

COORDENAÇÃO DE ENSINO



HEMATOLOGIA

TAMARA RABELLO DE ABREU

**A SIGNIFICÂNCIA BIOLÓGICA E O USO DOS FATORES PROGNÓSTICOS
CLÍNICOS E GENÉTICOS NAS LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS EM ADULTOS**

Rio de Janeiro

2018

TAMARA RABELLO DE ABREU

**A SIGNIFICÂNCIA BIOLÓGICA E DOS FATORES PROGNÓSTICOS CLÍNICOS E
GENÉTICOS NAS LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS EM ADULTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva como requisito parcial para a conclusão do Programa de Residência de Hematologia.

Orientador: Dr. Alexandre Apa

Rio de Janeiro

2018

TAMARA RABELLO DE ABREU

**A SIGNIFICÂNCIA BIOLÓGICA E O USO DOS FATORES PROGNÓSTICOS
CLÍNICOS E GENÉTICOS NAS LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS EM ADULTOS**

Avaliado e Aprovado por:

Dr. Alexandre Apa

Ass. _____

Dr. Alexandra Apa

Ass. _____

Rio de Janeiro, 26/12/2018

Rio de Janeiro

2018

Dedico à minha mãe, Cleide Rabello de Abreu, uma mulher forte que sempre lutou pelo que acreditava, nos ensinou que sonho a gente persegue e foi parte ativa dessa intensa trajetória. Porém, veio a falecer na conclusão deste sonho, deixando marcas profundas que impossibilitaram a continuação e entrega deste projeto no seu tempo ideal. Hoje, ele foi possível graças ao amor de pessoas que me acolheram, se dedicaram e remendaram meu coração. Papai, Carlos, obrigada pelo amor incondicional e também por ser o maior protetor e amor da minha vida. Te amo infinitamente. A todos vocês, minha incrível chefia, Dra. Jane Doblin, Dra. Kadma Carrico, Dra. Ingrid Arcuri, Dr. Alexandre Apa, e não menos importante, Giulliana Moralez, meu sincero e mais doce, obrigada.

*“Loving can heal,
Loving can mend your soul.”*

RESUMO

DE ABREU, Rabello Tamara. **A significância biológica dos fatores prognósticos clínicos e genéticos nas Leucemias Mieloides Agudas em adultos**. Monografia – INCA. Rio de Janeiro, 2018.

Leucemias são um grupo de doenças caracterizadas pelo acúmulo de leucócitos malignos na medula óssea. Também pode ser diagnosticada pela identificação de alterações genéticas associadas a doença ou pela presença do sarcoma granulocítico – representação sólida do tumor líquido. São classificadas em quatro tipos, agudas e crônicas e, por sua vez, subtipos, mieloide e linfoide. Leucemias em geral são doenças agressivas e a transformação maligna acontece em células tronco da hematopoiese ou em precursores primitivos. Acredita-se que o dano genético envolva vários danos bioquímicos básicos, resultando em aumento da velocidade de produção de células doentes, diminuição da apoptose, e bloqueio na diferenciação. Juntos, esses eventos causam acúmulo de células doentes, apenas blastos. Esse evento leva à insuficiência medular e também infiltração tecidual. Se não forem devidamente estratificadas e tratadas, são, via de regra, rapidamente fatais. A proposta desta apresentação é destacar fatores os prognósticos importantes para o desfecho da Leucemia Mieloide Aguda (LMA) que é a forma comum de leucemias em adultos e a sua incidência aumenta com a idade, com mediana aos 65 anos. Constitui uma fração pequena (10 a 15%) das leucemias da infância. As anomalias citogenéticas e a resposta ao tratamento inicial têm grande influência no prognóstico e na melhor escolha terapêutica individualizada.

Palavras-chave: Leucemia Mieloide Aguda. Fatores prognósticos. Síndrome Mielodisplasia.

ABSTRACT

DE ABREU, Rabello Tamara. **The biological significance of clinical and genetic prognostic factors in acute myeloid leukemias in adults**. Monografia - INCA. Rio de Janeiro, 2018.

Leukemias are a group of diseases characterized by accumulation of malignant leukocytes in the bone marrow. It can also be diagnosed by the identification of genetic changes associated with the disease, or by the presence of granulocytic sarcoma - solid representation of the liquid tumor. They are classified into four types; acute and chronic and in turn subtypes, myeloid and lymphoid. Leukemias are usually aggressive diseases and malignant transformation occurs in hematopoiesis stem cells or in primitive precursors. The genetic damage is believed to involve a number of basic biochemical damage resulting in increased production rate of diseased cells, decreased apoptosis, and blockade in differentiation. Together, these events cause accumulation of diseased cells, call blast cells. This event leads to bone marrow insufficiency, and also tissue infiltration. If they have not been properly stratified and treated, they are, as a rule, rapidly fatal. The purpose of this presentation is to highlight important prognostic factors for the outcome of Acute Myeloid Leukemia (AML), which is the common form of leukemia in adults and its incidence increases with age, in the median age at 65 years. It consisted of a small fraction (10-15%) of childhood leukemias. Cytogenetic anomalies and response to initial treatment have great influence on the prognosis, and the best individualized therapeutic choice.

Keywords: Acute Myeloid Leukemia. Prognostic Factors. Myelodisplasia Syndrome.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Evolução temporal dos biomarcadores	12
Figura 2: Incidência dos subtipos de LMA	14
Figura 3: Frequência das mutações nas LMA por estratificação citogenética (a) LMA de baixo risco (b) LMA de risco intermediário (c) LMA de alto risco.....	25

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Classificação da FAB.....	11
Quadro 2: O desenvolvimento das 3 linhagens celulares, a partir das células tronco pluripotentes, dando origem as 3 subclasses imunológicas da leucemia aguda.....	15
Quadro 3: Classificação dos Neoplasmas Mieloides	17
Quadro 4: Escala de <i>performance status</i> ECOG.....	20
Quadro 5: ECOG X KPS.....	21
Quadro 6: HCT-CI,	22
Quadro 7: Outros fatores Prognósticos	23

LISTA DE ABREVIATURAS

ASCL1:	Sex comb-like 1
ATRA:	Ácido tranretinoico
CBF:	Core Binding Factor
DNMT3A:	Metiltransferase 3 A
DRM:	Doença Residual Mínima
ECOG:	Eastern Cooperative Oncology Group
FLT3:	FMS-like tirosina kinase 3
HCT-CI:	Hematologic Cell Transplantation Comorbidity Index
HOVON:	Dutch – Belgian Hemato-Oncology Cooperative Group
IDH1/2:	Isocitrato desidrogenase ½
ITD:	Internal tandem duplications
KPS:	Karnofsky Performance Status
LLA:	Leucemia Linfóide Aguda
LMA:	Leucemia Mieloide Aguda
LMC:	Leucemia Mieloide Crônica
LMMC:	Leucemia Mielomonocítica Crônica
LMMJ:	Leucemia Mielomonocítica Juvenil
LNC:	Leucemia Neutrófila Crônica
MFP:	Mielofibrose Primária
MLL:	Gene da Leucemia de Linhagem Mista
NPM1:	Nucleofosfina 1
OPN:	Osteopontina
PCR-RT:	Transcrição reversa da cadeia da polimerase em tempo real
PV:	Policitemia Vera
SMD:	Síndrome Mielodisplásica
TAMO:	Transplante Alogênico de Medula
TE:	Trombocitemia Essencial
TET2:	Metilcitosina Dioxigenase 2
WHO:	World Health Organization
WT1:	Gene do tumor de Wilms

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 JUSTIFICATIVA	13
3 DISCUSSÃO	14
4 CLASSIFICAÇÃO	17
5 FATORES PROGNÓSTICOS	19
5.1 FATORES RELACIONADOS AO PACIENTE	19
5.1.1 Idade-.....	19
5.1.2 Performance status	20
5.1.3 Avaliação geriátrica.....	21
5.1.4 Alterações laboratoriais.....	24
5.2 FATORES DE RISCO RELACIONADOS A LEUCEMIA	24
5.2.1 Citogenética.....	24
5.2.2 Mutações biomoleculares.....	25
5.2.2.1 <i>KIT</i>	25
5.2.2.2 <i>FLT3</i>	26
5.2.2.3 <i>NPM1 mutado</i>	26
5.2.2.4 <i>CEBPA</i>	27
5.2.2.5 <i>Em leucemias secundárias</i>	27
5.3 NOVOS BIOMARCADORES.....	28
5.3.1 <i>DNMT3A</i>	28
5.3.2 <i>TET2</i>	28
5.3.3 <i>IDH1/2</i>	29
5.3.4 <i>WT1</i>	30
5.3.5 <i>RUNX1</i>	30
5.3.6 <i>MLL – Partial Tandem Duplication (PTD)</i>	31
5.3.7 <i>ASXL1</i>	31
5.3.8 <i>TP53</i>	31
5.3.9 <i>KRAS</i>	33
5.3.10 Fenótipo de célula tronco	33
5.3.11 Microambiente	34
5.3.12 Assinatura genética	34
5.3.13 Epigenética	35

5.4 RESPOSTA PRECOCE AO TRATAMENTO	36
5.4.1 Redução de blastos no sangue periférico	36
5.4.2 Recuperação linfocitária	36
5.4.3 Doença Residual Mínima (DRM) por citometria de fluxo	36
5.4.4 DRM por PCR	37
5.4.5 Leucemias CBF	38
6 ESCOLHA DO MANEJO CLÍNICO	39
6.1 TERAPIA INICIAL EM PACIENTES IDOSOS COM LMA	39
6.2 TERAPIA PALIATIVA EM PACIENTES NÃO ELEGÍVEIS AO TRATAMENTO INTENSIVO	40
6.3 FATORES PREDITIVOS PARA CONSIDERAÇÕES ESPECIAIS NO TRATAMENTO.....	40
6.4 TERAPIA PÓS-REMISSÃO EM PACIENTES EM REMISSÃO COMPLETA APÓS INDUÇÃO.....	40
6.5 TERAPIA INDIVIDUALIZADA: PROBLEMÁTICAS	41
7 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

As leucemias mieloides agudas (LMA) são um grupo de doenças heterogêneas, que acometem a medula óssea, região onde as células sanguíneas são produzidas. Essas células sofrem um dano em seu DNA que as leva ao desenvolvimento anormal, tornando-se células malignas que não cumprem mais a função de defesa do organismo, acumulando-se na medula óssea e comprometendo a produção de outras séries, como os eritrócitos e as plaquetas. Dessa forma, seu quadro clínico pode vir apresentado através de infecções, anemia e sangramento. Afeta comumente os adultos. De acordo com Portaria do Ministério da Saúde de 2014 essa incidência ajustada para idade é de 3,6% casos para cada cem mil habitantes, com idade mediana ao diagnóstico de 66 anos (SJER et al., 2014).

Por décadas o entendimento da fisiopatologia da doença vem avançando, e com ele a estratificação de risco citogenético, uma das principais bases para nortear o manejo da doença. As estratégias terapêuticas seguem desde a década de 1980, passando pela descoberta da atividade da Citarabina e do esquema “7 +3”, que elevaram a taxa cura para cerca de 30-40% dos adultos jovens com LMA (KANTARJIAN, 2015). Posteriormente, surgiram novas drogas como a Fludarabina, os Antracíclicos, o Gentuzumab e a Ozogamicina, que aumentaram a sobrevida das LMAs.

Na década de 1970, um grupo de especialistas franceses, americanos e britânicos (FAB) dividiram a leucemia em subtipos, M0 a M7, com base no tipo de célula em que a leucemia se envolve e o grau de maturidade das células.

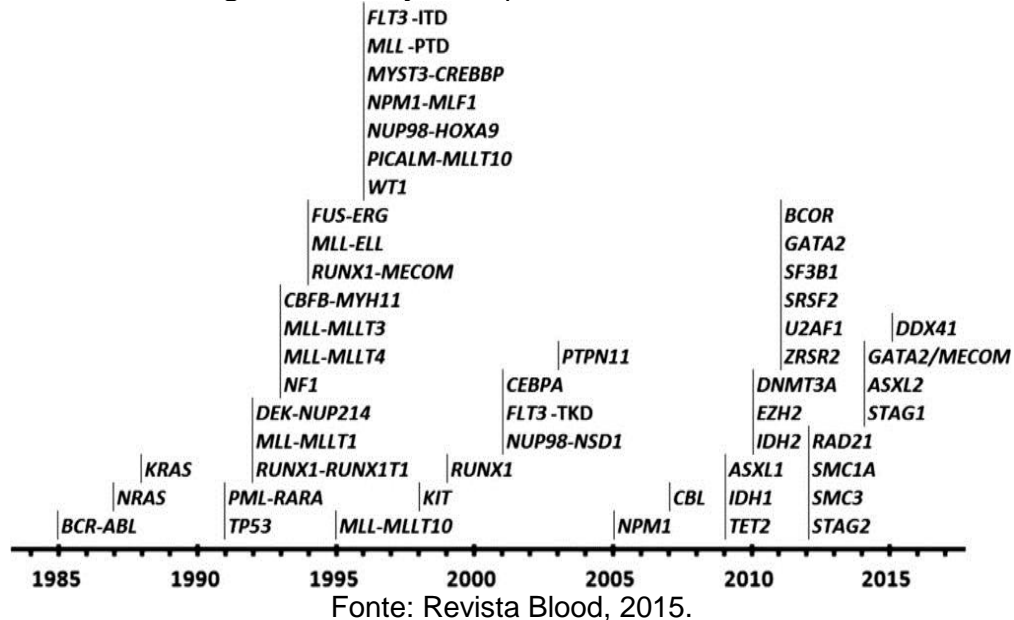
Quadro 1: Classificação da FAB

FAB	Nome
M0	Leucemia Mieloblástica Aguda Indiferenciada
M1	Leucemia Mieloblástica Aguda com Maturação Mínima
M2	Leucemia Mieloblástica Aguda com Maturação
M3	Leucemia Promielocítica Aguda
M4	Leucemia Mielomonocítica Aguda
M4 Eo	Leucemia Mielomonocítica Aguda com Eosinofilia
M5	Leucemia Monocítica Aguda
M6	Leucemia Eritroide Aguda
M7	Leucemia Megacarioblástica Aguda

Fonte: Classificação FAB.

Com a identificação dos marcadores biomoleculares a classificação da FAB deixou de ser a classificação vigente, uma vez que as LMAs apresentam subtipos identificados pelos biomarcadores, que estão diretamente envolvidos no prognóstico.

Figura 1: Evolução temporal dos biomarcadores



Muitos pacientes com classificação de risco intermediário ou baixo morrem na terapia de indução, são maus respondedores, ou apresentam recaída precoce ou tardia. Hoje sabemos que o maior fator de risco relacionado à doença é o citogenético, porém existem outros fatores prognósticos independentes que conferem maior mortalidade, diminuição da sobrevida global e sobrevida livre de doença.

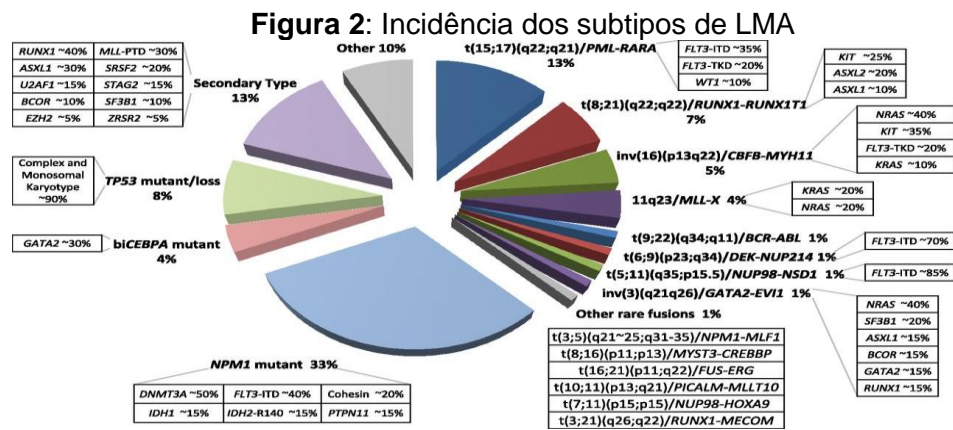
Podemos oferecer uma estratificação mais refinada e individualizada aos nossos pacientes se tomarmos conhecimento sobre quem são esses marcadores, o que cada um deles implica no desfecho e como utilizá-los na nossa rotina e prática clínica para cada grupo identificado de pacientes.

2 JUSTIFICATIVA

Este trabalho consiste em uma revisão bibliográfica, visando levar à discussão os novos marcadores prognósticos clínicos e genéticos, e discorrer sobre os já descritos pela literatura.

3 DISCUSSÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a LMA é definida pela presença de mais de 20% de blastos (WHO) no sangue ou na medula óssea causada pela parada maturativa de blastos, ou pela presença de sarcoma granulocítico. Pode ser, entretanto, diagnosticada com menos de 20% de blastos se houver anormalidades genético-moleculares especificamente associadas à LMA. Adiante segue a exposição genético-molecular com suas devidas incidências para melhor compreensão da apresentação diversa de uma mesma entidade chamada LMA (Figura 2).

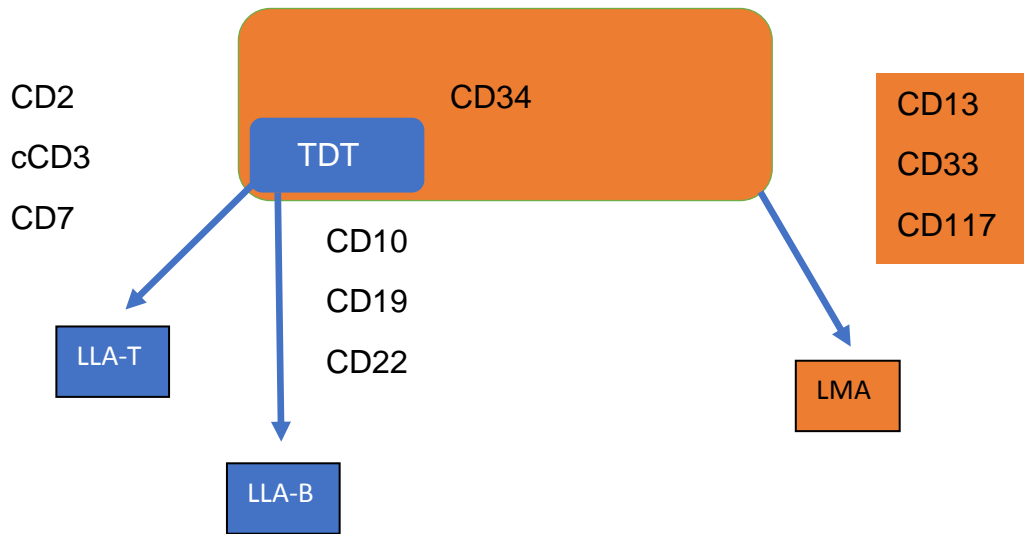


Fonte: Revista Blood, 2015.

As células leucêmicas apresentam marcadores mielóides específicos, incluindo os bastonetes de Auer (grânulos aberrantes), a alteração citoquímica (*Sudan Black*, Mieloperoxidase ou Esterase não específica) e antígenos de superfície específicos. O evento inicial que determina essa proliferação não está completamente elucidado, mas é resultante de uma mutação que ocorre no DNA da célula-tronco hematopoiética, comprometendo toda a linhagem mielóide. O que pode levar a mutações de classe 1, que consistem em vantagem proliferativa, sem parada da maturação, ou a mutações de classe 2, que conferem a célula parada maturativa, com déficit de diferenciação e apoptose.

A linhagem dos blastos é sugerida pela morfologia que apresentam na hematoscopia, confirmada pela imunofenotipagem (citometria de fluxo), pela análise citogenética e molecular.

Quadro 2: O desenvolvimento das 3 linhagens celulares, a partir das células tronco pluripotentes, dando origem às 3 subclasses imunológicas da leucemia aguda



LMA - Diagnóstico

IMUNOFENOTIPAGEM

Receptores	LMA
CD13	+
CD33	+
CD117	+
Glicoforina (M6)	+
CD41	+
Anti-MPO	+

LLA - Diagnóstico

IMUNOFENOTIPAGEM

Receptores	LLA - B	LLA - T
CD19	+	-
cCD22	+	-
cCD79a	+	-
CD19	+ /-	-
cIg	+ (pré-B)	-
SIg	- (pré-B)	-
CD7	-	+
cCD3	-	+
CD2	-	+
TdT	+	+

Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

A indução com tratamento quimioterápico intensivo, seguido de consolidação, e alternativas como o tratamento paliativo, como o uso de agentes hipometilantes,

ensaios clínicos, e tratamento suportivo são as terapias vigentes para pacientes diagnosticados com LMA.

Para os que atingem a remissão completa, uma opção pode ser o Transplante de Medula Óssea Alogênico após um tratamento mieloablativo ou com dose reduzida de condicionamento. Entretanto, para a escolha dessas opções, é extremamente importante a estratificação do risco de forma completa, balanceando as chances de falha e de sucesso terapêutico com estabelecimento de um canal de comunicação aberto com o paciente e seus familiares.

Desde a última classificação das LMA pela OMS em 2016, inúmeros avanços na identificação de biomarcadores prognósticos ganharam notabilidade. A maioria é derivada de estudos de expressão e sequenciamento genético. Essa descoberta tem implicação prática porque compreende a diversidade e estratifica a mesma doença em subgrupos, desenvolvendo-se terapias-alvo poderosas, ou associando-se a novas drogas, com impacto principalmente para os pacientes eleitos mais frágeis.

Enquanto fatores prognósticos traduzem a chance de falha da terapia-padrão, os fatores preditivos positivos demonstram a chance de sucesso de uma terapia mais individualizada. Com base nesses dados, identificando e utilizando como ferramenta os mais diversos fatores de risco, vem à superfície a discussão sobre qual é a melhor abordagem para cada indivíduo, oferecendo um tratamento menos tóxico e mórbido, elevando as taxas de cura e aumento da sobrevida. Os diferentes cursos clínicos que acompanham a doença e seu desenrolar tem sido o foco de interesse de estudos e pesquisas em grandes centros, visando a aumentar a sobrevida de adultos jovens e idosos.

4 CLASSIFICAÇÃO

Como descrito anteriormente, a primeira tentativa para classificar a LMA foi realizada pelo grupo FAB, baseado apenas na porcentagem de blastos, na sua morfologia e no grau de diferenciação da linhagem celular, que variava de FAB M0 a FAB M7. Complementando com estudo realizado inicialmente pela citoquímica e posteriormente pela imunofenotipagem das células imaturas.

Atualmente, a classificação da LMA é de acordo com a OMS e há um foco progressivo nas anormalidades genéticas com a tendência de que todas as LMA sejam classificadas por subtipos genéticos. Comparando a nova classificação da WHO em 2016, não houve grande mudança desde 2008, porém descobertas de novas mutações enriqueceram o entendimento de algumas entidades, com impacto nos critérios prognósticos, diagnósticos (Quadro 3) e terapêuticos.

**Quadro 3: Classificação dos neoplasmas mieloides
Classificação WHO (2016)**

LMA com alterações genéticas recorrentes

- **LMA com t(8;21)(q22;q22), RUNX1- RUNX 1T1 (AML1-ETO)**
- **LMA com inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22);CBDB-MYH11**
- **LMA Promielocítica com PML – RARA**
- LMA com t(9;11)(p23.3;q23.3), MLLT3-KMT2A
- **LMA com t(6;9)(p23;q34.1), DEK-NUP214**
- LMA com t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA. MECOM
- LMA com inv(3) (q21.3;q26.2); GATA. MECOM
- LMA Megacarioblástica com t(1;22) (p13.3;q13.3), RBM15-MKL1
- **Entidade provisória: LMA com BCR-ABL1 + e LMA com mutação RUNX1**
- **LMA com mutação bialélica CEBPA**
- **Entidade provisória: LMA com mutação RUNX1**

LMA relacionada a alterações mielodisplásicas

Neoplasias mieloides associadas à terapia

LMA não especificada classificada morfológicamente

LMA minimamente diferenciada (equivalente a LMA M0 da FAB)

LMA sem maturação (equivalente a LMA M1 da FAB)

LMA com maturação (equivalente a LMA M2 da FAB)
Leucemia Mielomonocítica Aguda (equivalente a LMA M4 da FAB)
Leucemia Monoblástica / Monocítica (equivalente a LMA M5 da FAB)
Leucemia Eritroide Pura (equivalente a LMA M6 da FAB, sendo excluída a antiga M6 mieloide / eritroide)
Leucemia Megacariocítica Aguda (equivalente a LMA M7 da FAB)
Leucemia Basofílica Aguda
Panmielose Aguda com Mielofibrose
Sarcoma mieloide
Proliferação mieloide relacionada à Síndrome de Down
Mielopoiese Anormal Transitória (TAM)
LMA associada à Síndrome de Down
LMA de linhagem ambígua
Leucemia Indiferenciada Aguda
LMA com fenótipo misto (MPAL) com (9;22)(q43.1;q11.2)/ BCR-ABL1
MPAL com t(v/11q23.3); com rearranjo KMT2A
MPAL B/ Mieloide não especificado
MPAL T/ Mieloide não especificado
Leucemia / Linfoma Linfoblástico B não especificado
Leucemia / Linfoma Linfoblástico B com alterações genéticas recorrentes
Leucemia / Linfoma Linfoblástico B com t(9;22)(q34.1;q11.2) BCR-ABL1
Leucemia / Linfoma Linfoblástico B com t(v;11q23.3);rearranjo KMT2A
Leucemia / Linfoma Linfoblástico B com t(12;21)(p13.2;q22.1); ETV6-RUNX1
Leucemia / Linfoma Linfoblástico B com hiperdiploidia
Leucemia / Linfoma Linfoblástico B com hipodiploidia
Leucemia / Linfoma Linfoblástico B com t(5;14)(q31.1;q32.3) IL3-IGH
Leucemia / Linfoma Linfoblástico B com t (1;19)(q23;p13.3);TCF3-PBX1
<i>Entidade provisória: Leucemia / Linfoma Linfoblástico B BCR-ABL! Like</i>
<i>Entidade provisória: Leucemia / Linfoma Linfoblástico B com iAMP2</i>

Fonte: WHO, 2016.

5 FATORES PROGNÓSTICOS

De acordo com a nova classificação da OMS (2016), já podemos identificar fatores prognósticos por anormalidades cromossômicas.

- Anormalidades Favoráveis:
 - Translocação entre os cromossomos 8 e 21
 - Inversão do cromossomo 16
 - Translocação entre os cromossomos 15 e 17
- Anormalidades Desfavoráveis:
 - Deleção de parte do cromossomo 5 ou 7
 - Translocação ou inversão do cromossomo 3
 - Translocação entre os cromossomos 6 e 9
 - Translocação entre os cromossomos 9 e 22
 - Anormalidades do cromossomo 11
 - Cariótipos complexos que envolvem mais de 3 cromossomos
 - Presença de CD34 e/ou P-glicoproteína na superfície celular

5.1 FATORES RELACIONADOS AO PACIENTE

5.1.1 Idade

O risco pode ser determinado por características do paciente, inerentes à própria doença ou por marcadores que se identificam ao longo do tratamento. A idade do paciente no momento do diagnóstico é o fator prognóstico de maior impacto na LMA. A influência da idade acima de 50 anos é evidente para um pior prognóstico em relação a pacientes de 30 anos (CREUTZIG et al., 2008). Muitos fatores contribuem para esse déficit trazido pela idade, como a presença de comorbidades e contraindicações a drogas citotóxicas, a performance status, e a alta incidência de LMA secundária a Mielodisplasia, selecionada por um cariótipo adverso. Entretanto, mesmo que esses fatores não estejam presentes, é importante salientar a idade como fator prognóstico independente, mesmo na ausência dos comemorativos citados.

5.1.2 Performance *status*

Para realizar ensaios clínicos ou propor um tratamento para um paciente de forma consistente é necessário padronização para medir como as doenças prévias afetam as habilidades diárias de um indivíduo. Também conhecido como a *performance status*. A escala de *ECOG* – *Eastern Cooperative Oncology Group* (Quadro 4), é uma dessas medidas que tentam uniformizar o desempenho pessoal. Ela descreve o nível de funcionamento de um paciente, baseado em um *status* de desempenho. Um *ECOG* > 2 demonstra um pior prognóstico independente da idade (JULIUSSON et al., 2009). Logo, a combinação de idade avançada com um *ECOG* alto é extremamente preditor de mortalidade durante o tratamento (APPELBAUM et al., 2006).

Quadro 4: Escala de *performance status ECOG*

Grau	Escala de ECOG
0	Plenamente ativo, sem restrições.
1	Restrição de atividade intensa. Capaz de trabalho leve.
2	Capaz de autocuidados. Incapaz de trabalhar. Menos de 50% do tempo acamado.
3	Capaz de algum autocuidado. Mais de 50% do tempo acamado.
4	Incapacidade total. Cem por cento do tempo acamado
5	Óbito.

Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Outra escala amplamente usada de *status* de desempenho é a de *Karnofsky*, que também avalia a capacidade funcional do paciente. Ambas as escalas estão disponíveis há muitos anos como forma de classificar um paciente de acordo com seu comprometimento funcional, comparar a eficácia das terapias e avaliar prognóstico de um paciente.

O Índice de *Karnofsky* entre 100 a 0, foi introduzido em um livro texto na década de 1930, enquanto o *ECOG* na de 1960. Existem várias maneiras de mapear as duas escalas. O quadro a seguir exhibe uma comparação comumente usada (Quadro 4).

Quadro 5: ECOG X KPS

ECOG PERFORMANCE STATUS	KARNOFSKY PERFORMANCE STATUS
0—Fully active, able to carry on all pre-disease performance without restriction	100—Normal, no complaints; no evidence of disease 90—Able to carry on normal activity; minor signs or symptoms of disease
1—Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work	80—Normal activity with effort, some signs or symptoms of disease 70—Cares for self but unable to carry on normal activity or to do active work
2—Ambulatory and capable of all selfcare but unable to carry out any work activities; up and about more than 50% of waking hours	60—Requires occasional assistance but is able to care for most of personal needs 50—Requires considerable assistance and frequent medical care
3—Capable of only limited selfcare; confined to bed or chair more than 50% of waking hours	40—Disabled; requires special care and assistance 30—Severely disabled; hospitalization is indicated although death not imminent
4—Completely disabled; cannot carry on any selfcare; totally confined to bed or chair	20—Very ill; hospitalization and active supportive care necessary 10—Moribund
5—Dead	0—Dead

*Karnofsky D, Burchenal J, The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer. In: MacLeod C, ed. Evaluation of Chemotherapeutic Agents. New York, NY: Columbia University Press; 1949:191-205.

**Zubrod C, et al. Appraisal of methods for the study of chemotherapy in man: Comparative therapeutic trial of nitrogen mustard and thiophosphoramide. *Journal of Chronic Diseases*; 1960;11:7-33.

Fonte: ecog-acrin.org, 2018.

5.1.3 Avaliação geriátrica

Um prejuízo nas atividades diárias foi associado como marcador independente de decréscimo de sobrevida em pacientes com LMA ou com SMD de alto risco tratado com hipometilantes (DESCHLER et al., 2013). Neste grupo de pacientes se torna mais importante submetê-los a uma escala de comorbidades, a HTCCI (*Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index* – Figuras 5 e 6).

Esta escala é usualmente utilizada em pacientes pré-transplante e avalia de forma básica a função de cada órgão, ajudando a identificar pacientes não elegíveis e frágeis à quimioterapia mais intensa, baseado no seu *status* individual (Figura 6).

Quadro 6: HCT-CI

HCT-CI PARÂMETRO	Pontuação
Arritmia	1
Cardiopatía	1
Doença Inflamatória Intestinal	1
Diabetes	1
Doença Cerebrovascular	1
Insuficiência Hepática leve	1
Obesidade	1
Doenças Reumatológicas	2
Infecção	1
Úlcera Péptica	2
Insuficiência Renal	2
Pneumopatía	2
Tumor sólido	3
Doença valvar coronariana	3
Insuficiência hepática grave	3

Fonte: Revista Blood – Parâmetros, 2012.

Instituições renomadas identificaram outros fatores preditores de prognóstico, não só incluindo o já discutido risco citogenético, mas acrescentando índices diversos, impactando negativamente na sobrevida, na sobrevida livre de doença, na taxa de remissão, na mortalidade na indução e na mortalidade precoce.

Quadro 7: Outros fatores prognósticos

Model	Predicted Factor	Negative Prognostic Scores
Study Alliance Leukemia	Survival Disease-free survival	CD34 expression >10% WBC >20 ×10 ⁹ /L Age >65 yr LDH >700 units/L NPM1 status wild-type*
UK Medical Research Council (UKMRC)	Survival	Adverse cytogenetic group Elevated WBC [†] Poor performance status [†] Older age [†] Secondary AML
Acute Leukemia French Association (ALFA)	Survival	High-risk cytogenetics ± Age ≥75 yr Performance status ≥2 WBC ≥50 × 10 ⁹ /L
M.D. Anderson (MDACC)	Remission rate Induction mortality Survival	Age ≥75 yr Secondary AML [‡] AHD duration ≥6 [‡] (12) mo Treatment outside LARF Unfavorable cytogenetics WBC ≥25 × 10 ⁹ /L [‡] Hemoglobin ≤8 g/dL [‡] Creatinine >1.3 mg/dL Performance status >2 LDH >600 units/L [§]
Hematopoietic cell transplantation comorbidity index	Early mortality Survival	Dyspnea Coronary artery disease, CHF, MI, or EF <50% Chronic hepatitis, elevation of bilirubin and/or transaminases Cirrhosis Elevations of creatinine, dialysis, renal transplant Secondary AML Depression/anxiety requiring therapy Continued use of antimicrobial therapy after day 0 BMI >35 kg/m ²

AHD: Doença hematológica prévia; BMI: index de massa corpórea;

CHF: Insuficiência cardíaca congestiva; EF: Fração de ejeção;

LDH: Lactato desidrogenase láctica; WBC: Contagem de glóbulos brancos;

LARF: Isolamento respiratório;

* Riscos favoráveis e altos são definidos por alterações citogenéticas

‡ Apenas com significância para predizer remissão

§ Apenas com significância para predizer sobrevida

Fonte: Revista Blood, 2015.

5.1.4 Alterações laboratoriais

A alta contagem de leucócitos no sangue periférico no momento do diagnóstico e o nível sérico da desidrogenase láctica estão associados a pior prognóstico (KEATING et al., 1980; FERRARA; MIRTO, 1996; BUCHNER et al., 1999, 2009b; KERN et al., 2003; TSIMBERIDOU et al., 2008). Porém os níveis de corte não estão bem estabelecidos, já que não existem estudos randomizados a fim de criar uma rotina de investigação. Outros marcadores também demonstraram relevância na estratificação, como o valor de hemoglobina, a plaquetometria e o fibrinogênio plasmáticos admissionais (TSIMBERIDOU et al., 2008; CHEN et al., 2005; KEATING et al., 1980). A elevada beta2 microglobulina também foi identificada como fator preditor negativo em pacientes idosos (TSIMBERIDOU et al., 2008). No entanto, nenhum desses marcadores tem impacto maior que a estratificação citogenética e, portanto, não são usados de rotina. Outro fator é a falta de padronização entre os laboratórios (TSIMBERIDOU et al., 2008).

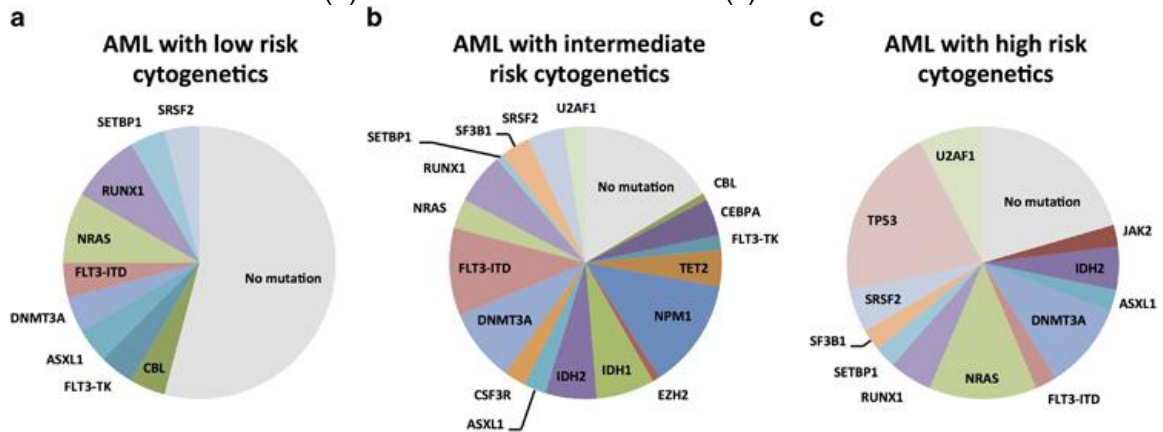
5.2 FATORES DE RISCO RELACIONADOS À LEUCEMIA

5.2.1 Citogenética

O risco citogenético é o maior relacionado à doença no desfecho dos pacientes com LMA após quimioterapia intensiva (BLOOMFIELD et al., 1984). Translocações balanceadas que envolvem o *core binding factor* (CBF) representam um risco favorável. No estudo de Grimwade et al. (2010), foi identificado como alto risco aberrações citogenéticas como: anormalidades (3q) (excluindo t(3;5)(q25;q34)), Inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21q26); anormalidades (7q)/del(7q), t(11q23) (excluindo t(9;11)(p21-22;q23) e t(11;19)(q23;p13)), t(9,22)(q34;q34;q11), -17, abn(17p) e o cariótipo complexo com pelo menos quatro aberrações excluindo as de risco favorável. A definição mais difundida de cariótipo complexo-aberrante inclui pacientes com três anormalidades, excluindo aberração de bom prognóstico. Em adição a classificação de risco o grupo HOVON (*Dutch – Belgian Hemato-Oncology Cooperative Group*) definiu-se a presença do cariótipo monossômico com pelo menos uma alteração estrutural (excluindo perda de genoma) como risco citogenético

adverso e inclusive fator prognóstico negativo para pacientes paliativos com dose baixa de citarabina (BURNETT et al., 2007, 2013).

Figura 3: Frequência das mutações nas LMA por estratificação citogenética (a) LMA de baixo risco (b) LMA de risco intermediário (c) LMA de alto risco



Fonte: USPAR, 2015, p. 706-714.

5.2.2 Mutações biomoleculares

Recentemente, novas mutações genéticas foram adicionadas como fatores de risco, devendo ser pesquisadas, quando acessíveis, para melhor estratificação e manejo dos doentes com LMA. Poucos estudos têm impacto terapêutico atualmente, no entanto, saber seu peso no desfecho das LMA é de importância sumária para guiar o próximo passo no manejo entre nova terapia intensiva, ou na decisão de palição.

5.2.2.1 KIT

Pacientes que apresentam translocações balanceadas com risco favorável, as Core Binding Leukemia – CBF, representam 5-8% de todas as LMAs (ONCOL REP, 2014, May), na presença do gene KIT (incidência de 15-46%) confere risco adverso, especialmente no domínio tirosino quinase exon 8 (CARE et al., 2003; BOISSEL et al., 2006; CAIROLI et al., 2006; PASCHKA et al., 2006, 2013; SCHNITTGER et al., 2006). Drogas como Imatinibe e Dasatinibe já estão em estudo para este tipo de LMA.

5.2.2.2 *FLT3*

Internal tandem duplications (ITD) é um do receptor do domínio tirosino-quinase com função proliferativa e de diferenciação celular. Por sua vez as LMAs apresentam super-expressão da proteína FLT3. Os dois tipos de mutações de FLT3-ITD, localizadas no cromossomo 13, exon 20, são as duplicações internas em *tandem* (ITD) e a mutação pontual D835. Ambas contribuem para o aumento da proliferação celular, redução da apoptose e, conseqüentemente, para a maior taxa de recaídas e menor taxa de sobrevida.

Ocorre em aproximadamente 23% dos pacientes adultos com LMA e confere um prognóstico negativo em pacientes de cariótipo normal, mesmo com risco favorável ou intermediário. Nos de risco intermediário, o impacto do prognóstico negativo é evidente com a concomitância da Nucleofosmina mutada (NPM1) apenas quando presente com uma carga alélica alta. Em pacientes com NPM1 mutado na presença de FLT3-ITD confere, por si só, prognóstico negativo (JONGE et al., 2011; SCNITTGER et al., 2011a; SCHNEIDER et al., 2012; PRATCORONA et al., 2013).

Mediante esses conhecimentos, têm surgido novas terapias para LMA, baseadas na presença ou na ausência das mutações FLT3. Estudos recentes mostraram que o medicamento AG1296 inibe a autofosforilação do FLT3-ITD, provocando citotoxicidade, excelente opção como droga-alvo (TSE et al., 2012). Além disso alguns casos de resistência das células leucêmicas à terapia já foram relatados e o acompanhamento da persistência dos clones FLT3/ITD é necessária, uma vez que essas cópias podem apresentar vantagem proliferativa, indicando necessidade de maior intensidade ao tratamento. A pequena molécula Sorafenib - B-RAF inibitória (RAY 43-9006, Nexavar), é usada no tratamento de carcinoma de células renais, e tem demonstrado atividade contra receptores tirosina-quinase, incluindo o cKIT e o próprio FLT3, inibindo-o ou diminuindo sua atividade, sendo um tratamento promissor atualmente.

5.2.2.3 *NPM1 mutado*

É a aberração molecular mais comum da LMA (FALINI et al., 2005), encontrada de 46-64% das ocorrências com cariótipo normal, conferindo um bom prognóstico para seus portadores. No entanto, cerca de 36-50% carregam o FLT3-ITD mutado. Em

idosos, é encontrado em cerca de 56% nos com cariótipo normal acima de 60 anos, e possui um impacto favorável no prognóstico destes pacientes. A presença do FLT3-ITD em conjunto com o NPM1 mutado confere prognóstico adverso aos pacientes, mesmo os de cariótipo favorável.

5.2.2.4 CEBPA

Mutações no gene CEBPA são encontrados em cerca de 7-55% dos pacientes e conferem um bom prognóstico em pacientes com cariótipo normal (PABST et al., 2001; GOMBART et al., 2002; PREUDHOMME et al., 2002). Atualmente, novos dados demonstraram que o impacto positivo do CEBPA é restrito às mutações bialélicas (WOUTERS et al., 2009; DUFOUR et al., 2010; GREEN et al., 2010a) e esse impacto favorável pode ser encontrado também em pacientes com LMA de risco citogenético intermediário, mas nunca em concomitância do FLT3-ITD (GREEN et al., 2010a), que como já exposto anteriormente é fator independente de mau desfecho. Essas leucemias se beneficiam mais que outras na fase de consolidação com altas doses de Citarabina, salvando a indicação de TMO neste tipo de LMA, na ausência de outros marcadores que alteram seu bom prognóstico clínico.

5.2.2.5 Em leucemias secundárias

O uso crescente de antineoplásicos tem provocado aumento na incidência de Neoplasmas relacionados a terapia. A leucemia secundária surge a partir de um insulto leucemogênico, seja ele exposição a produtos radioativos ou cancerígenos, seja após tratamento com droga citotóxica ou quimioterápicos. Os quimioterápicos mais envolvidos estão os agentes alquilantes, os inibidores da topoisomerase II, os agentes antitúbulos e o próprio condicionamento pré-transplante que usa altas intensidades de quimioterápicos e radiação. São eventos independentes para o aparecimento cariótipo desfavorável e complexo pelo potencial dano no DNA e acúmulo de mutações. Deleções, como dos cromossomos 7 e 9, mas também a perda balanceada de cromossomo confere um prognóstico adverso com impacto bastante reservado. Além disso a lesão da TP53, proteína de reparo, surge como mecanismo de escape para o aparecimento e seleção de novos clones, com novas aberrações genéticas, conferindo resistência a terapia padrão. Uma opção de peso de tratamento

para este grupo de leucemias (recaída, refratária ou secundária) que tem surgido é a Decitabina, um hipometilante com boa resposta após 10 ciclos de tratamento, com morbidade mais baixa que a terapia de indução (RITCHIE et al., 2013).

5.3 NOVOS BIOMARCADORES

Aproximadamente 30 mutações genéticas recorrentes foram recentemente identificadas (CANCER GENOME ATLAS RESEARCH, 2013; NAOE; KIYOI, 2013). Para a maioria destas o impacto prognóstico ainda é incerto, porém em muitos casos sugere-se pior desfecho. Essas mutações têm sido mais avaliadas em pacientes jovens com LMA de cariótipo normal, já que esses são os que receberão terapia intensiva, implicando no impacto terapêutico na identificação do perfil molecular.

5.3.1 DNMT3A

Esta enzima é responsável pela metilação do DNA e supressão da célula tumoral. Mutações no gene da metiltransferase 3A (DNMT3A) têm aparecido em outras neoplasias hematológicas, mas tem um importante papel na carcinogênese das LMA e é considerado um fator prognóstico negativo pela maioria dos estudos até o momento (LEY et al., 2010; SHEN et al., 2011; THOL et al., 2011; YAN et al., 2011; HOU et al., 2012; MARCUCCI et al., 2012; MARKOVA et al., 2012; RENNEVILLE et al., 2012; RIBEIRO et al., 2012). Sua incidência é aumentada em pacientes com risco intermediário e na presença de mutações FLT3.

Há estudo que sugere que esta mutação apresenta boa resposta a Hipometilantes, como a Decitabina, embora necessite de mais pacientes arrolados no estudo para sua validação (METZELER et al., 2012). Também há estudos que mostram que a mutação é dose-dependente de Antracíclico, podendo ser resistente as doses da indução padrão (PATEL et al., 2012) e obter melhores respostas em doses aumentadas, que supere essa resistência.

5.3.2 TET2

A mutação no gene TET2 (*Tem eleven translocation 2*) leva a uma desregulação que está associada a hipometilação mais que a hipermetilação do DNA.

Na LMA, mutações do gene da TET2, estão associadas ao metabolismo do citrato (regulados pelos genes IDH1 E 2). Embora a proteína TET2 esteja presente em todo o organismo, ela tem um papel preponderante na mielopoiese, e regula o processo de transcrição proteica (primeiro processo da síntese celular), inclusive das células tronco hematopoiéticas. Logo, a proteína TET2 não mutada atua como um supressor tumoral prevenindo as células precursoras mutantes de crescerem e se dividirem de forma descontrolada.

Nas LMA a TET ausente ou mutada tem incidência de cerca de 13% dos pacientes. Sua presença prediz uma alta taxa de falha terapêutica e recaída em pacientes com SMD de alto risco ou em LMA, uma vez que o dano está presente nas primeiras vezes de produção celular, conferindo maior resistência (ITZYKSON et al., 2011). Em pacientes com LMA cariótipo normal e alterações citogenética de bom prognóstico (NPM1 mutado / FLT3 não ITD, ou CEPBA mutado) que receberam tratamento intensivo, o desfecho foi negativo com efeitos colaterais importantes (METZELER et al., 2013). É sabidamente associado a pacientes mais idosos, com leucometria e plaquetometria admissionais elevadas. No âmbito molecular, o cariótipo intermediário, a trissomia do 8, e o NPM1 mutado – muitas vezes vêm acompanhados da mutação AXSL1 de forma concomitante – associados também à pior sobrevida.

5.3.3 IDH1/2

Mutações do gene isocitrato desidrogenase (IDH1/2/3) foram descobertas em 2009 inicialmente associadas a Gliomas, e possuem 3 isoformas. A IDH1 está localizada no citoplasma, a IDH2 e IDH3 nas mitocôndrias. O gene IDH1 localizado no locus 2q23 codifica a isocitrato desidrogenase citoplasmática, que é envolvida no controle do dano celular oxidativo. Sua mutação geralmente é heterozigota e tem sido reportada em cerca de 12% dos estudos e mostram prognóstico adverso apenas em subgrupos de pacientes com cariótipo normal (ABAS et al., 2010).

Estudos têm mostrado que estas mutações estão associadas a alterações epigenéticas, inibindo a função da TET2, que é essencial para a desmetilação do DNA. Mutações concomitantes de NPM1, FLT3, CEPBA e NRAS são detectadas apenas com o IDH mutado. Duas metanálises recentes (ZHANG et al., 2011; FENG et al., 2012) demonstraram o impacto negativo da mutação IDH1/2, porém ainda faltam mais estudos e seu papel ainda é incerto, com alguns grupos apresentando um impacto

positivo com a mutação (CHOU et al., 2011b; ZHOU et al., 2012), questionando a veracidade da mesma.

5.3.4 WT1

Até recentemente o impacto da mutação do gene do tumor de Wilms (WT1) não estava completamente definida. Em estudos recentes foi encontrada em pacientes mais jovens e com cariótipo normal. É detectado em aproximadamente 10-13% das LMA. Em estudo multivariado foi demonstrado que a presença da mutação é um fator independente de pior prognóstico em termos de sobrevida global e sobrevida livre doença em pacientes com LMA cariótipo normal (PASCHKA et al., 2008). Ao alcançar a remissão completa a mutação desaparece, porém em caso de recaída podem ser adicionadas novas mutações a mesma, que pode aparecer com perfil genético diferente conferindo um prognóstico ainda pior que o inicial. Pesquisadores estão estudando formas para aumentar a reação imunológica contra células. A vacina mostrou resultados promissores, porém são necessárias mais pesquisas para avaliar sua utilidade e efeitos colaterais.

5.3.5 RUNX1

Mutações do fator de transcrição relacionado ao RUNX ocorre em 6-26% das LMA e também é um fator independente associado a um desfecho inferior (TANG et al., 2009; SCHNITTGER et al., 2011b). É uma mutação praticamente exclusiva da LMA com anormalidades recorrentes, e costuma ocorrer juntamente com padrão complexo de mutações genéticas, envolvendo mutações epigenéticas modificadas (ASXL1, ADH2, KMT2A, EZH2). Seu aparecimento está associado a idades mais avançadas, sexo masculino, LMA secundária, envolvendo Mielodisplasia e morfologia mais imatura de blastos. Em análise univariada, as mutações RUNX1 estão associadas a pior sobrevida livre de eventos adversos, livre de recaída e menor sobrevida global em todos os pacientes, principalmente porque o aumento da sua expressão pode induzir o aparecimento da mutação FLT3. Hoje terapias-alvo como anticorpos monoclonais estão sendo estudados para suprimir essa expressão, que também oferece benefício nas LMA FLT3.

5.3.6 MLL – *Parcial Tandem Duplication* (PTD)

Alterações genéticas do locus do gene da leucemia de linhagem mista (MLL) está comumente associada a LMA. A incidência é em torno de 5-10% e está associado a prognóstico negativo (DOHNER et al., 2010). A mutação leva a superexpressão do gene HOXA que desregula funções epigenéticas. Recentemente, leucemias com várias translocações MLL demonstram depender da histona DOT1L, que é sensível a EPZ004777, descoberta recentemente como uma pequena molécula capaz de inibir seletivamente o DOT1L. Dessa forma, o EPZ-5676, um inibidor do DOT1L é uma droga em potencial em estudo clínico, usado como terapia-alvo para pacientes que apresentam essa mutação.

5.3.7 ASXL1

Mutações ASXL1 (*adicionais sex comb-like 1*) estão localizadas no cromossomo 20q11 e podem anteceder ou suceder outras mutações e ocorrem em 5% das Síndromes Mieloprolifertivas. Este gene codifica uma proteína que se associa a diversos outros complexos proteicos nos mecanismos de regulação epigenética foram identificadas em populações mais idosas, de sexo masculino, com leucemias secundárias e apresenta um fator prognóstico adverso independente para a sobrevivência de pacientes com LMA cariótipo normal ou com risco intermediário (METZELER et al., 2011). Em pacientes com Mielofibrose (que também abriga a mutação ASXL1).

Estudos com a droga Imetelstat mostraram respostas promissoras, incluindo taxas de remissão completa em pacientes que possuem a falta ou a mutação deste gene. Há necessidade de ensaios clínicos futuros mais envolvidos e direcionados para LMA, porém esses resultados se mostraram promissores.

5.3.8 TP53

O gene supressor de tumor p53 foi descrito pela primeira vez em 1970 e está situado no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1), tendo como produto um transcrito a fosfoproteína nuclear 53 KiloDaltons (kDa), denominada p53 pelo seu peso molecular. A proteína p53 é composta por 393 aminoácidos na sua extensão apresentando quatro regiões com funções distintas, chamadas de “domínios da

proteína”. O primeiro chamado de domínio de transativação, está localizado na extremidade amino-terminal (N-terminal). Na extremidade carboxi-terminal (C-terminal), existem dois domínios: o de tetramerização, que forma os tetrâmeros de p53, que é a forma mais ativa (selvagem, ou *wild-type*) e o regulatório cuja função é se acoplar ao domínio central de ligação ao DNA, impedindo a interação desta região com promotores de genes relacionadas a morte celular programada e genes de supressão celular. Uma vez ativada por fosforilação, a p53 não é mais capaz de ligar-se ao DNA de maneira específica, agindo como fator de transcrição. Essa ativação da proteína fosforilada ou acetilada é controversa, mas a modificação da p53 faz com que essa proteína possa atuar como fator de transcrição promovendo a transativação de genes alvo. E é responsável por regular a expressão de genes que atuam na parada do ciclo celular e na rota de apoptose.

O termo “guardiã do genoma” é decorrente justamente dessa função de vigilância celular, por monitorar a integridade do genoma. Ela atua como identificadora de danos do DNA e auxilia no sistema de reparo, utilizando os momentos de *checkpoints* para interromper o ciclo celular e encaminhar a célula a apoptose. Desta forma ela intervém, prevenindo a proliferação de células com o DNA danificado ou mutado (LEVINE et al., 1991). No caso de dano ao DNA desencadeado por agentes químicos, físicos ou biológicos, é função da p53 através desta cascata de reações impedir que esta célula entre em processo de mitose e complete sua divisão celular. Sendo assim, dois caminhos podem ser seguidos: A correção da mutação através da ativação da proteína de reparo ou a indução da apoptose (RIVOIRE et al., 2001).

Nas células que apresentam o gene p53 mutado e inativação da proteína p53, não ocorre a parada do ciclo celular, necessária para o reparo do DNA (CAVALCANTI JÚNIOR et al., 2002). Essas células geneticamente instáveis tendem a acumular mutações e rearranjos cromossômicos adicionais, levando a uma rápida proliferação de clones de com o DNA mutado e transformação neoplásica (TACON et al., 2008). A presença da mutação TP53 está associada a péssimo prognóstico e a resistência às terapias intensivas, com resposta a longo prazo melhores a Hipometilantes para pacientes de alto risco. Resposta essa não confirmada nos pacientes com risco intermediário. Pacientes com risco intermediário ou favorável mostraram de forma consistente que pacientes que recebem terapia convencional têm desfecho pior.

Alterações de p53 são frequentemente detectadas em pacientes com LMA (7%) e nas com cariótipo complexo (58%) (HOU et al., 2015) e alguns estudos

demonstraram, nas LMA de cariótipo normal, a p53 deletada ou mutada aparece em cerca de 70% (RÜCKER et al., 2011). A estabilidade dessa mutação durante o curso clínico se mantém desconhecida. Está associada a pacientes mais idosos, leuceometria e plaquetometria baixas, subtipo FAB M6, citogenética desfavorável e mesmo na presença de NPM1 mutado, o desfecho se mantém ruim.

Seu aparecimento tem sido mais relatado em concomitância com NPM1 mutado, FLT3/ITD e DNMT3A (HOU et al., 2015). Pacientes com LMA secundária ou Síndrome Mielodisplásica com anormalidades citogenéticas de risco desfavorável, mostraram respostas favoráveis com bom clearance de blastos após 10 ciclos de Decitabina, embora essas respostas não sejam duráveis, eles aumentam a sobrevida, tornando-a similar aos pacientes de risco intermediário (WELCH et al., 2016, NEJM). Nas LMA não há ainda comprovação de risco independente com a presença da mutação da p53 como já confirmado nas SMD (STIREWALT et al., 2011; WHO, 2016), mas pacientes com LMA exibindo cariótipo complexo, alterações de TP53 (deleções ou mutações) se mostraram com sobrevida.

5.3.9 KRAS

A mutação RAS (NRAS ou KRAS) ocorre em cerca de 12-27% dos pacientes com LMA. Ainda não foi demonstrado impacto prognóstico nesses pacientes. Entretanto, um estudo demonstrou a mutação RAS como preditor de remissão mais prolongada em pacientes tratados com altas doses de Citarabina (NEUBAUER et al., 2008). Hoje já existem inibidores de KRAS, como o Vermurafenib, utilizado em melanomas metastáticos. É um inibidor de baixo peso molecular, da quinase serina-treonina do BRAF. As mutações que envolvem a KRAS levam a uma via de ativação da BRAF, potencializando a capacidade tumoral de proliferação celular na ausência de fatores de crescimento. Entretanto, estudos direcionados para LMA têm contemplado as LMA do tipo *Hairy Cell*, com respostas satisfatórias.

5.3.10 Fenótipo de célula tronco

Evidências crescentes sugerem que o diagnóstico das leucemias indiferenciadas, mais próximas evolutivamente da célula tronco em pacientes com LMA está associada a um pior prognóstico. Células tronco são capazes de ficarem

quiescentes e conferir tardiamente resistência ao quimioterápico (SAITO et al., 2010). A expressão de CD34, CD32, CD25, CD96, CD123 e CD56 está associada a um fenótipo de célula tronco que apresentam prognóstico adverso, principalmente em recaídas tardias em pacientes com t (8;21) (YANG et al., 2011; IRYAMA et al., 2013).

5.3.11 Microambiente

As malignidades hematológicas se desenvolvem e se mantêm não apenas por alterações biomoleculares e citogenéticas, mas também pela interação com o microambiente medular. O microambiente medular possui um papel crítico no desenvolvimento, progressão e recaída das LMA. Essa interação entre o estroma e as células malignas tem um grande impacto no desfecho (DANKBAR et al., 2000; SCHLIEMANN et al., 2006).

Atualmente estão emergindo evidências que esta complexa interação entre as células tronco e seu nicho pode se tornar alvo terapêutico. Para a manutenção da remissão completa da LMA é necessária a eliminação da célula tronco leucêmica, a responsável por manter o clone doente. A proteína Osteopontina (OPN) contribui para a adesão e migração das células tronco e foi identificada através de RNAm como marcador prognóstico da LMA (NILSSON et al., 2005). Vários métodos já utilizados em 3 coortes demonstraram que o aumento da expressão de OPN está associado a diminuição da sobrevida (LIERSCH et al., 2012).

A resistência a quimioterapia pode também ser provocada pela aderência dessas células doentes ao microambiente. A adesão pela proteína CXCR4-CXCL12/SDF1-alfa presumidamente protege as células tronco leucêmicas e a hiperexpressão de CXCR4 tem mostrado associação com pior prognóstico (ROMBOUITS et al., 2004).

Baseado nesses achados uma terapia-alvo inibidora da proteína CXCR4 é um futuro terapêutico já avaliado em ensaios clínicos, além de outras como VLA-4 e E-selectina.

5.3.12 Assinatura genética

A quantificação da expressão do RNAm pode ser facilmente obtida em amostras pelo método de quantificação da transcrição reversa da cadeia da

polimerase (PCR-RT). Com esta técnica, a variedade do nível de expressão gênica pode ser associada ao prognóstico. São leucemias que, apesar da estratificação, seguem um curso diferente do esperado, com uma resposta terapêutica diversa do padrão estudado.

Estão associados a um desfecho pior e diminuição desta taxa de sobrevivência. Já altos níveis de metiltransferase 2E (KMT2E, também conhecido como MLL5) está associado a um aumento da sobrevivência em pacientes com LMA e cariótipo normal.

Perfis de expressão genética globais podem identificar grupos prognósticos e assinaturas genéticas estratificando de forma mais específica o risco. Recentemente, pelo menos 24 assinaturas foram realçadas pela classificação de risco do European Leukemia Net (LI et al., 2013). Entretanto, a falta de padronização e na definição dos níveis de corte, associada a limitada avaliação de oligonucleotídeos e o alto custo, prorrogam o uso desta técnica como rotina diagnóstica de importante impacto terapêutico.

5.3.13 Epigenética

A LMA é uma doença heterogênea caracterizada por distintas anormalidades genéticas. Descobertas recentes têm assumido um papel importante nos mecanismos epigenéticos que agem desregulando a patogênese da doença. Ao contrário das alterações genéticas, as epigenéticas são frequentemente reversíveis, o que proporciona a possibilidade de um tratamento droga-alvo usando específicos inibidores, sendo um tratamento extremamente promissor para os pacientes com LMA.

A região mais estudada é o domínio CG, que é uma curta porção de DNA, onde a frequência de CG é mais alta que outras regiões. Também é chamada de CpG porque “p” indica que “C” e “G” estão conectadas por uma ponte de fosfodiesterase. Uma hipermetilação aberrante na região promotora desse domínio faz parte da fisiopatologia do câncer. A hipermetilação aberrante do receptor oestrogen e do CEBPA está associada a um melhor prognóstico dos pacientes com LMA. Para os genes CDKN2B (p15), CDH1 (E-Caderina) e PRDX2, a hipermetilação aberrante mostra um prognóstico adverso. De forma controversa, pacientes com LMA e hipometilação aberrante na região VTRNA2-1 mostra um melhor desfecho que pacientes com metilação mono ou bialélica neste códon. Estudos no mundo inteiro

envolvendo a hipermetilação de genes alvos da LMA ou assinaturas específicas de metilação estão associadas a um importante risco independente na sobrevida destes pacientes.

Porém, nenhum dos marcadores epigenéticos citados foram validados em estudos prospectivos, e novamente, não há consenso em relação ao ponto de corte que separa a hipometilação da hipermetilação, tornando a avaliação não uniforme, e portanto, não confiável.

5.4 RESPOSTA PRECOCE AO TRATAMENTO

5.4.1 Redução de blastos no sangue periférico

O curso da doença ao longo do tratamento traz pistas prognósticas importantes para o avaliador. O clearance de blastos do sangue periférico durante a indução avaliado pela microscopia já foi alvo de vários estudos. Em recente estudo a limpeza dos blastos no sangue periférico no 6º dia da indução foi considerado fator independente de bom prognóstico, com aumento considerável da sobrevida (ARELLANO et al., 2012). Infelizmente da mesma forma, há dificuldade em padronizar o momento mais pertinente da avaliação e o valor exato do clearance, dificultando a validação e seu uso na prática clínica.

5.4.2 Recuperação linfocitária

Apresentar uma completa recuperação linfocitária (acima de 500 mL) nos dias 15, 22 e 28 após a indução se mostrou um fator independente de aumento de sobrevida em estudo (DE ÂNGULO et al., 2008).

5.4.3 Doença Residual Mínima (DRM) por citometria de fluxo

A realidade atual é a possibilidade de usar a citometria de fluxo para identificar blastos na medula óssea com alta sensibilidade. Recentemente o impacto prognóstico da DRM foi demonstrado por um estudo prospectivo multinacional HOVON/Swiss grupo de pesquisa clínica em câncer com pacientes jovens portadores de LMA (TERWIJN et al., 2013). Pacientes em remissão completa com DRM > 0,1% após a

terapia de indução apresentaram alto risco de recaída em análise multivariada (TERWIJN et al., 2013).

5.4.4 DRM por PCR

O progresso na compreensão das alterações do DNA na LMA já proporcionou um exame altamente sensível para a detecção da doença residual mínima, após o tratamento, no fim da consolidação. Ele permite identificar quando há poucas células leucêmicas e estas não podem ser identificadas em exames de rotina da medula óssea.

O exame da reação da cadeia de polimerase (PCR) pode identificar células de leucemia mieloide aguda, baseada em translocações ou rearranjos de genes. Este exame pode detectar uma célula leucêmica dentre milhares de células normais. Logo, é extremamente útil no fim do tratamento para avaliar se o tratamento de escolha destruiu completamente todas as células leucêmicas.

DRM positiva por citometria de fluxo em paciente em remissão completa ou incompleta após a consolidação, ou após serem submetidos a Transplante Alogênico de Medula (TAMO) possuem risco independente altíssimo de queda da sobrevida seguido de TAMO (WALTER et al., 2011).

Muitos pacientes apresentam aberrações cromossômicas específicas da LMA no diagnóstico, que podem ser quantificados durante o acompanhamento e no término do tratamento. No entanto, a relação entre a carga tumoral em um paciente com remissão completa deve ser avaliada com marcador específico em dosagens quantitativas. Outra limitação é novamente a falta de padronização para determinação da DRM nas diferentes LMA, nos variáveis ensaios possíveis. As LMAs, na sua maioria, recaem no primeiro ano do diagnóstico decorrente da presença de DRM. A citometria de fluxo multiparamétrica tem sido usada na busca de doença residual, através de fenótipos aberrantes usando os anticorpos monoclonais de maior prevalência: CD10, CD11a, CD13, CD14, CD19, CD33, CD34, CD45, HLADR, CD2, CD4, CD15, CD65, CD117, CD7, CD38, CD41, CD56, IgG1 e IgG2.

Ainda com esta ferramenta o risco cumulativo de recaída em três anos se segue:

Tabela 1: Recidiva DRM: San Miguel, JF et al, Blood, 98: 1746-1741, 2001

Risco de Recidiva	Nível DRM	RCR
Muito baixo	< 10 ⁻⁴	Zero
Baixo	10 ⁻⁴ a 10 ⁻³	14%
Intermediário	<10 ⁻³ a 10 ⁻²	50%
Alto	>10 ⁻²	84%

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

5.4.5 Leucemias CBF

São altamente sensíveis a terapia com Citarabina. Nas leucemias CBF, o único fator prognóstico independente de recaída é a DRM após a terapia de indução e uma consolidação é a queda menor de 3-log comparada a do diagnóstico (JOURDAN et al., 2013). Isto não se traduz em diferente sobrevida, provavelmente porque pacientes que apresentam queda menor que 3-log após a primeira consolidação seguem para o Transplante Alogênico, em vez da insistência de mais ciclos de consolidação com Citarabina. Estudos prévios demonstraram um prognóstico negativo com impacto na sobrevida quando ocorre o aumento do log da DRM após a indução e após a consolidação, ou na persistência ou recorrência da DRM positiva após o final da terapia nos pacientes com leucemia CBF (YIN et al., 2012).

6 ESCOLHA DO MANEJO CLÍNICO

Como amplamente discutido, a escolha terapêutica não é uma tarefa de decisão fácil. Ao longo da discussão identificamos inúmeros fatores de caráter prognóstico reservado, e que se somam numa cascata redundante carcinogênica, dificultando o uso de uma terapia-alvo eficaz. Fatores do indivíduo, da própria doença e a emergência de novos marcadores, conferem uma resposta com resultado complexo, muitas vezes com altas chances de recaída ou refratariedade. Esses fatores, quando bem conhecidos e estratificados, são capazes de direcionar uma terapia mais perfilizada com menor morbimortalidade, embora seja um desafio árduo. Apenas poucos parâmetros são pesquisados de rotina, com número de pacientes considerável e com fácil acesso para direcionar uma proposta terapêutica na LMA. Porém, cabe à boa prática médica usar das ferramentas mais acessíveis e buscar atualizações para o melhor cuidado dos pacientes.

6.1 TERAPIA INICIAL EM PACIENTES IDOSOS COM LMA

Especialmente em pacientes idosos com baixo ECOG há o dilema entre oferecer quimioterapia em doses maiores arriscando complicações e mortalidade durante a indução, ou reduzir a dose do quimioterápico com chance de não atingir a remissão completa. Os maiores fatores prognósticos que determinam mortalidade na indução e idosos são o ECOG e as comorbidades apresentadas pelo paciente no momento do diagnóstico. Muitos escores foram criados com a intenção de prever taxa de mortalidade, e tentam identificar quais pacientes são inelegíveis para terapia de indução pela incorporação das comorbidades e pela capacidade funcional. Acessando dados como idade, risco citogenético e molecular, valor de hemoglobina e plaquetas, desidrogenase láctica, nível de fibrinogênio no diagnóstico, a chance desse paciente atingir a remissão completa e o risco de morte na indução pode ser mensurado de forma mais racional com preditor on-line (www.AML-Score.org).

Entretanto, a decisão entre o potencial curativo da terapia de indução e o tratamento paliativo não pode ser baseado apenas em resultados de escores, mas envolve desejos e expectativas de um paciente lúcido e devidamente informado, com bom suporte social e familiar e por um hematologista e equipe multidisciplinar experientes.

6.2 TERAPIA PALIATIVA EM PACIENTES NÃO ELEGÍVEIS AO TRATAMENTO INTENSIVO

Pacientes com contagem baixa de blastos, não elegíveis à terapia intensiva de indução podem se beneficiar do tratamento com hipometilantes. Novos estudos sugerem que pacientes que apresentam mutações TET2 (ITZYKSON et al., 2012), DNMT3a (METZELER et al., 2012), TP53 (WELCH et al., 2016), se beneficiam com hipometilantes em vez de Antracíclico, mesmo em doses reduzidas. Pacientes não elegíveis para tratamento intensivo e com cariótipo adverso se beneficiam melhor com doses baixas de Citarabina (BURNETT et al., 2013).

6.3 FATORES PREDITIVOS PARA CONSIDERAÇÕES ESPECIAIS NO TRATAMENTO

Pacientes com cariótipo não adverso se beneficiam com tratamento prolongado de Gentuzumabe Ozogamicina, que antes era condenado por sua toxicidade, retorna ao cenário terapêutico como droga de escolha (BURNETT et al., 2012). Ambos pacientes, jovens e idosos com NPM1 mutado sem FLT3-ITD se beneficiam de ácido tranretinoico (ATRA) durante a terapia de indução nos estudos (AMLSG). Esse estudo não pode ser verificado nos ensaios reportados pelo UK Council Research Medical (BURNETT et al., 2010) e MD Anderson Cancer Center (NAZHA et al., 2012). Sem esses dados, ambos os tratamentos são considerados "off-label".

6.4 TERAPIA PÓS REMISSÃO EM PACIENTES EM REMISSÃO COMPLETA APÓS INDUÇÃO

Pacientes com leucemias CBF e pacientes com RAS mutada se beneficiam melhor de terapia de consolidação contendo alta dose de Citarabina em relação à dose padrão (MAYER et al., 1994). Em relação ao transplante Alogênico, não existem ainda estudos randomizados, porém o transplante parece aumentar a sobrevida em pacientes com risco citogenético desfavorável. Pacientes com aberração 11q23 também se beneficiam do transplante Alogênico, assim como pacientes com cariótipo monossômico.

6.5 TERAPIA INDIVIDUALIZADA: PROBLEMÁTICAS

Um número cada vez maior de mutações classe 2, que conferem vantagem proliferativa, envolvendo o domínio da tirosina quinase, têm surgido e são potencialmente resistentes às drogas usadas comumente nas LMA, embora novos inibidores de tirosina quinases estejam em desenvolvimento. A introdução de drogas como Imatinibe, ATRA e outras drogas-alvo podem mudar o impacto da LMA no seu desfecho. Com novos fatores prognósticos, novas terapias-alvo surgiram e novas estratégias deverão ser estudadas em sua heterogeneidade. No presente, a terapia individualizada deve ser perseguida de forma racional se munindo de novos dados e estudos para antecipar o grande número de complicações e chances de falha terapêutica que a LMA ainda nos traz.

7 CONCLUSÕES

Idade e performance *status* são os principais fatores de impacto prognóstico relacionados ao paciente com LMA, enquanto o perfil citogenético e molecular, com a identificação de novas mutações com perfil de resistência estão relacionados à doença. Esses dados nos mostram um contorno muito mais heterogêneo e complexo ao novo perfil do paciente com LMA.

Novos estudos que visem a identificar, estratificar com maior refinamento e individualizar os grupos de pacientes adultos diagnosticados com LMA se mostram no atual cenário de extrema importância, tendo em vista a alta taxa de mortalidade e a resistência aos quimioterápicos-padrão.

Devemos ir em busca da assinatura genética do paciente, presente no comportamento biológico tão complexo que essa entidade nos mostra ao longo do seu desenvolvimento e desfecho. Devemos oferecer aos nossos pacientes nosso melhor manejo, a sua maior chance de sobrevida. A qualidade de vida que ele almeja em conjunto à sua família. Proposta essa, mais estratificada, considerando o indivíduo como parte ativa desse processo, ao desejar se submeter a um tratamento tão intenso, com tantos riscos e complicações, ou a escolha da palição.

Devemos nos perguntar a todo o tempo: Estamos usando todas as ferramentas validadas cientificamente para oferecer o melhor cuidado? É coerente usar o mesmo tratamento para todos os pacientes com LMA, tendo em vista a comprovação da sua heterogeneidade com diferentes desfechos para o mesmo tratamento? Qual melhor abordagem para as LMA de alto risco? Para os pacientes frágeis? Para os não elegíveis? Como diminuir de forma racional a morbimortalidade inerente às terapias curativas, mas potencialmente tão tóxicas? Estamos reavaliando de perto esses pacientes ao longo do tratamento, submetendo as escalas de performance e de comorbidade? Estamos preservando o desejo da palição do paciente frágil mediante ao alto risco de um tratamento intensivo?

Dos marcadores mais simples aos de última geração, que ainda são tão pouco acessíveis em nossos centros, juntamente com o maior comprometimento médico em encontrar essas respostas, começa a se esboçar o contorno para essas perguntas. Dependemos de uma intervenção multidisciplinar individualizada, melhor estratificação, capacitação médica, investimento em centros de pesquisa e saúde, identificando cada paciente e ofertando com comprometimento o tratamento mais

adequado no momento do diagnóstico ou da recaída, utilizando todas as ferramentas e variáveis disponíveis para exercer a nossa melhor prática médica, e ofertar aos nossos pacientes a melhor qualidade durante todo o processo terapêutico.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. Rio de Janeiro: ABNT.

ARBER, A.D.; ORAZI, A.; HASSERJIAN, R. et al. **The 2016 revision to the World Health Organization Classification of Myeloid neoplasmas and acute Leukemia**, n. 127, p. 2391-2405, 2016.

BAS, J. W.; DELWEL, R. Epigenetics and approaches to targeted epigenetic therapy in acute myeloid leukemia. **Blood Journal**, n. 127, p. 42-52, 2016.

CHOU, W.C. et al. TET2 mutation is na unfavorable prognostic factor in acute myeloid leukemia with intermediate-risk cytogenetics. **Blood**, 2011.

DÖHNER, H.; ESTEY, H.E.; AMADORI, S. et al. Diagnosis anda management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from na international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. **Blood Journal**, v. 115, n. 3, 2010.

GAIDZIK, V.I. et al. RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia are associated with distinct clinico-pathologic anda genetic features. **Leukemia**, n. 126, 2016.

HOFFMAN. **Basic principles and practice of Hematology**. Edition 6.

HOSPITAL, M.A. et al. Core-binding factor acute leukemia in first relapse: a retrospective study from the French Aml Intergroup. **Blood Journal**, 2014.

HOU, H.A. et al. WT1 mutation in 470 patients with acute myeloid leukemia: stability during disease Evolution and implication os its incorporation into a survival scoring system. **Blood Journal**, n. 115, p. 5222-5251, 2010.

HOW, H.A.; KUO, Y.Y.; LIU, C.Y. et al. TP53 mutations in the *novo* acute myeloid leukemia patients. **Blood Cancer Journal**, v. 5, n 7, p. e331, 2015.

KANTARJIAN, H. Acute Myeloid Leukemia – Major progress over four decades and glimpses in to the future. **Am. J. Hematol.**, n. 91, p. 131-145, 2016.

LIERSCH, R.; TIDOW, M.C.; BERDEL, E.W. et al, Prognostic factors for acute myeloid leukemia in adults. **British Journal of Haematology**, v. 165, n. 1, p. 17-38, April 2014.

MICHAEL, W.M.; MICHAEL, H.; SCOTT, R. et al. Myeloid Leukemia cells with MLL partial Tandem Duplication are sensitiveto pharmacological inhibition of the H3K79 metiltransferase DOT1L. **Blood Journal**, n. 122, p. 1.256, 2013.

OSSENKOPPELE, G.; LÖWENBERG, B. How I treat the older patient with acute myeloid leukemia. **Blood Journal**, n. 125, p. 767-774, 2015.

PASCHKA, P.; MARCUCCI, G.; RUPPERT, A.S. et al. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adults acute myeloid leukemia with in(16) and

t(8;21): A câncer and leukemia group B study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 24, n. 24, 2006.

PATCORONA, M.; ABBAS, S. Acquired mutations in ASXL1 in acute myeloid leukemia: Prevalence and prognostic value. *Haematologica*. **Ferrata Storti Foundation**, v. 24, n. 9, p. 1656-1657, 2010.

PATEL, K.P. et al. Acute myeloid leukemia with IDH1 ou IDH2 mutation: frequency and clinicopathologic features. **Am J Clin Pathol**.

PERINI, G.F.; SANTOS, F.P.S.; ESTEVES, I. et al. Uso de Gemtuzumab ozogamicina combinado com quimioterapia convencional em pacientes com leucemia aguda. **SciELO**, 2011.

RASHIDI, A. et al. Targeting the microenviroment in acute myeloid leukemia. **Current hematologic malignancy reports**, 2015.

SONG, J.H. et al. Identification of gene expression. Signatures for molecular classification in human leukemia cells. **International Journal of Oncology**, p. 57-64, 2006.

SZER, J. Thr prevelant predicamento of relapsednacute myeloidleukemia. **Hematology American Society of Hematology Education Program Book**, p. 42-48, December 2013.

TIMOTHY, J.; LEY, M.D.; LI, D. et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. **New England Journal of Medicine**, n. 363, p. 2424-2433, 2010.

WELCH, J.S.; MILLER, C.A.; FRONICK, C.C. et al. TP53 and Decitabina in Acute Myeloid Leukemia anda Myelodysplastic Syndromes. **The New England Journal of Medicine**, 2016.

ZEICHNER, S.B. et al. Prognostic significance of TP53 mutations and single nucleotide polymorphisms in acute myeloid leukemia: a case series and literature review. **Asian Pacific Journal of cancer prevention**, p. 1603-1609, 2014.

ZUBROD, C. et al. ECOG-ACRIN – Reshaping the future of patient care - Cancer Research Group. **Journal of Chronic diseases**, n. 11, p. 7-33, 1990.