doentes; 4 com LPM *de novo*, 3 em primeira recaída e 1 em segunda recaída (*Quadro 1*). Receberam ATRA 4 doentes do sexo feminino e 4 do sexo masculino, com uma mediana de idades de 37.5 anos (extremos 15 - 60 anos). Uma doente com LPM *de novo* tinha lupus eritematoso disseminado (LED) com nefropatia grave associada (*clearance* de creatinina < 15 ml por minuto) que condicionava terapêutica de hemodiálise 3 vezes por semana. Com excepção desta, todos os doentes tinham, na altura do diagnóstico, infiltração da medula óssea por mieloblastos e promielócitos com dismorfias numa percentagem igual ou superior a 80% da celularidade total. Todos os casos foram classificados como pertencentes ao subtipo morfológico M3 da classificação FAB<sup>23,24</sup>. A maioria dos doentes tinha leucopenia e unicamente a doente com LED apresentava uma contagem de plaquetas no sangue periférico superior a  $50.0 \times 10^9/l$ . Dos 8 doentes, 6 tinham evidência clínica e/ou laboratorial de coagulopatia em actividade e 4 apresentavam hemorragia grave da mucosa oral. As 3 doentes tratadas em primeira recaída tiveram uma duração mediana da primeira RC de 8 meses (extremos 7 - 9 meses). Uma delas havia sido resistente a daunorrubicina (D) e citosina arabinosido (AC) em doses convencionais, e respondeu a etoposido (E) e AC em alta dose para indução de primeira RC.

No doente em segunda recaída, a segunda RC foi induzida com DAC e terapêutica citotóxica intra-tecal por infiltração da medula óssea e envolvimento do sistema nervoso central por células leucémicas 12 meses após indução de primeira RC, e teve uma duração de 21 meses.

QUADRO 1 - Características Clínicas dos Doentes

	Doente 1	Doente 2	Doente 3	Doente 4	Doente 5	Doente 6	Doente 7	Doente 8
Idade (anos)	46	15	47	22	31	36	39	60
Sexo	Masc.	Fem.	Fem.	Fem.	Mas.	Fem.	Masc.	Mas.
Número de rec	2	1	1	1	0	0	0	0
Hemoglobina (g/dl)	10,2	11,2	8,9	13,3	6,0	8,8	10,0	4,5
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /l	6,0	1,6	10,9	2,7	1,9	2,0	2,0	2,6
Plaquetas x 10 <sup>9</sup> /l	18,0	16,0	14,6	45,0	10,0	128,0	14,0	20,0
% MB e PM na MO	85	90	85	80	80	40	90	85
Fibrinogénio (mg/dl)	200	420	350	100	210	220	280	311
Dimer teste	+	-	+	+	+	-	+	+
Hemorragia	-	-	-	+	+	-	+	+
Outros						LED		DPCO

Abreviaturas: rec - recaída; MB - mieloblastos; PM - promielócitos; MO - medula óssea; LED - Lupus eritematoso disseminado; DPCO - Doença pulmonar crónica obstrutiva.

**Protocolo Terapêutico** - O esquema terapêutico utilizado consistiu na administração oral de uma dose diária de ATRA de 45mg por metro quadrado (m<sup>2</sup>) de superfície corporal até obtenção de RC ou por um período máximo de 75 dias. A doente com LED recebeu 25 mg/m<sup>2</sup>/dia devido ao excesso de vitamina A habitualmente observado nos doentes insuficientes renais<sup>25</sup>. O ATRA foi gentilmente cedido pelo laboratório Hoffmann-LaRoche, com carácter de estudo compaixão, e era apresentado em cápsulas de gelatina mole em recipientes protegidos da luz. Os doentes foram submetidos a quimioterapia citotóxica ao desenvolverem hiperleucocitose no decurso da terapêutica com ATRA ou após indução de RC, que consistiu na associação de idarrubicina (ID), 12mg/m<sup>2</sup>/dia por via intravenosa durante 3 dias, com AC, na dose de 100mg/m<sup>2</sup>/dia em perfusão contínua durante 7 dias. Os doentes receberam 1 ou 2 ciclos de IDAC seguido(s) de 1 ciclo de mitoxantrona (NOV), 10mg/m<sup>2</sup>/dia, e E, 100mg/m<sup>2</sup>/dia, ambos administrados por via intravenosa durante 5 dias. A doente com LED não recebeu este protocolo de quimioterapia citotóxica intensiva por ter sido considerada uma doente de mau prognóstico devido à gravidade da insuficiência renal, e iniciou terapêutica de manutenção com ID, 6mg/m<sup>2</sup> por via intravenosa no primeiro dia, seguido de AC, 100mg de 12/12h durante 5 dias por via subcutânea. Estes ciclos terapêuticos repetiram-se mensalmente.

Por ter sido descrito o aparecimento de uma síndrome de dificuldade respiratória associada à terapêutica com ATRA, que surge com maior frequência nas formas hiperclulares e normalmente reverte com corticosteróides<sup>26</sup>, iniciou-se dexametasona por via intravenosa na dose de 30mg/dia (10mg de 8/8 horas) sempre que houve evidência de dificuldade respiratória e/ou contagem de leucócitos no sangue periférico superior a 35.0 x 10<sup>9</sup>/l.

Todos os doentes receberam transfusões de concentrado de eritrócitos sempre que o valor de hemoglobina foi inferior a 8.0 g/dl, de concentrado de plaquetas quando a contagem destas no sangue periférico foi inferior a 10.0 x 10<sup>9</sup>/l na ausência de consumo plaquetário acrescido ou inferior a 20.0 x 10<sup>9</sup>/l na presença de febre ou discrasia hemorrágica activa, e de crioprecipitado e plasma fresco sempre que os níveis séricos de fibrinogénio foram inferiores a 150 mg/dl e

o aumento dos tempos de protrombina e tromboplastina parcial activada superiores a 20% dos valores de referência. Profilacticamente, não foram administrados heparina ou qualquer agente inibidor da fibrinólise.

Todos os doentes hospitalizados foram tratados em regime de enfermaria aberta. Prescreveram-se agentes anti-bacterianos, anti-fúngicos e anti-virais de acordo com os protocolos correntemente utilizados na nossa Unidade. Sumariamente, todos os doentes com uma contagem de neutrófilos no sangue periférico inferior a 0.5 x 10<sup>9</sup>/l e com hipertermia (temperatura axilar mantida superior a 38°C) receberam a associação de um aminoglicosido com uma ureidopenicilina ou com uma cefalosporina de terceira geração, por via intravenosa. Na ausência de regressão da hipertermia ao fim de 48 horas, procedeu-se à adição de vancomicina e, não havendo melhoria do quadro clínico 48 a 72 horas mais tarde, de um agente anti-fúngico (anfotericina B). Todos os doentes receberam desde o dia do internamento nistatina e uma quinolona por via oral, assim como dieta com baixo teor bacteriano.

**Estudos Realizados** - Com excepção da doente com LED e do segundo curso terapêutico da doente 2, os restantes doentes foram hospitalizados para o início do tratamento. Em todos os casos foram realizados: mielograma (com estudo citológico em todos os doentes e imunofenotípico em 4 dos 8 doentes), contagens celulares no sangue periférico, estudo da coagulação, testes de função hepática e renal, determinação do nível sérico da desidrogenase láctica e perfil lipídico.

Durante o tratamento, e nos doentes hospitalizados, efectuaram-se diariamente contagens celulares no sangue periférico, estudo da coagulação 3 ou mais vezes por semana, e testes de função hepática e renal 5 dias por semana. As doentes seguidas em ambulatório foram observadas e realizaram todos estes exames 3 vezes por semana.

Em todos os casos foi efectuado exame morfológico diário do sangue periférico e semanal da medula óssea. Os esfregaços foram corados com May-Grünwald-Giemsa (pH 7.0) e observados sempre por um de nós (MCM). Em 4 dos 8 doentes investigou-se semanalmente a expressão dos antígenos de superfície detectados pelos anticorpos monoclo-

nais CD13, CD16 e CD33 (Becton-Dickinson, San Jose, Califórnia, Estados Unidos da América) nas células mononucleadas da medula óssea, previamente separadas por gradientes de densidade com Ficoll-Hypaque (densidade: 1.077 g/ml), lavadas extensivamente, e analisadas por citómetro de fluxo e separador celular Epics (Coulter, Hialeah, Florida, Estados Unidos da América).

**Crítérios de Resposta** – Definiu-se RC quando se constatou uma percentagem de mieloblastos e promielócitos com dimorfias inferior a 5% da celularidade total da medula óssea e contagens celulares no sangue periférico normais sem recorrer a suporte transfusional (hemoglobina 12g/dl, leucócitos > 4.0 x 10<sup>9</sup>/l com contagem diferencial normal, e plaquetas > 150.0 x 10<sup>9</sup>/l), na ausência de sintomas ou sinais atribuíveis a doença em actividade.

**RESULTADOS**

**Resposta Clínica** – Foi induzida RC em 7 dos 8 doentes (Quadro 2). Nos 5 doentes tratados com ATRA até RC, esta foi obtida após uma mediana de 30 dias de terapêutica (extremos 26 - 32 dias). Nos doentes 4 e 5 foi iniciada poliquimioterapia com IDAC, respectivamente nos dias 7 e 13, por desenvolvimento de hiperleucocitose assintomática. Nestes, a indução de RC foi documentada, respectivamente, 36 e 34 dias após o início do tratamento com ATRA. O doente 8 iniciou IDAC no dia 9 de terapêutica com ATRA por apresentar hiperleucocitose e uma síndrome de dificuldade respiratória, e faleceu ao vigésimo terceiro dia da terapêutica de indução.

Os primeiros sinais de resposta à terapêutica com ATRA foram a rápida correcção da coagulopatia e o aumento do número de leucócitos no sangue periférico. Nos 6 doentes com evidência clínica e/ou laboratorial de coagulopatia em actividade na altura do diagnóstico, esta normalizou após uma mediana de 3.5 dias de terapêutica com ATRA (extre-

mos 2-6 dias). O doente 5, apesar de manter dímeros de fibrina detectáveis no sangue periférico durante o tratamento com ATRA, teve rápida correcção das manifestações hemorrágicas e da hipertermia e não requereu transfusões de plasma fresco ou crioprecipitado após o terceiro dia de terapêutica. As doentes 2 e 6 não necessitaram de suporte transfusional até a obtenção de RC, e os restantes doentes receberam uma mediana de 1 unidade de concentrado de eritrócitos (extremos 0-11 unidades), 17.5 unidades de concentrado de plaquetas (extremos 0-24 unidades), 3 unidades de plasma fresco (extremos 0-10 unidades) e 1 unidade de crioprecipitado (extremos 0-4 unidades) durante o tratamento com ATRA. Nos doentes em que a RC foi induzida unicamente com ATRA foram necessários uma mediana de 38 dias (extremos 32-46 dias) para obtenção de um valor de hemoglobina superior a 12 g/dl e de 36 dias (extremos 10-42 dias) para uma contagem de plaquetas superior a 150.0 x 10<sup>9</sup>/l.

Com excepção dos doentes 6 e 7, todos os outros desenvolveram leucocitose no decurso do tratamento com ATRA. Em 3 dos 6 doentes o número de leucócitos não excedeu os 20.0 x 10<sup>9</sup>/l. Conforme descrito por alguns autores<sup>27</sup>, 4 dos 5 doentes tratados com ATRA até RC apresentaram leucopenia durante a terceira ou quarta semanas de terapêutica (Figura 1).

Verificou-se em todos os casos um aumento progressivo da desidrogenase láctica sérica, em regra coincidente com o pico da leucocitose no sangue periférico. Os doentes 4, 5 e 8 apresentaram, respectivamente, uma desidrogenase láctica máxima de 1200, 727 e 2000 U/l.

O número de dias de febre foi inferior ao habitualmente observado em terapêutica de indução de leucemias agudas<sup>28</sup>, requerendo no entanto um número significativo de dias de antibioterapia.

**Estudos Morfológicos** – Todos os doentes apresentavam infiltração da medula óssea por promielócitos dimórficos

QUADRO 2 – Resultados do tratamento com ATRA

	Doente 1	Doente 2	Doente 3	Doente 4	Doente 5	Doente 6	Doente 7	Doente 8
RC (D)	32	30	30	36	34	26	31	-
Terapêutica até RC	ATRA	ATRA	ATR	ATRA+QT	ATRA+QT	ATRA	ATRA	ATRA +QT
Início da QT (D)	48	-	32	7	13	36	36	9
Correcção da coagulação (D)	4	-	3	2	2+	-	6	6
Máximo leucócitos x 10 <sup>9</sup> /l (D)	20,0 (7)	19,0 (15)	13,7 (7)	73,1 (7)	62,2 (13)	4,0 (26)	8,0 (8)	32,4 (8)
Mínimo leucócitos x 10 <sup>9</sup> /l (D)	1,7 (23)	3,3 (28)	1,9 (29)	-	-	-	1,9 (20)	-
Máximo LDH (U/l) (D)	428 (6)	300 (10)	753 (3)	1200 (7)	727 (10)	257 (30)	540 (8)	2000 (8)
Dias febre (> 38°C)	10	2	10	0++	2++	0	2	8++
Dias de antibióticos	16	15	27	0++	10++	0	28	8++
Suporte transfusional (CE-CP-PF-C)++	0-6-0-0	1-17-0-0	11-24-6-2	0	5-18-6-2	0	1-20-10-2	6-24-6-4
QT consolidação	IDAC 1	-	IDAC 1 NOVE 1	IDAC 1 NOVE 1	IDAC 2 NOVE 1	ID + AC (bd)	IDAC 2	IDAC 1
Evolução	rec 6M Faleceu	rec 6 M RC3	RC + 16M	RC + 16M	RC + 12M	RC + 11M	RC + 9M	Faleceu

Abreviaturas: D - Dia; LDH - desidrogenase láctica sérica; QT - quimioterapia; M - meses; bd - baixa dose; rec - recaída.  
+ A hemorragia mucosa e os tempos de protrombina e tromboplastina parcial activada normalizam no segundo dia de tratamento com ATRA; o dimer teste mantêve-se positivo até final do primeiro ciclo de quimioterapia. ++ Durante terapêutica com ATRA.

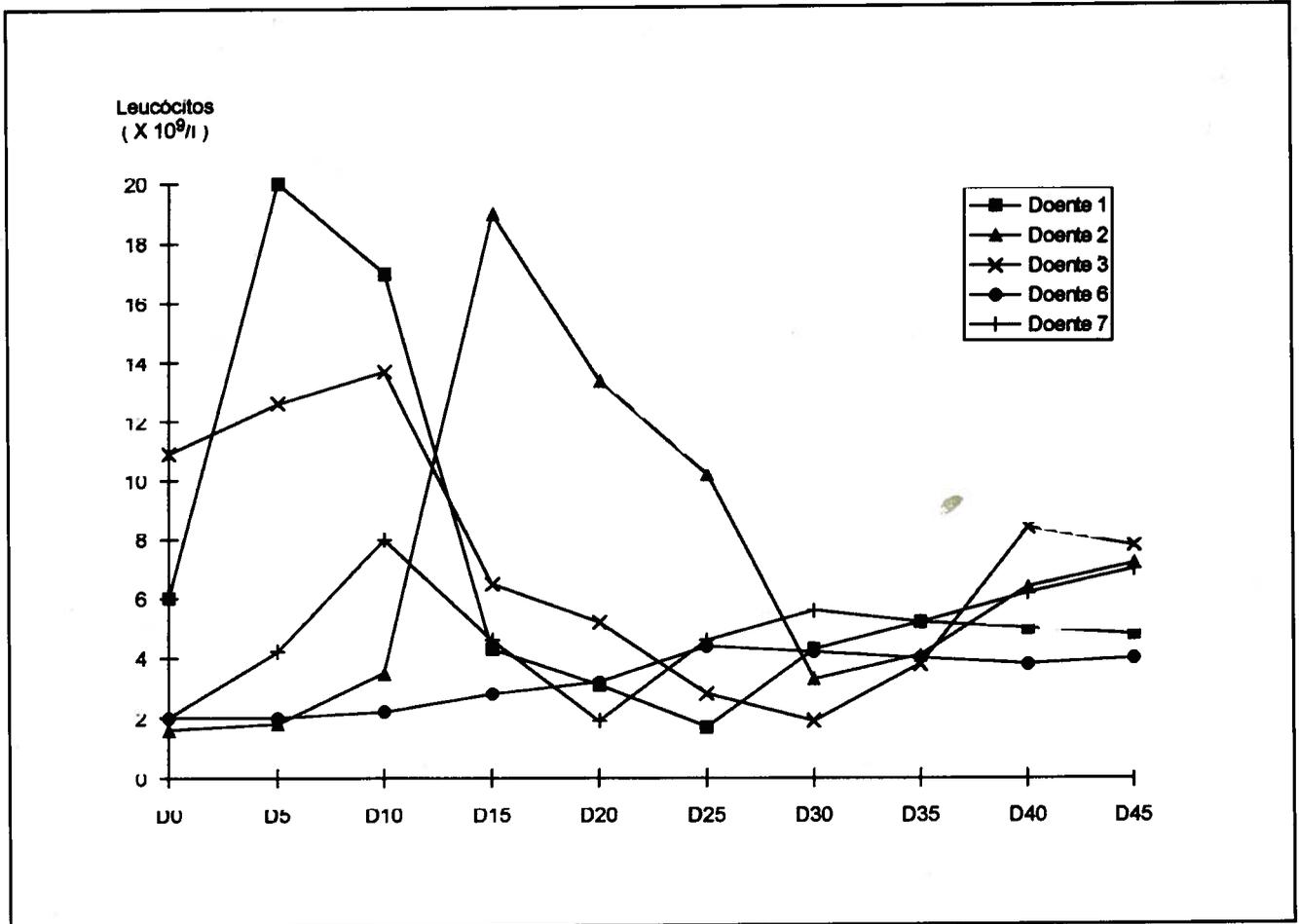


Fig. 1 – Evolução da contagem de leucócitos no sangue periférico nos 5 doentes em que a remissão foi induzida unicamente com ATRA.

com numerosos grânulos azurófilos citoplasmáticos (morfologia M3 da classificação FAB<sup>23</sup>) (Figura 2). Documentou-se em todos os casos maturação das células neoplásicas, não acompanhada de hipoplasia da medula óssea. A partir do dia 7 observou-se uma diminuição progressiva do volume celular, com redução do índice núcleo/citoplasma, e o desaparecimento das granulações azurófilas citoplasmáticas características dos promielócitos. Estes adquiriram progressivamente morfologia típica de formas mais maduras da linhagem mielóide (Figura 3). Por vezes, identificaram-se corpos de Auer em células com estas características, o que comprova a sua origem nos promielócitos leucêmicos (Figura 4). Paralelamente, progenitores normais dos três tipos de células sanguíneas emergiram e repovoaram a medula óssea. Os doentes 4, 5 e 8 apresentavam sinais morfológicos inequívocos de diferenciação do clone neoplásico quando do início da terapêutica citotóxica com IDAC.

**Estudos de Imunofenotipagem** – Sempre que possível foi realizado o estudo seriado da expressão de CD13, CD16 e CD33 em células mononucleadas da medula óssea. Nos 4 doentes estudados (doentes 4, 5, 6 e 7) verificou-se um aumento progressivo da expressão de CD16, com início na segunda amostra de medula óssea estudada (dia 7 de terapêutica com ATRA), em células que ainda

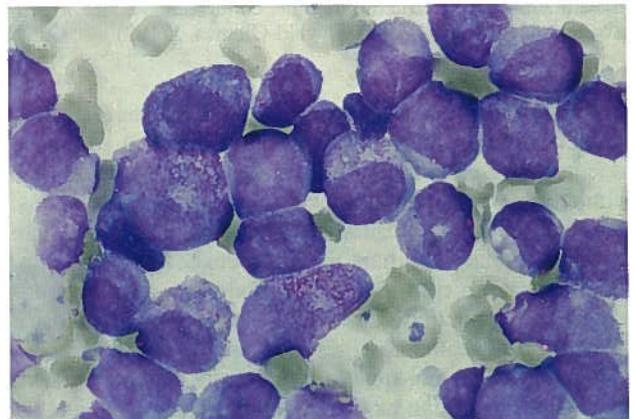


Fig. 2 – Esfregaço de medula óssea do doente 1 antes do início da terapêutica com ATRA. Observa-se infiltração por promielócitos com distorções e numerosos grânulos azurófilos citoplasmáticos (May-Grünwald-Giemsa, X 100).

exprimiam CD33. Entre a segunda e a terceira semanas de tratamento verificou-se uma diminuição progressiva da percentagem de células CD33 positivas, concomitantemente com o aumento da expressão de CD16, o que comprova a progressiva diferenciação celular<sup>19</sup>.

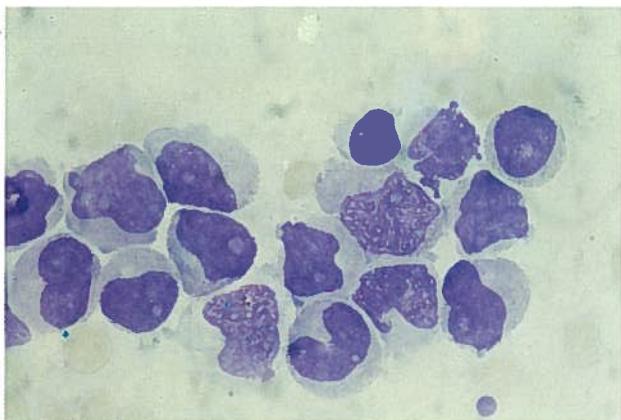


Fig. 3 – Esfregaço de medula óssea do mesmo doente após 14 dias de terapêutica com ATRA. O citoplasma dos promielócitos atípicos apresenta-se desgranulado. Mantêm-se as dismorfias nucleares (May-Grünwald-Giemsa, X 100).

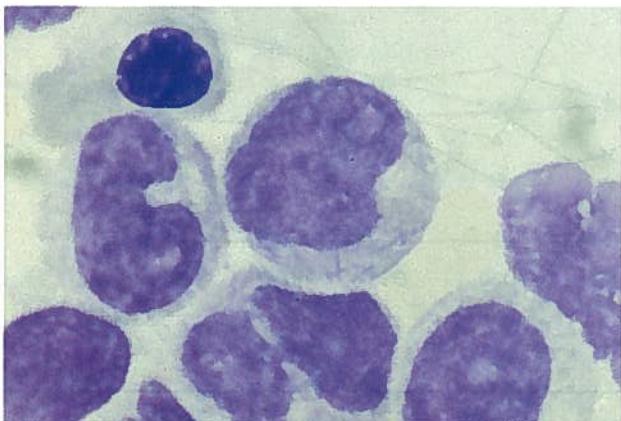


Fig. 4 – Por vezes, identificam-se corpos de Auer em células mais maduras da linhagem mielóide, confirmando a sua origem no clone leucémico (May-Grünwald-Giemsa, X 100).

**Efeitos Adversos** – À semelhança da maioria dos doentes tratados com derivados da vitamina A, todos os doentes apresentaram um grau variável de secura da pele e mucosas e requereram aplicação de cremes hidratantes. Dos 8 doentes, 4 referiram cefaleias holocranianas, não acompanhadas de sinais de hipertensão intracraniana, que regrediram com terapêutica analgésica. Num segundo curso terapêutico com ATRA por segunda recaída, a doente 2 apresentou ao vigésimo segundo dia de terapêutica com ATRA um quadro clínico que se caracterizava por febre, congestão nasal e vômitos. O exame objectivo revelou discreta parésia do membro superior direito. Não havia outra evidência de hipertensão intra-craniana. A doente foi internada e a terapêutica com ATRA descontinuada por suspeita clínica de *pseudotumor cerebri*. A tomografia axial computadorizada crânio-encefálica, realizada na altura do internamento, e a ressonância magnética nuclear, realizada 48 horas mais tarde, foram normais.

Todos os doentes apresentaram elevação moderada das transaminases hepáticas e alterações do perfil lipídico, nomeadamente hipertrigliceridémia e hipercolesterolemia (2 a 3 vezes o normal), que normalizaram após o término

da terapêutica. Conforme referido, os doentes 4 e 5 desenvolveram hiperleucocitose assintomática, tendo sido suspensa a administração de ATRA e iniciada terapêutica citotóxica. O doente 5, após um curso de IDAC que decorreu sem complicações, desenvolveu processos trombóticos do tronco braquio-cefálico direito e dos membros esquerdos, acompanhados de aumento do fibrinogénio e da alfa-2 antiplasmina séricos, que regrediram após terapêutica com heparina, conforme descrito em pormenor em outra publicação<sup>29</sup>. O doente 8 apresentou hiperleucocitose acompanhada de dificuldade respiratória, tendo iniciado IDAC após 9 dias de terapêutica com ATRA. Faleceu duas semanas mais tarde por agravamento do quadro clínico.

**Seguimento dos Doentes** – Após a terapêutica com ATRA, 7 dos 8 doentes receberam poliquimioterapia citotóxica de consolidação. O doente 1 recebeu um ciclo de IDAC e recusou quimioterapia posterior; recaiu 6 meses após a indução de remissão com ATRA e faleceu por sepsis. A doente 2 recusou qualquer terapêutica após a obtenção de RC com ATRA e recaiu 6 meses mais tarde. Por recusar inicialmente terapêutica citotóxica foi reiniciada ATRA na mesma dose diária e induzida resposta parcial (número de mieloblastos e promielócitos diminuiu de 80% para 40% da celularidade total da medula óssea após três semanas de tratamento), sendo posteriormente induzida RC com IDAC. Recebeu como terapêutica de consolidação 1 ciclo de IDAC e 1 ciclo de NOVE, e encontra-se em RC há 9 meses. Os doentes 3, 4, 5 e 7 receberam como terapêutica de consolidação 2 ou mais ciclos de quimioterapia de alta dose, e a doente 6 faz terapêutica de manutenção com IDAC em baixa dose em regime de ambulatório. Estes 5 doentes mantêm RC com um seguimento mediano de 12 meses (extremos 9 - 16 meses).

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com ATRA no nosso grupo de doentes são coincidentes com os de outros investigadores, confirmando o papel deste agente na estratégia terapêutica em doentes com LPM. A taxa de indução de RC em doentes com LPM *de novo* e em primeira recaída tratados com ATRA, utilizado isoladamente ou seguido de quimioterapia citotóxica, varia entre 85% e 100%<sup>5,13,14,19-22</sup>. Na nossa Unidade obteve-se RC em 7 dos 8 doentes tratados, em 5 deles unicamente com ATRA.

Verificou-se em todos os casos uma diferenciação progressiva das células leucémicas, demonstrada por estudos morfológicos e imunofenotípicos, não acompanhada por hipoplasia da medula óssea. Por não dispormos de técnicas de hibridização *in situ* não nos foi possível demonstrar a presença da t(15;17) em células maduras da série mielóide. No entanto, a presença de corpos de Auer em metamielócitos e segmentados (Figura 4) confirma a origem destas células no clone celular neoplásico.

Nos doentes com alteração das provas de coagulação, a correcção das mesmas e o aumento do número de leucócitos no sangue periférico constituíram os primeiros sinais de resposta à terapêutica, geralmente durante a primeira

semana de tratamento. Foi também notório o escasso suporte transfusional que este grupo de doentes requereu.

O aparecimento de leucocitose no decurso da administração de ATRA foi frequente, em regra durante a segunda semana de terapêutica. Os 3 doentes que desenvolveram hiperleucocitose haviam iniciado ATRA com leucopenia significativa, permitindo inferir que o número inicial de leucócitos no sangue periférico não é predictivo do tipo resposta ao ATRA. Dos 5 doentes em que a remissão foi induzida apenas com ATRA, 4 apresentaram leucopenia tardia (na terceira e quarta semanas de tratamento), em 3 casos inferior a  $2.0 \times 10^9/l$ . Este facto parece corresponder a uma fase em que o clone leucémico se torna senescente após diferenciação e a mielopoiese policlonal ainda é incipiente, surgindo por isso um período de leucopenia transitória, geralmente não complicado por infecções oportunistas.

Um dado até agora não descrito e por nós observado em todos os doentes é o aumento da desidrogenase láctica sérica. Surge coincidentemente com o pico da leucocitose induzida pelo ATRA, podendo resultar do aumento do número de leucócitos e sua diferenciação, situações que poderiam condicionar fenómenos de lise celular activa.

O número de dias de febre foi inferior ao habitualmente observado em terapêutica de indução de leucemias agudas.<sup>28</sup> Contudo, o número de dias de antibioterapia mantêve-se elevado dado que a suspensão dos agentes anti-bacterianos e anti-fúngicos ocorreu somente quando a contagem de neutrófilos no sangue periférico excedeu os  $0.5 \times 10^9/l$ . Realizaram-se culturas microbianas em todos os doentes sem ter sido isolado qualquer agente bacteriano ou fúngico, sugerindo que a origem da hipertermia estaria na actividade do processo neoplásico.

O ATRA parece ter papel relevante na indução de remissão e/ou na redução das complicações hemorrágicas da LPM, com consequente redução da mortalidade inicial. No entanto, a maioria dos doentes submetidos a terapêutica de manutenção com ATRA adquire rapidamente resistência a este derivado da vitamina A e recaí precocemente<sup>27,30</sup>. De facto, a análise do ARNm transcrito do gene PML/RAR- $\alpha$  pela técnica de amplificação de cadeias (*polymerase chain reaction*) é positiva na totalidade dos doentes em que a RC é induzida unicamente com ATRA. Após 2 a 3 ciclos de quimioterapia citotóxica a pesquisa do ARNm anormal é geralmente negativa, obtendo-se RC também a nível molecular<sup>27</sup>. Por este motivo, a maioria dos doentes recebeu quimioterapia citotóxica de consolidação. Embora seja necessário um número superior de doentes e um maior distanciamento temporal, os nossos resultados preliminares são coincidentes com a experiência internacional<sup>13,14,19-22</sup>, indicando que os doentes submetidos a quimioterapia de consolidação têm remissões mais longas. A resposta parcial obtida no segundo curso terapêutico na doente 2 foi inesperada dado que a maioria dos doentes com LPM adquirem resistência ao fármaco, mesmo quando administrado em doses superiores às do tratamento inicial<sup>30</sup>. A doente por nós tratada recebeu um primeiro curso terapêutico de 38 dias, podendo não ter desenvolvido resistência completa ao ATRA. No entanto, apresentou sinais sugestivos de toxicidade do sistema nervoso central. É bem sabido

que a dose máxima de ATRA tolerada pelos doentes jovens é significativamente inferior aquela tolerada pelos doentes adultos<sup>31,32</sup>. Por motivos não totalmente claros, a prevalência de toxicidade do sistema nervoso central é particularmente elevada neste grupo etário<sup>5,33,34</sup>. Está hoje claramente demonstrado que uma dose diária de ATRA de  $25 \text{ mg/m}^2$  é adequada para a indução de RC de doentes com LPM, e que a farmacocinética do ATRA é idêntica aquela observada com a dose clássica de  $45 \text{ mg/m}^2/\text{dia}$ <sup>35</sup>. Está por esclarecer se a toxicidade do sistema nervoso central, em particular nos doentes pediátricos, é menor do que a observada com  $45 \text{ mg/m}^2/\text{dia}$ . Neste grupo etário será prudente administrar uma dose inferior à habitualmente utilizada em doentes adultos até que novos estudos de dose-resposta sejam conduzidos.

A doente 6 tinha LED com insuficiência renal terminal em programa de hemodiálise que necessitava de 3 sessões semanais. Curiosamente, 5 meses antes de nos ter sido referenciada por anemia e leucopenia acentuadas e trombocitopenia marginal referira episódios de equimoses dispersas e anemia marcada coincidentes com o agravamento da insuficiência renal e o início da terapêutica de hemodiálise. As pesquisas de anticorpos anti-plaquetários e anti-leucocitários foram persistentemente negativas. Quando foi por nós observada a anemia corrigira parcialmente mas, infelizmente, não nos foram facultados os resultados da contagem de plaquetas e do estudo da coagulação referentes a esse período. Provavelmente, o excesso de vitamina A observado nos doentes insuficientes renais<sup>25</sup> permitiu uma estabilização da leucemia e a indução de resposta parcial antes do início da terapêutica com ATRA. Esta hipótese explica o facto de, na altura do diagnóstico, a infiltração da medula óssea por mieloblastos e promielócitos atípicos ser inferior a 50% da celularidade total, e de existirem promielócitos com dismorfias e claros sinais morfológicos de diferenciação que exprimiam CD16 na sua superfície. A dose utilizada de  $25 \text{ mg/m}^2/\text{dia}$ , tal como sugerido por Castaigne *et al*<sup>35</sup>, foi suficiente para obtenção de RC.

O único doente que faleceu durante a indução de remissão tinha vários factores de mau prognóstico: idade avançada, história pregressa de doença pulmonar crónica obstrutiva e coagulopatia em actividade. Desenvolveu hiperleucocitose e um quadro clínico que se caracterizava por febre, dificuldade respiratória e infiltrados pulmonares intersticiais bilaterais. A existência de uma síndrome de dificuldade respiratória associada à terapêutica com ATRA está bem descrita e parece dever-se à libertação de citocinas pelo clone neoplásico em diferenciação<sup>26</sup>. Surge com mais frequência nas formas hiperclulares e pode ser controlada com a administração precoce de corticosteróides<sup>26</sup>. O doente por nós tratado, apesar da administração precoce de dexametasona, teve rápida progressão do quadro clínico, complicado por pneumopatia de etiologia infecciosa.

## CONCLUSÃO

Os resultados terapêuticos com ATRA obtidos neste grupo de doentes com LPM são positivos e provavelmente superiores aos que verificaríamos com a utilização isolada de terapêutica citotóxica convencional. É necessário um

número superior de doentes e um maior distanciamento temporal para uma apreciação correcta do verdadeiro potencial terapêutico deste fármaco. As reacções adversas mais frequentes são relativamente benignas e facilmente controláveis (secura da pele e mucosas, alterações no perfil lipídico e das provas de função hepática). No entanto, o aparecimento de complicações graves associadas à terapêutica com ATRA como as síndromes de dificuldade respiratória<sup>26</sup> e hipertensão intracraniana<sup>36</sup> (acompanhada ou não de hiperleucocitose), choque por histaminemia<sup>37</sup> e fenómenos trombóticos<sup>29,38</sup> estão hoje bem documentados. Por este motivo, o entusiasmo com a utilização deste composto deve ser moderado e os doentes deverão continuar a ser referenciados para centros hematológicos especializados com experiência neste campo.

## AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao corpo de enfermagem da Unidade de Hematologia do Hospital de Santa Maria pelo cuidado diligente dos doentes.

*NOTA - O seguimento dos doentes encontra-se actualizado à data de apresentação da versão revista do manuscrito (Maio de 1994).*

## BIBLIOGRAFIA

- BERNARD J, WEIL M, BOIRON M, JACQUILLAT C, FLANDRIN G, GEMON MF. Acute promyelocytic leukemia: Results of treatment by daunorubicin. *Blood* 1973; 41: 489-96.
- MARTY M, GANEM G, FISCHER J, et al. Leucémie aigue promyelocyttaire: Étude retrospective de 119 malades traités par daunorubicine. *Nouv Rev Fr Hematol* 1984; 26: 371-8.
- KARTARJIAN H, KEATING M, WALTERS R. Acute promyelocytic leukemia. MD Anderson Hospital Experience. *Am J Med* 1986; 80: 789-97.
- CUNNINGHAM I, GEE TS, REICH LM, KEMPIN SJ, NAVAL AN, CLARKSON BD. Acute promyelocytic leukemia: Treatment results during a decade at Memorial Hospital. *Blood* 1989; 73: 1116-22.
- WARRELL RP JR, DE THÉ H, WANG Z-Y, DEGOS L. Acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med* 1993; 329: 177-89.
- GRALNICK HR, SULTAN C. Acute promyelocytic leukaemia: Haemorrhagic manifestation and morphologic criteria. *Br J Haematol* 1975; 29: 373-6.
- TALLMAN MS, KWAAN HC. Reassessing the hemostatic disorder associated with acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1992; 79: 543-53.
- GRALNICK HR, ABRELL E. Studies of the procoagulant and fibrinolytic activity of promyelocytes in acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1973; 24: 89-99.
- BAUER KA, ROSENBERG RD. Thrombin generation in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1984; 64: 791-6.
- AVVISATI G, TEN CATE JW, STURK A, LAMPING R, PETTI MC, MANDELLI F. Acquired alpha 2-antiplasmin deficiency in acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1988; 70: 43-8.
- GOLOMB HM, ROWLEY JD, VARDIMAN J, BARON J, LOCKER G, KRASNOW S. Partial deletion of long arm of chromosome 17. A specific abnormality in acute promyelocytic leukemia? *Arch Intern Med* 1976; 136: 825-8.
- LARSON RA, KONDO K, VARDIMAN JW, BUTLER AE, GOLOMB HM, ROWLEY JD. Evidence for a 15:17 translocation in every patient with acute promyelocytic leukemia. *Am J Med* 1984; 76: 827-41.
- HUANG ME, YE YC, CHAI JR, et al. Use of all-trans-retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1988; 72: 567-72.
- CASTAIGNE S, CHOMIENNE C, DANIEL MT, et al. All-trans-retinoic acid as a differentiation therapy for acute promyelocytic leukemia. I. Clinical results. *Blood* 1990; 76: 1704-9.
- DE THÉ H, CHOMIENNE C, LANOTTE M, DEGOS L, DEJEAN A. The t (15;17) translocation of acute promyelocytic leukemia fuses the retinoic acid receptor  $\alpha$  gene to a new novel transcribed locus. *Nature* 1990; 347: 558-61.
- MILLER WH JR, WARREL RP JR, FRANKEL SR, et al. Novel retinoic acid receptor-alpha transcripts in acute promyelocytic leukemia responsive to all-trans-retinoic acid. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1932-3.
- KAKIZUKA A, MILLER WR JR, UMESONO K, et al. Chromosomal translocation t (15:17) in human acute promyelocytic leukemia fuses RAR- $\alpha$  with a novel putative transcription factor, PML. *Cell* 1991; 66: 663-74.
- DE THÉ H, LAVAU C, MARCHIO A, CHOMIENNE C, DEGOS L, DEJEAN A. The PML-RAR- $\alpha$  fusion mRNA generated by the t (15:17) translocation in acute promyelocytic leukemia encodes a functionally altered RAR. *Cell* 1991; 66: 675-84.
- WARREL RP JR, FRANKEL SR, MILLER WR JR, et al. Differentiation therapy of acute promyelocytic leukemia with tretinoin (All-trans-retinoic acid). *N Engl J Med* 1991; 324: 1385-93.
- CHEN ZX, XUE YQ, ZHANG R, et al. A clinical and experimental study on all-trans-retinoic acid treated acute promyelocytic leukemia patients. *Blood* 1991; 78: 1413-9.
- FENAUX P, CASTAIGNE S, DOMBRET H, et al. All-trans-retinoic acid followed by intensive chemotherapy gives a high complete remission rate and may prolong remissions in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia patients: a pilot study on 26 cases. *Blood* 1992; 80: 2176-81.
- WARREL RP JR, FRANKEL SR, MILLER WR JR, EARDLEY A, DMITROVSKY E. All-trans retinoic acid (RA) for remission induction of acute promyelocytic leukemia (APL): results of the New York study. *Blood* 1992; 80 (Suppl 1): 360a.
- BENNETT JM, CATOWSKY D, DANIEL M-T, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British Co-operative Group. *Br J Haematol* 1976; 33: 451-8.
- BENNETT JM, CATOWSKY D, DANIEL M-T, et al. A variant for (of) hypergranular promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1980; 44: 169-70.
- MARONI BJ, MITCH WE. Nutritional therapy in renal failure. In: Seldin DW e Giebisch G, eds. *The Kidney. Physiology and Pathophysiology*. New York: Raven Press, 1992: 3471-3502.
- FRANKEL SR, EARDLEY A, LAUWERS G, WEISS M, WARREL RP JR. The retinoic acid syndrome in acute promyelocytic leukemia. *Ann Intern Med* 1992; 117: 292-6.
- WARREL RP JR. All-trans retinoic acid. *Proceedings do curso Medical oncology: the cutting edge*; 1992, 22-24 Outubro; Nova Iorque: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center - Cornell University Medical College: 141-3.
- BODEY GP, BUCKLEY M, SATHE YS, FREIREICH EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infections in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966; 64: 328-40.
- LACERDA JF, CARMO JA, GUERRA ML, GERALDES J, LACERDA JMF. Multiple thrombosis in acute promyelocytic leukaemia after tretinoin. *Lancet* 1993; 342: 114-5.
- MIUNDI J, FRANKEL SR, MILLER WR JR, et al. Continuous treatment with all-trans-retinoic acid causes a progressive reduction in plasma drug concentrations: implications for relapse and retinoid resistance in patients with acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1992; 79: 299-303. [Errata, *Blood* 1992; 80: 855.]
- SMITH MA, ADAMSON PC, BALIS FM, et al. Phase I and pharmacokinetic evaluation of all-trans-retinoic acid in pediatric patients with cancer. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1666-73.
- KURZROCH R, ESTEY E, TALPAZ M. All-trans retinoic acid: tolerance and biologic effects in myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1489-95.
- MAHMOUD HH, HURWITZ CA, ROBERTS WM, SANTANA VM, RIBEIRO RC, KRANCE RA. Tretinoin toxicity in children with acute promyelocytic leukaemia. *Lancet* 1993; 342: 1394-5.
- LACERDA JF. Toxicity of tretinoin in acute promyelocytic leukaemia. *Lancet* 1994; 343: 360-1.
- CASTAIGNE S, LEFEBVRE PH, RIGAL-HUGUET, et al. Lower all-trans retinoic acid (ATRA 25 mg/m<sup>2</sup>/day) are effective in acute promyelocytic leukemia (APL). *Blood* 1992; 80 (Suppl 1): 360a.
- WARREL RP JR. Promising new drugs: all-trans retinoic acid. *Proceedings of the 28th annual meeting of the American Society of Clinical Oncology*. Maio 17-19, 1992; San Diego: 107-12.
- KOIK T, TATEWAKI W, AOKI A, et al. Brief report: severe symptoms of hyperhistaminemia after the treatment of acute promyelocytic leukemia with tretinoin (all-trans-retinoic acid). *New Engl J Med* 1992; 327: 385-7.
- RUNDE V, AUL C, HEYLL A, SCHNEIDER W. All-trans-retinoic acid: not only a differentiating agent, but also an inducer of thrombo-embolic events in patients with M3 leukemia. *Blood* 1992; 79: 534-5.