

LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA *ACUTE PROMYELOCYTIC LEUKEMIA*

Camila Pivetta Prevedello² e Michelle Rorato Sagrillo³

RESUMO

Este trabalho apresenta uma revisão bibliográfica sobre as alterações cromossômicas características da Leucemia Promielocítica Aguda (LPA). A LPA é um tipo específico de leucemia aguda caracterizada pelo predomínio de células com morfologia característica pela translocação t(15;17) e por coagulopatia. É designada M3 pela classificação FAB e LPA com t(15;17) ou rearranjo PML/RAR α pela Organização Mundial de Saúde. Nos últimos anos, há uma grande produção de conhecimentos com as bases moleculares das neoplasias humanas, o que contribui fundamentalmente para o desenvolvimento de novos protocolos clínicos e terapêuticos. Sendo assim, objetiva-se demonstrar uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares que intervêm na LPA, além de mostrar a importância da análise genética e de suas técnicas para obtenção de um diagnóstico rápido e específico, bem como propor o prognóstico e a conduta terapêutica específica.

Palavras-chave: alterações cromossômicas, ácido transretinóico (ATRA), trióxido de arsênico.

ABSTRACT

This work presents a literature review on the chromosomal changes characteristic of acute promyelocytic leukemia (APL). The APL is a specific type of acute leukemia characterized by a predominance of cells with characteristic morphology by the t(15;17) and coagulopathy. It is designated by the M3 FAB classification and APL with t(15;17) or rearrangement PML / RAR α by the World Health Organization. In recent years there is a large production with knowledge of the molecular basis of human cancers, which contributes mainly to the development of new clinical

¹Trabalho de Iniciação Científica - PROBIC.

²Acadêmica do Curso de Farmácia - UNIFRA.

³Orientadora - UNIFRA.

protocols and therapeutic. This work has with objective to demonstrate a better understanding of the molecular mechanisms involved in APL, in addition to showing the importance of genetic testing and its techniques for obtaining a quick and specific diagnosis, and prognosis and to propose the conduct specific therapy.

Keywords: *chromosomal changes, transretinoic acid (ATRA), arsenic trioxide.*

INTRODUÇÃO

As Leucemias Mieloides Agudas (LMA) constituem um grupo heterogêneo de doenças caracterizado pela expansão clonal de progenitores hematopoéticos imaturos na medula óssea levando ao bloqueio da hematopoese normal. Alterações genéticas foram identificadas na maioria dos casos de LMA e a análise da genômica funcional levou à elaboração de modelos fisiopatológicos distintos para os subtipos de LMA, os quais, por sua vez, foram base para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas (JÁCOMO et al., 2008).

Entre as LMAs, a Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é um subgrupo com achados biológicos e clínicos peculiares. Está associada a uma síndrome hemorrágica que já era conhecida por hematologistas franceses desde 1949. Em 1957, Hillestad a descreveu como um subtipo distinto de LMA, caracterizado pela presença de promielócitos, hipofibrinogenemia e hemorragia. Ocorre em, aproximadamente, 10 a 15% dos adultos com diagnóstico de LMA e idade média de 40 anos, que é considerada mais baixa do que a idade média dos pacientes com outros tipos de LMAs (70 anos) (LÖWENBERG et al., 2003). Afeta 3 a 10% dos casos de crianças com LMA que apresentam, predominantemente, idade mais avançada, sexo feminino, baixa contagem leucocitária e frequentes problemas de coagulação (MARTINEZ-CLIMENT, 1997).

Devido a isso e pelo fato de que, nos últimos anos, há uma grande produção de conhecimentos com as bases moleculares das neoplasias humanas, o que contribui fundamentalmente para o desenvolvimento de novos protocolos clínicos e terapêuticos, objetiva-se, neste trabalho, demonstrar uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares que intervêm na LPA, além de mostrar a importância da análise genética e de suas técnicas para obtenção de um diagnóstico rápido e específico, bem como propor o prognóstico e a conduta terapêutica específica.

METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado a partir da leitura de artigos científicos referentes ao tema Leucemia Promielocítica Aguda (LPA), a fim de compreender mecanismos moleculares que intervêm na LPA, além de mostrar a importância da análise genética e de suas técnicas para obtenção de um diagnóstico rápido e específico, bem como propor o prognóstico e a conduta terapêutica específica. As palavras-chave para a busca desses artigos foram: leucemia promielocítica aguda, alterações cromossômicas, ácido transretinoico, trióxido de arsênico. Os sites de busca foram Google Acadêmico, Scielo e Pubmed. Após a leitura, foram retirados dos textos trechos específicos contemplando o objetivo do trabalho.

CARACTERIZAÇÃO, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA

A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é uma neoplasia maligna caracterizada por uma diferenciação anormal das células mielocíticas. É desencadeada por uma translocação recíproca dos cromossomos t(15,17) que provoca a fusão dos genes PML (gene da Leucemia Promielocítica) e RAR α (gene receptor de ácido retinóico) que resulta na síntese de uma oncoproteína quimérica PML/RAR α . Essa proteína atua bloqueando a diferenciação mielocítica, mas permitindo a maturação de mielócitos na presença de níveis farmacológicos de ácido retinóico (GARCÍA et al., 2006).

A descrição morfológica inicial da LPA enfatizava a presença, na medula óssea, de células blásticas hipergranulares semelhantes aos promielócitos. Embora o termo “leucemia promielocítica” tenha sido amplamente aceito desde 1957, alguns autores acham que não é o mais apropriado, uma vez que as células da LPA são morfológicamente diferentes dos promielócitos normais (SAINTY et al., 2000).

A LPA corresponde aos subtipos M3 e M3 variante (M3v) de leucemia mieloide aguda, segundo a classificação Franco Américo Britânica (FAB), e ao subtipo leucemia mieloide aguda (LMA), associada à translocação entre os cromossomos 15 e 17, t(15;17), e variantes segundo a classificação da Organização Mundial de Saúde das Neoplasias Mieloides (SANTOS et al., 2004).

Esse tipo de leucemia apresenta morfologia celular característica com promielócitos anormais, núcleo excêntrico, abundantes granulações no citoplasma. Caracteriza-se, também, pela presença de múltiplos bastonetes de Auer no citoplasma, formando feixes, dando a essas células a denominação de “Faggot cells” (células com maços ou feixes) (SAGRILLO et al., 2005).

Estudos de marcadores de superfície mostram que as células da LPA têm um padrão distinto quando comparado a outras LMAs. Ocorre alta expressão de antígenos mielomonocíticos (CD13, CD15 e CD33) e ausência de expressão de antígenos monocíticos (CD14, incluindo My4, Leu M3 e Mo2) e HLA-DR. Em cerca de 90% dos casos, está associada à translocação t(15;17)(q22;q21), que resulta na fusão dos genes PML e RAR α identificada por Rowley et al., em 1977, mas com definição dos pontos de quebra só em 1984 (SAGRILLO et al., 2005).

A t(15;17) promove a fusão dos genes PML, um fator transcricional da linhagem mieloide, no cromossomo 15, com o gene que codifica o receptor ALFA nuclear do ácido retinóico (RAR α), no cromossomo 17 (JÁCOMO et al., 2008). Devido à translocação no cromossomo 15, se gera um gene quimérico PML/RAR α , enquanto no cromossomo 17 se forma o RAR α /PML (RAMÍREZ, 1995). O mRNA da primeira está presente em todos os portadores da t(15;17), enquanto que os transcritos da segunda só ocorrem em 2/3 dos pacientes (KASTNER et al., 1992; WARREL et al., 1993). O resultado desse rearranjo cromossômico é a desregulação do receptor ALFA do ácido retinoico que é crucial nessa etapa de diferenciação da linhagem mieloide. Como consequência, há a parada de maturação da célula nesse estágio seguida da proliferação descontrolada, possivelmente gerada por outro evento genético ainda desconhecido (GARICOCHEA, 1999).

Na t(15;17), a quebra do cromossomo 17 sempre ocorre no 2º íntron do RAR α e, em todos os casos de LPM, o componente a partir desse gene é sempre o mesmo na proteína PML/RAR α e corresponde desde a região B a região F. Portanto, a proteína híbrida retém todas as funções correspondentes a essas regiões do RAR α (RAMÍREZ, 1995).

Ao contrário do que acontece no cromossomo 17, a quebra do cromossomo 15 pode ocorrer em três locais diferentes do gene PML denominados Bcr1, Bcr2 e Bcr3, respectivamente. Aproximadamente em 45% dos casos, a ruptura ocorre no Bcr1 localizado no íntron 6 do gene, apenas 10%, aproximadamente, ocorre no Bcr2, localizado dentro do éxon 5, e os 45% restantes ocorrem no Bcr3, localizado no íntron 3 (RAMÍREZ, 1995). A correlação entre os pontos de quebra, achados clínico-biológicos, diagnóstico e resposta à terapia dos pacientes tem sido investigada em vários estudos (LO, COCO et al., 1999).

Em raros casos de LPA, o RAR α está fusionado a outros parceiros: o PLZF (do inglês, *Promyelocytic Leukemia Zinc Finger*), NPM (do inglês, *Nucleophosmin*), NuMA (do inglês, *Nuclear Mitotic Apparatus*) e Stat5b (do inglês, *Signal Transducer and Activator of Transcription*), decorrentes de translocações entre o cromossomo 17 e os cromossomos 11, 5, 11 e 17, respectivamente. Assim,

pacientes com LPA resistente ao tratamento com ATRA podem ser portadores da t(11;17) – PLZF/RAR α (JÁCOMO et al., 2008).

Alterações adicionais a t(15;17) são detectadas em 25-40% dos pacientes com LPA. Há grande predominância da trissomia do cromossomo 8 seguida por alterações envolvendo o cromossomo 17 [especialmente ider(17)], o cromossomo 9 [particularmente del(9q)] e o cromossomo 7 [principalmente del(7q)]. A tetraploidia é extremamente rara em LPA e, nos casos descritos, observam-se uma ou duas t(15;17) (AU et al., 1999; KOJIMA et al., 2003).

A significância prognóstica das anomalias cromossômicas adicionais a t(15;17) permanece incerta. Enquanto alguns relatos mostram associação com prognóstico desfavorável (HIORNS et al., 1997), outros sugerem um melhor prognóstico (SLACK et al., 1997) e outros, ainda, não encontram associação entre alterações cromossômicas secundárias e prognóstico (SCHOCH et al., 1996; GRIMWADE et al., 1998; BOTTON et al., 2000).

Na maioria dos casos, os pacientes apresentam sintomas relacionados à anemia, trombocitopenia, organomegalia e distúrbios da coagulação. A primeira manifestação clínica em LPA é a leucopenia e, na variante da LPA, é a leucocitose. Outras características menos frequentes são observadas em 15% a 20% dos pacientes e infiltração no sistema nervoso central e na pele são achados raros (SAGRILLO et al., 2005).

A morbidade e a mortalidade são significamente relacionadas à coagulopatia. Muitos pacientes morrem devido à hemorragia, especialmente intracraniana ou intrapulmonar. A incidência dessa hemorragia varia de 8% a 47% (WARREL et al., 1993) e a mortalidade é de 10% entre aqueles pacientes tratados (LO, COCO et al., 1999). Promielócitos malignos revelam substâncias pró-coagulantes que ativam a cascata de coagulação, geralmente trombinas, liberam fibrinogênio, fatores de coagulação e plaquetas. Em razão dessa reação, os pacientes com LPA mostram coagulação intravascular disseminada (CIVD), fibrinólise e proteólise (WARREL et al., 1993; TALLMAN, 1999).

Clinicamente, difere das outras LMAs por estar associada à coagulopatia em cerca de 60% a 90% dos pacientes, a principal responsável pelas altas taxas de mortalidade (JÁCOMO et al., 2008).

A LPA tem o melhor prognóstico entre as leucemias agudas dos adultos. Os esquemas quimioterápicos bem como as orientações de seguimento já são bem estabelecidos na literatura e acessíveis para o médico habituado ao tratamento antineoplásico (JÁCOMO et al., 2008).

O hemograma geralmente evidencia pancitopenia e, quando há leucocitose, ela costuma ser discreta. Blastos com morfologia de promielócitos, assim como evidências de anemia microangiopática (esquizócitos), podem ser vistos na lâmina de sangue periférico. O mielograma evidencia infiltração maciça por promielócitos neoplásicos, que se coram fortemente à reação da mieloperoxidase e ao Sudan Black. Dois subtipos morfológicos podem ocorrer: o padrão hipergranular (ou subtipo FAB M3 clássico) e o microgranular (ou subtipo FAB M3 variante ou hipogranular), este último corresponde a 25% dos casos. A forma clássica se caracteriza pela presença de promielócitos anormais com granulação azurofílica abundante, núcleo irregular e bastonetes de Auer, que frequentemente se organizam em feixes, caracterizando as chamadas células de *Faggot*. Na variante hipogranular, geralmente associada à leucocitose, observa-se grande número de blastos com núcleos bilobulados ou reniformes e granulação citoplasmática discreta. Pode haver a coexistência de blastos hipergranulares típicos em menor número. Há, ainda, uma forma hiperbasofílica rara, na qual as células leucêmicas têm alta relação núcleo-citoplasmática e citoplasma fortemente basofílico com granulação esparsa ou ausente (JÁCOMO et al., 2008).

O diagnóstico de certeza exige a demonstração das alterações cromossômicas específicas, quer por métodos de citogenética, quer por técnicas de biologia molecular. Entretanto, a citomorfologia e a imunofenotipagem contribuem significativamente para o diagnóstico (SANTOS et al., 2004).

A análise citogenética tradicional tem sido utilizada para confirmar o diagnóstico morfológico da LPA. Embora a t(15;17) não seja detectada em outros tipos de leucemia, podem ocorrer resultados “falso-negativos” decorrentes da análise de células que não pertencem ao clone neoplásico, da dificuldade de visualização da translocação ou, até mesmo, da existência de rearranjos críticos que mascaram a translocação (SAGRILLO et al., 2005).

A confirmação diagnóstica deve ser feita por técnicas capazes de detectar a t(15;17) ou o gene híbrido PML-RAR α . Citogenética convencional, hibridização por sondas de fluorescência *in situ* (FISH, do inglês *Fluorescence in situ hybridization*) e reação em cadeia de polimerase por transcriptase reversa (RT-PCR) são opções disponíveis (JÁCOMO et al., 2008).

A RT-PCR (reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa) é uma técnica da biologia molecular que permite a amplificação de pequenas sequências do DNA a partir do mRNA através do uso de oligonucleotídeos iniciadores (primers), que flanqueiam a região-alvo em meio a uma alternância de temperaturas que permitem a desnaturação da dupla fita de DNA, a anelação

dos primers e extensão da cópia realizada pela enzima Taq DNA polimerase recombinante. Uma reação positiva ao diagnóstico da LPA permite definir o ponto de quebra específico do gene PML e é de grande valia para monitorar o tratamento (LO, COCO et al., 1999). Entretanto, em cerca de 10% dos casos, há discordância entre os achados morfológicos e os resultados da reação de PCR, havendo a necessidade de uma avaliação conjunta de técnicas diagnósticas para uma conduta adequada do tratamento (ORFAO et al., 1999).

A técnica de FISH tem menor sensibilidade que a RT-PCR, porém é mais específica (JÁCOMO et al., 2008). Ela permite a visualização de sequências específicas de ácidos nucleicos, no caso os genes PML e RARA em cromossomos metafásicos ou núcleos interfásicos (PINKEL et al., 1986). O método envolve o anelamento preciso de uma sonda de fita simples de DNA, marcada com fluorocromos ou com haptenos, às sequências-alvo complementares. Elas são reconhecidas posteriormente por anticorpos conjugados a fluorocromos quando marcadas por haptenos. A hibridação da sonda com o DNA é visualizada por detecção direta, utilizando microscópio equipado com epiluminação e filtros específicos para fluorescência. O método é capaz de detectar anormalias cromossômicas numéricas e estruturais, incluindo rearranjos complexos e microdeleções, confirmando a caracterização de aberrações cromossômicas detectadas pela citogenética clássica e definindo aquelas cuja resolução não pode ser alcançada por essa análise. Além de ser um procedimento rápido, pode auxiliar o diagnóstico demonstrando o rearranjo gênico com precisão, tornando-se um importante auxiliar no diagnóstico de neoplasias humanas devido à sua alta sensibilidade, rapidez e especificidade. Permite, também, detectar múltiplas regiões-alvo simultaneamente, utilizando sondas designadas para identificar cromossomos e suas regiões, possibilitando, além disso, a detecção de anomalias maiores, como as aneuploidias (RAIMOND, 2000).

A técnica de FISH permite a visualização de sequências específicas de ácidos nucleicos, no caso os genes PML e RAR α em cromossomos metafásicos ou núcleos interfásicos. Essa técnica pode ser aplicada para determinar a origem clonal das leucemias, monitoramento da eficácia da terapia no tratamento, detectar a presença de doença residual mínima seguindo a terapia, identificar recaída da doença, detectar anomalias cromossômicas numéricas, bem como amplificação e deleção de genes (SAGRILLO et al., 2005).

Outra opção atualmente disponível é a imunofluorescência com anticorpos anti-PML (PGM3). Esse anticorpo se liga à proteína PML que se localiza em estruturas denominadas *nuclear bodies*. Nos pacientes portadores do rearranjo PML-RAR α , a PML se encontra redistribuída e observa-se, à microscopia, um

padrão microparticulado. A imunofluorescência é útil para o rápido diagnóstico, particularmente onde não se dispõe de métodos moleculares, porém não deve substituir a confirmação molecular (JÁCOMO et al., 2008).

Estima-se que até 80% dos pacientes com diagnósticos de leucemia promielocítica realizados hoje estarão vivos e livres de doença nos próximos dois anos (GARICOCHEA, 1999).

As taxas de cura obtidas nessa doença, inimagináveis há dez anos, são o resultado de conhecimentos acumulados em genética molecular e no desenvolvimento de drogas que exercem seu efeito antitumoral promovendo a diferenciação celular ao invés de ações citotóxicas diretas (GARICOCHEA, 1999).

O tratamento da LPA sofreu importantes modificações nos últimos 20 anos e difere dos esquemas utilizados para as demais LMAs. O maior impacto no tratamento da LPA foi, sem dúvida, a demonstração de que o ácido Trans-Retinoico (ATRA), em doses farmacológicas, permite a progressão da diferenciação celular. Dessa forma, o clone leucêmico progride na maturação mieloide, tornando-se suscetível aos mecanismos de morte celular (JÁCOMO et al., 2008).

O tratamento com ATRA deve ser iniciado imediatamente diante da suspeita morfológica, mesmo antes da confirmação genética do diagnóstico, pois leva à melhora da coagulopatia e diminuição do risco de sangramento grave. Apesar de seu uso como monoterapia levar à remissão hematológica, todos os pacientes apresentam recaída. Assim, exceto para os pacientes com alguma contraindicação clínica ao uso de antracíclicos, a indução deve consistir da sua administração associada ao ATRA (JÁCOMO et al., 2008).

Com o esquema combinado (ATRA e antracíclico), alcança-se remissão molecular em até 99% dos pacientes, com sobrevida livre de doença de 90% aos cinco anos do diagnóstico. O tratamento é usualmente dividido em três fases: indução de remissão, consolidação e manutenção. As duas primeiras são fundamentadas no uso de ATRA e algum antracíclico, enquanto que a última é composta de ciclos de ATRA associado à metotrexate e mercaptopurina em baixas doses (JÁCOMO et al., 2008).

O mecanismo de ação da droga proposto é a indução à diferenciação dos precursores leucêmicos em células maduras. O ATRA exerce um efeito negativo no complexo PML/RARA, quebrando a proteína quimérica além do complexo nuclear diacetil-histona (PINHEIRO et al., 1992).

Apesar da excelente resposta ao ATRA em pacientes com LPA associada ao PML-RAR α , os portadores de outras translocações envolvendo o RARA apresentam sensibilidade variável à medicação. Nesses grupos, outras opções devem

ser buscadas para o tratamento, como o arsênico e outros agentes diferenciadores (JÁCOMO et al., 2008).

O ATRA tem sido bem tolerado, exceto pelo desenvolvimento de uma síndrome denominada ATRA (Frankel et al., 1992), que consiste de febre, insuficiência respiratória e infiltrado pulmonar. A Síndrome ATRA é, hoje, o principal efeito colateral do uso do ATRA no tratamento da LPA (PINHEIRO et al., 1992).

Atualmente, a alternativa mais utilizada para os casos de recaída é o tratamento com trióxido de arsênico (ATO) (JÁCOMO et al., 2008). Em altas doses, leva à apoptose, enquanto baixas doses promovem a diferenciação celular. A droga tem três mecanismos de ação principais: 1) produção de produtos reativos do oxigênio que induzem a fosforilação e ativação da via da Jun N-terminal kinase (JNK), desencadeando apoptose; 2) fosforilação e sumolização do PML-RAR α levando à sua degradação; e 3) inibição da transcrição do *hTERT* e consequente diminuição da atividade da telomerase, levando à fusão cromossômica e à apoptose.

O ATO (trióxido de arsênico) é administrado por via intravenosa e apresenta meia vida de 30 dias, com baixa toxicidade se comparado à quimioterapia convencional, representada por desconforto gastrointestinal, elevação de enzimas hepáticas, neuropatia, hiperglicemia, arritmias cardíacas e síndrome de diferenciação semelhante à síndrome ATRA. O esquema para tratamento da recaída inclui um primeiro ciclo de indução com 0.15 mg/kg/dia até obtenção de remissão completa ou 50 dias de tratamento, seguido de dois ciclos de consolidação com a mesma dose de ATO por cinco dias durante cinco semanas. A taxa de remissão molecular obtida com a terapia isolada é de, aproximadamente, 86%, com sobrevida de 77% em três anos. A complementação do tratamento pode ser feita com TMO (transplante de medula óssea) alogênico para os pacientes com doador HLA idêntico ou autólogo, sendo, nesse último caso, mandatória a negatividade do RT-PCR antes do procedimento (JÁCOMO et al., 2008).

Existem poucos relatos recentes de transplante de medula óssea ou de células tronco de sangue periférico (autólogo ou alogênico) após primeira remissão uma vez que os tratamentos com ATRA têm melhor efeito. Essa conduta tem sido aplicada em pacientes que recaem após a segunda remissão ou que não apresentam remissão molecular (LÖWENBERG et al., 2003).

CONCLUSÕES

O tratamento da LPA com o ATRA demonstra-se muito efetivo e com uma excelente resposta inicial, observando-se remissão nos primeiros dois meses de tratamento. No entanto, o desenvolvimento de resistência a esse

fármaco tornou-se uma complicação de rotina e o maior problema associado ao tratamento. Como o estudo verificou, a Síndrome ATRA é, hoje, o principal efeito colateral do uso do ATRA no tratamento da LPA. Por isso, a busca de terapias alternativas propôs a utilização de trióxido de arsênio no tratamento da doença.

Nesses casos, 90% dos pacientes atingem uma segunda remissão completa e 73% remissão molecular. Ainda são poucos os relatos de casos recém diagnosticados tratados com trióxido de arsênico, mas os resultados obtidos tornam a terapia atraente. Interessante notar que essa droga induz apoptose não só em pacientes sensíveis ao ATRA, mas também nos que apresentam resistência ao ATRA (LAFAYETTE et al., 2003).

Isso mostra que a combinação de agentes citotóxicos, drogas diferenciadoras e estimulantes de vias apoptóticas distintas podem modificar a história da quimioterapia nos próximos anos, produzindo esquemas de tratamento menos tóxicos e mais eficientes, desenhados especificamente em função do defeito genético/molecular envolvido na biologia de cada tumor.

REFERÊNCIAS

AU, W. Y. et al. Tetraploid acute promyelocytic leukemia with large bizarre blast cell morphology. **Cancer Genet. Cytogenet**, v. 115, p. 52-55, 1999.

BOTTON, S. et al. Additional chromosomal abnormalities in patients with acute promyelocit leukaemia (APL) do not confer poor prognosis: results pf APL 93 trial. **Br. J. Haematol.**, v. 111, p. 801-806, 2000.

GARCÍA, R. R. et al. Evaluación de la citotoxicidad del trióxido de arsênio em líneas celulares tumorales humanas com la técnica colorimétrica de la sulforhodamina B. **Rev. Cubana Med.**, v. 45, n. 1, 2006.

GARICOHEA, B. Trióxido de Arsênio em Leucemia Promielocítica: cada vez mais próximo da cura. **Rev. Soc. Bras. Cancerol.**, v. 2, n. 5, p. 10-11, 1999.

GRIMWADE, D. et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. **Blood**, v. 92, p. 2322-2333, 1998.

HIORNS, L. R. et al. Additional chromosome abnormalities confer worse prognosis in acute promyelocytic leukaemia. **Br. J. Haematol.**, v. 96, p. 314-321, 1997.

JÁCOMO, R. H.; FIGUEIREDO-PONTES, L. L.; REGO, E. M. Do paradigma molecular ao impacto no prognóstico: uma visão da leucemia promielocítica aguda. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 54, n. 1, 2008.

KASTNER, P. et al. Structure, localization and transcriptional properties of two classes of retinoic acid receptor alpha fusion proteins in acute promyelocytic leukemia (APL): structural similarities with a new family of oncoproteins. **EMBO. J.**, v. 11, p. 629-642, 1992.

KOJIMA, K. et al. Hipocellular acute promyelocytic leukemia with a tetraploid clone characterized by two 9(15;17). **Cancer Genetic Cytogenet.**, v. 145, p. 169-171, 2003.

LAFAYETTE, T. S. et al. Uso de trióxido de arsênio em crianças recidivadas de leucemia promielocítica aguda (LPMA). **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, 2003.

LO, COCO. F. et al. Genetic diagnosis and molecular monitoring in the management of acute promyelocytic leukemia. **Blood**, v. 94, p. 12-22, 1999.

LÖWENBERG, B.; GRIFFIN, J. D.; TALLMAN, M. S. Acute myeloid leukemia and acute promyelocytic leukemia. **Hematology.**, v. 2003, p. 82-101, 2003.

MARTINEZ-CLIMENT, JA. Molecular cytogenetics of childhood hematological malignancies. **Leukemia**, v. 11, p. 1999-2001, 1997.

ORFAO, A. et al. The flow cytometric pattern of CD34, CD15 and CD13 expression in acute myeloblastic leukemia is highly characteristic of the presence of PML-RARA gene rearrangements. **Haematologica**, v. 84, p. 405-412, 1999.

PINHEIRO, R. F. et al. Síndrome ATRA: experiência de 10 anos. **Rev. Brás. Cancerol.**, v. 49, n. 1, p. 27-31, 2003.

PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. Cytogenetic analysis using quantitative high sensitivity fluorescence hybridization. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 83, p. 2934-2938, 1986.

RAIMOND, S. C. Fluorescence in situ hibridization: Molecular probes for diagnosis of pediatric neoplastic diseases. **Cancer Investigation**, v. 21, p. 2326-2334, 2000.

RAMÍREZ, P. H. Alteraciones moleculares em las leucemias agudas. **Rev. Cubana Hematol., Immunología y Hemoterapia**, 1995.

ROWLEY, J. D. et al. Further evidence for a non-random chromosomal a acute promyelocytic leukemia. **Int. J. Cancer**, v. 20, p. 869-872, 1977.

SAGRILLO, M. R. et al. Leucemia promielocítica aguda: caracterização de alterações cromossômicas por citogenética tradicional e molecular (FISH). **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 27, n. 2, 2005.

SAINTY, D. et al. A new morphologic classification system for acute promyelocytic leukemia distinguishes cases with underlying PLZF/RARA gene rearrangements. Group Francais de Cytogenetique Hematologique, UK Cancer Cytogenetics Group and BIOMED 1 European Community-Concerted Action Molecular Cytogenetic Diagnosis in Haematological Malignancies. **Blood**, v. 96, p. 1287-1296, 2000.

SANTOS, F. L. S. et al. Características hematológicas e perfil de expressão de antígenos mielóides de pacientes com leucemia promielocítica aguda. Análise de fatores prognósticos para o desenvolvimento da síndrome do ácido retinóico. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 50, n. 3, 2004.

SCHOCH, C. et al. Incidence and implication of additional chromosome aberrations in acute promyelocytic leukaemia with translocation t(15;17) (q22;q21): a report on 50 patients. **Br. J. Haematol.**, v. 94, p. 493-500, 1996.

SLACK, J. L. et al. Secondary cytogenetic changes in acute promyelocytic leukemia – prognostic importance in patients treated with chemotherapy alone and association with the intron 3 breakpoint of the PML gene: a Cancer and Leukemia Group B study. **J. Cl. Oncol.**, v. 15, p. 1786-1795, 1997.

TALLMAN, M. S. Therapy of acute promyelocytic leukemia: all-trans retinoic acid and beyond. **Leukemia**, v. 12, p. 37-40, 1999.

WARREL, R. P. Jr.; De The WANG, Z.; DEGOS, L.. Acute promyelocytic leukemia. **N. Engl. J. Med.**, v. 329, p. 177-189, 1993.