

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA

CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE PACIENTES  
COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA ATENDIDOS EM  
SERVIÇOS DE ONCOHEMATOLOGIA PEDIÁTRICA  
DO RIO GRANDE DO SUL NOS ÚLTIMOS 10 ANOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MERIENE VIQUETTI DE SOUZA

Porto Alegre, Brasil

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE PACIENTES  
COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA ATENDIDOS EM  
SERVIÇOS DE ONCOHEMATOLOGIA PEDIÁTRICA  
DO RIO GRANDE DO SUL NOS ÚLTIMOS 10 ANOS**

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

**Orientadora: Liane Esteves Daudt**

Porto Alegre, Brasil

2018

CIP - Catalogação na Publicação

Viquetti de Souza, Meriene  
AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE PACIENTES COM LEUCEMIA  
MIELÓIDE AGUDA ATENDIDOS NOS SERVIÇOS DE  
ONCOHEMATOLOGIA PEDIÁTRICA NO SUL DO BRASIL NOS  
ÚLTIMOS 10 ANOS / Meriene Viquetti de Souza. -- 2017.  
42 f.  
Orientador: Liane Esteves Daudt.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente,  
Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Hematologia pediátrica. 2. Leucemia Mielóide.  
I. Esteves Daudt, Liane, orient. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE  
DE MEDICINA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA  
CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

ESTA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

9 / janeiro / 2018

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

**Profa. Dra. Lúcia Mariano da Rocha Silla**

Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul /

Serviço de Hematologia Clínica, HCPA

**Profa. Dra. Mariana Bohns Michalowski**

Departamento de Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Serviço de

Oncologia Pediátrica, HCPA

**Dra. Christina Matzenbacher Bittar**

Serviço de Hematologia Clínica, HCPA

A meu marido Juliano.

Obrigada do fundo do meu coração!

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

A Prof.<sup>a</sup> Dra. Liane Esteves Daudt, minha professora, obrigada pela confiança.

A Prof.<sup>a</sup> Dra. Mariana Bohns Michalowski, obrigada pelo apoio.

Ao Dr. Adriano Taniguchi, obrigada pela dedicação e apoio dado.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Pós-Graduação da Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da UFRGS e ao Serviço de Hematologia Clínica e Unidade de Hematologia e TMO Pediátrica do HCPA por terem permitido a realização deste estudo.

Ao meu marido, meus pais e irmã que sempre me apoiaram em todos os meus desejos.

Ao Dr. Adriano Taniguchi e Dra. Fernanda Scherer por todo o conhecimento transmitido.

A Deus que é minha fortaleza.

Aos meus pacientes que são minha fonte de inspiração.

Obrigada.

## RESUMO

**Introdução:** A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é considerada uma doença rara na faixa etária pediátrica. Mesmo com os avanços nos estudos atuais, a taxa de cura é de cerca de 60-70%. Assim, mais estudos cooperativos e regionais são necessários para uma melhor avaliação e compreensão das características da doença, com o objetivo de melhorar o tratamento e o prognóstico das crianças afetadas. **Objetivo:** Descrever as características epidemiológicas e as taxas de sobrevida de pacientes com LMA, menores de 18 anos, em 5 hospitais de referência em onco-hematologia pediátrica do Rio Grande do Sul. **Método:** Estudo de coorte retrospectivo por meio de análise de prontuários. Incluídos todos os pacientes atendidos em serviços envolvidos de janeiro de 2005 a dezembro de 2015. **Resultados:** Dos 149 pacientes com LMA, 63,0% (n = 94) eram do sexo masculino. A mediana de idade ao diagnóstico foi de 10,5 anos (variação de 0 a 18 anos) e 40,3% (n = 60) apresentaram contagem de leucócitos abaixo de 50.000 / mm<sup>3</sup>. O subtipo mais comum de FAB foi M3 (n = 43, 28,9%). Nove (6,0%) pacientes apresentavam doença em sistema nervoso central. Nos pacientes com M3, a sobrevida global (SG) foi de 69,2% e a sobrevida livre de eventos em 3 anos (SLE) foi de 67,7%; em pacientes não M3, essas taxas foram de 45,3% e 36,7%, respectivamente. Em pacientes não M3, a SG foi significativamente diferente entre pacientes transplantados (61,8%) e não transplantados (38,2%) (p = 0,031). **Conclusões:** Nossos resultados mostram uma prevalência maior do subtipo FAB M3 do que a relatada na literatura internacional, assim como uma redução na SG em comparação com os países desenvolvidos. Portanto, ressaltamos a importância de estudos multicêntricos, incluindo um número maior de pacientes no Brasil, para que as características possam ser melhor identificadas e o tratamento otimizado em nossa população, a fim de melhorar a sobrevida.

**Palavras-chave:** Leucemia Mielóide Aguda, Criança, Epidemiologia.



## ABSTRACT

**Introduction:** Acute myeloid leukemia is considered a rare disease in the pediatric age group. Even with advances in current studies, the cure rate is around 60-70%. Thus, more cooperative and regional studies are needed for a better evaluation and understanding of the disease characteristics, aiming to improve the treatment and prognosis of the affected children. **Objective:** To describe epidemiological characteristics and survival rates of patients with Acute Myeloid Leukemia (AML), under 18y in 5 reference hospitals in pediatric oncology of Rio Grande do Sul. **Method:** A retrospective cohort study through medical records analysis. Included all patients attended at services involved from January 2005 to December 2015. **Results:** Of 149 patients with AML, 63.0% (n=94) were male. Median age at diagnosis was 10.5 years (range, 0-18 years), and 40.3% (n=60) had a white blood cell count below 50 000/mm<sup>3</sup>. The most common FAB subtype was M3 (n=43, 28.9%). Nine (6.0%) patients had central nervous system disease. In M3 patients, overall survival (OS) was 69.2% and 3-year event-free survival (EFS) was 67.7%; in non-M3 patients, these rates were 45.3% and 36.7%, respectively. In non-M3 patients, OS was significantly different between transplanted (61.8%) and non-transplanted patients (38.2%) (p=0.031). **Conclusions:** Our results show a higher prevalence of the FAB M3 subtype than that reported in the international literature, as well as a decreased OS compared with that of developed countries. This study is one of the few epidemiological assessments of childhood AML in Brazil. We emphasize the higher prevalence of FAB M3 subtype compared to the world literature. OS was lower compared to developed countries. Therefore, we pointed out the importance of multicenter studies, including a larger number of patients in Brazil, so that the characteristics can be better identified and treatment optimized in our population, in order to improve survival.

**Key words:** Acute Myeloid Leukemia, Childhood, Epidemiology.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Hematopoese .....	17
<b>Figura 2</b> – Estimativa do INCA 2017 de casos de Leucemia entre o público de 0-19 anos ...	20
<b>Figura 3</b> – Prevalência das mutações na leucemia mielóide em crianças .....	29

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Fatores de Risco para o desenvolvimento de Leucemia Mielóide Aguda e Síndromes Mielodisplásicas .....	19
<b>Tabela 2</b> – Classificação FAB* Leucemias Mielóides Agudas.....	30
<b>Tabela 3</b> – Classificação da OMS para as leucemias agudas .....	30
<b>Tabela 4</b> – Principais protocolos de tratamento LMA infantil e desfechos.....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIET	Bloco de indução quimioterápica Protocolo NOPHO: citarabina, etoposide, tioguanina e idarrubicina
AINH	Anti-inflamatório não-hormonal
AM	Bloco de indução quimioterápica Protocolo NOPHO: citarabina e mitoxantrone
AML	<i>Acute Myeloid Leukemia</i>
ASA	<i>American Society of Anesthesiologists</i>
BFM	<i>Berlin-Frankfurt-Münster</i>
CBF	<i>Core Binding Factor</i>
CD-33	<i>Cluster of differentiation 33</i>
CD-34	<i>Cluster of differentiation 34</i>
CD10	<i>Cluster of differentiation 10</i>
CD11b	<i>Cluster of differentiation 11b</i>
CD13	<i>Cluster of differentiation 35</i>
CD15	<i>Cluster of differentiation 15</i>
CD16	<i>Cluster of differentiation 16</i>
CD36	<i>Cluster of differentiation 36</i>
CD45	<i>Cluster of differentiation 45</i>
CD117	<i>Cluster of differentiation 117</i>
CD300	<i>Cluster of differentiation 300</i>
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
FAB	<i>French-American-British</i>
FLT3	<i>FMS-like Tyrosine Kinase 3</i>

GO	Gemtuzumabe Ozogamicina
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HLA-DR	<i>Human Leukocyte Antigen – antigen D Related</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
ITD	Duplicação Interna
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
MLL	<i>Mixed-lineage leukemia Gene</i>
MO	Medula Óssea
MPO	<i>Mieloperoxidase</i>
MCR AML 15	<i>United Kingdom Medical Research Council AML15 trial</i>
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
NOPHO	<i>Nordic Society of Pediatric Hematology And Oncology</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
RAS	<i>RAt Sarcoma virus gene</i>
RCBP	Registro de Câncer de Base Populacional
SBB	<i>Sudan Black B</i>
SEER	<i>Surveillance Epidemiology and End Results</i>
SG	Sobrevida global
SLE	Sobrevida livre de eventos
TCTH	Transplante de Célula Tronco Hematopoiética
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
2.1 HEMATOPOESE E A DIFERENCIAÇÃO MALIGNA DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS .....	16
2.2 CÂNCER INFANTIL E LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA NA INFÂNCIA .....	18
2.3 PADRÃO EPIDEMIOLÓGICO E DEMOGRÁFICO .....	19
2.4 APRESENTAÇÃO CLÍNICA.....	22
2.5 DIAGNÓSTICO .....	25
<b>2.5.1 Morfologia .....</b>	<b>25</b>
<b>2.5.2 Imunofenotipagem.....</b>	<b>25</b>
<b>2.5.3 Citogenética e genética molecular .....</b>	<b>27</b>
2.6 CLASSIFICAÇÕES FAB E WHO .....	29
2.7 FATORES PROGNÓSTICOS .....	31
<b>2.7.1 Fatores demográficos.....</b>	<b>31</b>
<b>2.7.2 Fatores citogenéticos.....</b>	<b>32</b>
2.8 TRATAMENTO.....	35
<b>3 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>37</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>38</b>
4.1 OBJETIVO PRINCIPAL.....	38
4.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS .....	38
<b>5 METODOLOGIA.....</b>	<b>39</b>
5.1 DELINEAMENTO .....	39
5.2 COLETA DE DADOS .....	39

5.3 VARIÁVEIS.....	39
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
<b>6 ASPECTOS ÉTICOS.....</b>	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>42</b>
<b>7 ARTIGO ORIGINAL .....</b>	<b>48</b>
<b>8 CONCLUSÕES.....</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer na infância e na adolescência (até 19 anos) representa entre 1% a 3% de todos os tumores malignos na maioria das populações. Segundo o *National Cancer Institute (NCI) Surveillance Epidemiology and End Results (SEER)*, estima-se que 5,1/100.000 menores de 18 anos desenvolveram câncer entre 2006 e 2010 e entre os adolescentes (15-19 anos) esta taxa seria de 4,6/100.000 (KAATSCH, 2010; RIES *et al.*, 1999; RIES *et al.*, 2007). Em menores de 14 anos, as leucemias agudas correspondem a 30% dos casos, sendo considerada a neoplasia maligna mais comum (RAVINDRANATH, 2003).

As leucemias linfoblásticas agudas correspondem a 80% das leucemias infantis. Já a leucemia mielóide aguda (LMA) é considerada uma neoplasia rara, correspondendo a 15-20% das leucemias agudas da infância (LINABERY; ROSS, 2008; HOWLADER *et al.*, 2012; HALL, 2001). Nos Estados Unidos, há aproximadamente 500-600 casos novos pediátricos de leucemia mielóide aguda/ano (RIES *et al.*, 1999; RIES *et al.*, 2007; SMITH *et al.*, 2010). Esta doença representa um desafio, visto que mesmo as melhorias de suporte clínico e tratamento, novas drogas e a possibilidade de realização de transplante de células tronco hematopoiéticas alogênico não foram suficientes para garantir taxas de cura superiores a 60% (RAVINDRANATH *et al.*, 2005).

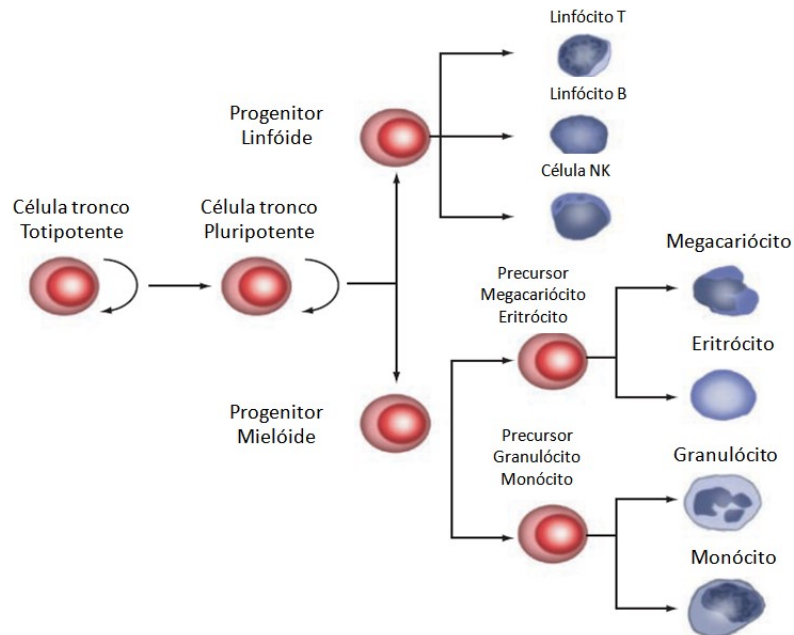
Até o momento existem poucos dados sobre a doença e a sobrevida das crianças por ela acometidas no Brasil (BRAGA *et al.*, 2002; VIANA *et al.*, 2003; LIMA *et al.*, 2016). Considerando-se a relativa baixa incidência (7/1.000.000/ano) (ZWAAN *et al.*, 2015) e o prognóstico não tão satisfatório, vários grupos colaborativos internacionais vêm unindo-se com o objetivo de analisar os fatores epidemiológicos, prognósticos e assim melhorar as estratégias de tratamento, objetivando aumento de sobrevida global e livre de doença (ZWAAN *et al.*, 2015). Nosso estudo busca traçar um perfil de apresentação, tratamento e resposta ao mesmo de crianças portadoras de LMA no estado do Rio Grande do Sul.



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 HEMATOPOESE E A DIFERENCIAÇÃO MALIGNA DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS

Todas as células hematopoéticas originam-se primariamente de uma única célula totipotente, a chamada célula tronco (*stem cell*), descrita pela primeira vez em 1961, pelos autores hoje considerados os “pais da ciência da célula tronco.” (MCCULLOCH; TILL, 1960; TILL; MCCULLOCH, 1961). Esta célula tem a capacidade de auto-renovação. Sob influência de fatores locais e humorais ela se diferenciará em células pluripotentes que possibilitarão a proliferação e diferenciação em larga escala. A célula progenitora linfóide dará origem aos linfócitos *natural killer*, T e B; enquanto a célula progenitora mielóide dará origem aos granulócitos, monócitos, eritrócitos e plaquetas (ARCECI; HANN; SMITH, 2006; THEML; DIEM; HAFERLACH, 2004).

**Figura 1 – Hematopoese**

Fonte: Modificado de Hoffman *et al.*, (2013)

Legenda: a Figura 1 mostra o processo de hematopoese; a maturação das linhagens celulares desde a célula tronco até as células maduras.

A parada ou alteração na diferenciação celular sanguínea pode ocorrer em qualquer uma das linhagens citadas, gerando uma proliferação monoclonal que apresenta um comportamento dito maligno: as leucemias. As “transformações” malignas que ocorrem nas leucemias agudas afetam os precursores hematopoiéticos, que geram as células chamadas blastos. Os blastos serão produzidos na medula óssea, mas com o progredir de sua ocupação medular podem ser liberados na circulação periférica. Neste último caso eles podem ser identificados em um simples hemograma. A infiltração medular pode comprometer a formação das demais linhagens, por isto frequentemente vê-se citopenias das demais linhagens no exame como resultado da substituição da hematopoese medular normal pelas células doentes (THEML; DIEM; HAFERLACH, 2004).

## 2.2 CÂNCER INFANTIL E LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA NA INFÂNCIA

O câncer infantil representa no Brasil, e na maioria dos países desenvolvidos, a primeira causa de morte por doença. Todos os cânceres, sejam eles em adultos ou crianças, caracterizam-se por um processo não fisiológico e não benéfico complexo, resultando em expansão celular clonal. (GREAVES; MALEY, 2012; GREAVES, 2015).

Existem diferenças entre o câncer infantil e o câncer em adultos. A principal diferença encontra-se nos tipos de tecidos envolvidos e nos fatores de risco. Nos adultos, comumente os cânceres estão envolvidos com estilo de vida e exposição prolongada aos mesmos. Nas crianças, ocorre com maior frequência surgimento accidental, sem exposição a fatores de risco, envolvendo então tecidos embriogênicos ou fetais, ou células tronco e progenitoras. (MARIS; DENNY, 2002).

A leucemia mielóide aguda corresponde a um conjunto de doenças heterogêneas, caracterizado por apresentar uma proliferação clonal das células mielóides e/ou seus precursores. Apesar de a leucemia aguda representar o câncer infantil mais prevalente, apenas 18% dos casos corresponde ao subtipo mielóide. Mesmo com as terapias existentes, aproximadamente 50% dos pacientes irão sofrer recaídas (RAVINDRANATH *et al.*, 2005). A etiologia da doença vem sendo cada vez mais estudada. Diversos fatores de risco vêm sendo apontados, porém, nas crianças, vê-se que a maioria dos pacientes com diagnóstico novo de LMA não apresenta nenhuma destas condições (Tabela 1). Alterações cromossômicas pontuais ou mesmo maiores ocorrem durante a expansão celular das células hematopoiéticas progenitoras ou mesmo na célula tronco (ORKIN *et al.*, 2015) causando modificações carcinogênicas.

**Tabela 1** – Fatores de Risco para o desenvolvimento de Leucemia Mielóide Aguda e Síndromes Mielodisplásicas

Tipo de Exposição	Exposição Neonatal	Exposição ambiental	Condições hereditárias	Desordens Adquiridas
Fatores de Riscos	Álcool	Radiação ionizante	Síndrome de Down	Anemia aplásica
	Pesticidas*	Agentes quimioterápicos	Síndrome de Noonan	Hemoglobinúria Paroxística Noturna
	Infecções virais	Agentes alquilantes	Neurofibromatose	Leucemia Mielomonocítica Juvenil
		Antracíclicos	Síndrome de Bloom	
		Benzeno	Síndrome de Kostmann	
		Pesticidas*	Síndrome de Swachman- Diamond	
		Infecções virais*	Klinefelter	
* dados conflitantes ou limitados				

Fonte: Adaptada de Orkin *et al.*, (2015)

Legenda: A Tabela 1 mostra os principais fatores de risco envolvidos no desenvolvimento da leucemia mielóide em crianças.

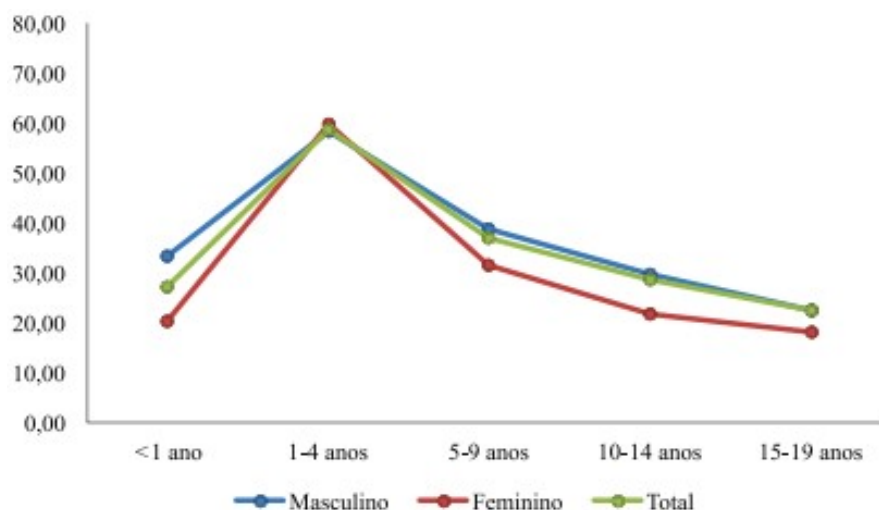
### 2.3 PADRÃO EPIDEMIOLÓGICO E DEMOGRÁFICO

O câncer infantil corresponde a cerca de 3% do total dos casos de neoplasias em todo o mundo e sua etiologia ainda hoje é pouco conhecida (CURADO *et al.*, 2002; KAATSCH, 2010). Ele é atualmente uma das principais causas de óbito em menores de 15 anos, principalmente após redução da mortalidade por doenças transmissíveis, a nível mundial (BOSETTI *et al.*, 2010). Nos Estados Unidos já é a segunda causa de morte na faixa etária pediátrica, perdendo apenas para os acidentes (GREENLEE *et al.*, 2001; LITTLE, 1999). Desses óbitos, as leucemias representam a maior causa, sendo responsáveis por 39% das mortes por neoplasia na Europa e por 50% nas Américas, Oceania e Ásia (BOSETTI *et al.*, 2010).

Segundo Linabery e Ross, 2008, desde 1990 a incidência de neoplasia na infância varia entre 70 e 160 casos por milhão de habitantes com idade inferior a 15 anos nos Estados Unidos e na Europa (LINABERY; ROSS, 2008). No Brasil, existe o Registro de Câncer de

Base Populacional (RCBP) em diversas capitais do país e tem o objetivo de mensurar a incidência dos cânceres, incluindo o infantil, organizada pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA). Na estimativa 2017, a incidência de câncer infantil em crianças e adolescentes entre 10-19 anos, no Brasil, no ano em questão, variou entre aproximadamente 100 a 180 casos/milhão de crianças, apresentando dois picos, de 1-4 anos e outro entre 15-19 anos. Já a incidência de leucemia na mesma faixa etária variou de 20-60 casos/ milhão, sendo o pico entre 1-4 anos (INCA, 2017, p. 75).

**Figura 2** – Estimativa INCA 2017 de casos de Leucemia entre o público de 0-19 anos



Fonte: INCA (2017, p. 75)

Legenda: A Figura 2 mostra a estimativa do Instituto Nacional de Câncer de casos de Leucemia a cada 1 milhão de crianças e adolescentes, segundo faixa etária e sexo.

Ainda, em outro estudo realizado pelo INCA, houve comparação da mortalidade por câncer infantil nas cinco regiões demográficas do país (Norte, Nordeste, Sul, Sudeste e Centro-Oeste). Ao ser analisado o padrão de distribuição da mortalidade quanto ao sexo e faixa etária, houve declínio em menores de 20 anos no período de 1981 a 2008. Esse fato pode ser explicado pela melhora nas terapias do câncer infantil. No sexo masculino, observaram-se taxas mais elevadas de mortalidade. Nas regiões Norte e Nordeste houve aumento da mortalidade pela doença; enquanto nas regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste ocorreu um

declínio. Essa diferença pode ser explicada pelo acesso ao diagnóstico e tratamento que pode ser mais difícil nas regiões mais pobres do país (SANTOS; ECHENIQUE; TEIXEIRA, 2010).

As características dos cânceres infantis divergem das de adultos e observam-se principalmente tumores embrionários e originários do sistema nervoso central, reticuloendotelial, do tecido conectivo e de vísceras, enquanto que tumores epiteliais são raríssimos em menores de 15 anos (FUNDAÇÃO ANTÔNIO PRUDENTE, 2016). A faixa etária entre 0 e 4 anos é a mais propensa ao desenvolvimento de câncer, principalmente leucemias e tumores sólidos (PETRILLI *et al.*, 1997).

A nível mundial, como já dito, as leucemias agudas representam o principal câncer infantil. Entretanto, na África, as leucemias são predominantes apenas em dois países (Argélia com 37% e Zimbábue com 21%) e nos demais responde apenas a 10% a 15% dos tumores dessa faixa etária. Prevalências superiores a 40% foram encontradas na Costa Rica (42%), no Equador (45%), em Hong Kong (41%) e nas Filipinas (48%) (WILLIAMS, 2014; ZWAAN *et al.*, 2015; KAATSCH, 2010).

No Brasil, há poucos estudos de incidência quando nos referimos apenas às leucemias mielóides na infância. Estima-se que ocorram 400 casos por ano no país (INCA, 2017).

Um estudo envolvendo apenas pacientes de 0-5 anos avaliando dados de 1999-2010, encontrou uma incidência de leucemias descritas como não LLA (envolvendo também síndromes mielodisplásicas) variando de 10,65 a 18,32 casos/1.000.000 crianças, conforme a faixa etária. Outro achado importante encontrado neste estudo foi que a razão de incidência entre pacientes com LLA/ não LLA aumenta conforme a faixa etária aumenta, sendo que nos pacientes de 0-11 meses esta razão foi de 0,7, enquanto nos pacientes de 48-59 meses foi de 6,05 (REIS; *et al.*, 2016).

Na cidade de Florianópolis, em estudo unicêntrico retrospectivo, encontrou-se 51 crianças com LMA no período de 2004-2012. Houve uma leve prevalência de sexo masculino

(55%) e 14% tiveram acometimento de SNC. A taxa de óbito neste estudo foi de 48.3% da amostra, sendo a principal causa morte: choque séptico (63,6%) (LIMA *et al.*, 2016).

Nas últimas décadas, apesar da melhoria do prognóstico da LMA, aproximadamente um terço dos pacientes apresentarão recorrência da doença. Esta população tem um prognóstico ruim, com probabilidade de sobrevivência em longo prazo de aproximadamente 35%, apesar do uso de quimioterapia intensiva e transplante de medula óssea. A toxicidade e a mortalidade resultantes do tratamento também são significativas (KASPERS, 2014).

Em crianças, a LMA é rara antes dos 2 anos de idade ou após 15 anos e quando acomete crianças nestas faixas etárias confere um prognóstico pior (FLORES-LUJANO *et al.*, 2016). Existe também uma correlação entre crianças portadoras da trissomia do 21 com um risco aumentado de desenvolver leucemias, principalmente a Leucemia Megacariótica Aguda (YANG *et al.*, 2002).

Quanto à sobrevida, os avanços dos medicamentos quimioterápicos e o emprego de esquemas de drogas combinadas proporcionaram uma melhor sobrevida livre da doença em crianças com leucemias. (LATORRE, 2000; RIES *et al.*, 1999).

## 2.4 APRESENTAÇÃO CLÍNICA

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é resultado da proliferação de células de origem mielóides, imaturas na medula óssea. Esta proliferação exacerbada é responsável pela sintomatologia da doença: o consumo de espaço medular associado a uma redução na produção das séries normais resulta em consequências sistêmicas, dentre elas: anemia, sangramentos e um aumentado risco para infecções oportunistas (YAMAMOTO; GOODMAN, 2008).

Geralmente os sintomas são inespecíficos ao diagnóstico. Dentre as manifestações

clínicas da faixa pediátrica, encontram-se: fraqueza, febre persistente, dor óssea e achados hemorrágicos como sangramentos gengivais, equimoses ou epistaxes (MEYERS; ALBITAR; ESTEY, 2005).

A fadiga em geral se associa com a palidez cutânea, e podem ser atribuídas a anemia e anteceder o diagnóstico. Já a dor óssea é frequente em crianças com LMA, embora, em uma faixa etária de 1 a 4 anos, algumas delas não saibam descrever exatamente o que estão sentindo. Isso pode ser especialmente grave nas extremidades inferiores, devido à expansão da cavidade medular pelo processo leucêmico (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2017). A febre, quando presente geralmente está relacionada à infecção e deve sempre ser investigada e tratada empiricamente com antibióticos de amplo espectro (DALY; SCHIFFER; WIERNIK, 1980).

Dentre as alterações clínicas, observam-se a presença de petéquias ou equimoses secundárias a plaquetopenia ou coagulação intravascular disseminada. Até 13% dos pacientes com LMA podem apresentar esses achados (DESAI *et al.*, 2012).

O envolvimento do SNC costuma estar presente na LMA em pacientes menores de dois anos de idade e com presença de hiperleucocitose. A elevação do LDH e anormalidades dos cromossomos 11 e 16 também foram associadas à doença do SNC na apresentação ou em recaídas (SHIHADDEH *et al.*, 2012).

Na orofaringe também deve ser realizado um exame cuidadoso, pois as crianças podem apresentar candidíase oral ou lesões herpéticas nas quais se deve pensar em um possível envolvimento leucêmico (BLUM *et al.*, 2004). A presença de linfonodos palpáveis, hepatomegalia ou esplenomegalia são achados raros na LMA, correspondendo apenas a 10% dos achados diagnósticos (BYRD *et al.*, 2002).

Outras anormalidades a nível metabólico e de eletrólitos podem ocorrer em pacientes com LMA, muitas das quais se deve à proliferação anômala das células precursoras. Dentre



elas, destaca-se a síndrome da lise tumoral na qual é considerada uma emergência oncológica e pode cursar com hiperfosfatemia, hipocalcemia, hiperuricemia e hipercalemia (MIZOCK BA *et al.*, 1995).

Diante de um quadro clínico com sintomas supracitados deve-se iniciar a investigação diagnóstica. Dentre elas inclui-se o hemograma com plaquetas. Na análise do sangue periférico, geralmente revela-se uma anemia normocítica e normocrômica que pode variar em gravidade. A contagem de reticulócitos, em geral, é normal ou diminuída. Cerca de 70% dos pacientes têm contagens de plaquetas abaixo de 100.000 células no momento do diagnóstico. Destes, cerca de 25% terão contagens abaixo de 25.000, podendo já manifestarem algum sintoma hemorrágico (KALEEM *et al.*, 2003). Quanto aos leucócitos, normalmente não ultrapassam de 15.000 células/mm<sup>3</sup>, sendo que até 40% dos pacientes apresentarão contagem abaixo de 5.000 células/mm<sup>3</sup>. Menos de 20% dos pacientes podem apresentar hiperleucocitose ao diagnóstico (contagens acima de 100.000 células). A grande maioria (95%) terá mieloblastos circulantes no sangue periférico nos quais podem ser detectados no esfregaço sanguíneo (CRAIG, FOON KA, 2008).

Embora o diagnóstico presumido de LMA possa ser feito através do exame de esfregaço sanguíneo, o diagnóstico definitivo é realizado através do aspirado de medula óssea com biópsia. Geralmente a medula óssea é hipercelular devido à substituição parcial ou quase total dos componentes celulares normais por células imaturas. O aspirado fornece material para uma contagem diferencial de células indiferenciadas e uma avaliação citológica detalhada. Já a biópsia apresenta o grau de envolvimento e as características histológicas associadas ao processo de imaturidade celular, como por exemplo, a existência de fibrose ou necrose (BAER *et al.*, 2001).

## 2.5 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da leucemia mielóide aguda baseia-se em morfologia, imunofenotipagem, citogenética e biologia molecular.

### 2.5.1 Morfologia

A primeira ferramenta diagnóstica para diferenciação das leucemias é a avaliação morfológica. Através do esfregaço de medula óssea ou sangue periférico e coloração por método panótico (dentre eles o principal Wright-Giemsa), identifica-se a presença de blastos. No auxílio da diferenciação de linhagem celular, podem-se utilizar métodos citoquímicos. Destacam-se a mieloperoxidase (MPO) que indica diferenciação mielóide, porém quando negativa não afasta essa linhagem, o *Sudan black B* (SBB), que cora paralelamente à MPO, porém é menos específica, e raras LLA apresentam SBB positivo. A diferenciação única e exclusiva por método morfológico não deve ser mais realizada, pois os métodos disponíveis como a imunofenotipagem, métodos citogenéticos e moleculares têm uma melhor acurácia (DUARTE; *et al.*, 2013).

### 2.5.2 Imunofenotipagem

A chamada imunofenotipagem ou citometria de fluxo é uma metodologia direcionada a caracterização fenotípica das células. Baseia-se na avaliação morfológica (tamanho, volume e granulosidade celular) e fenotípica dos antígenos celulares através de avaliação de dispersão da luz e fluorescência emitidas por substâncias ligadas a tais antígenos. As células são analisadas individualmente, através de uma fonte luminosa e diversos fluorocromos

(DUARTE; *et al.*, 2013).

Este método tem a capacidade de analisar a chamada ontologia das células, pois analisa diversos marcadores celulares em uma única célula, podendo através de análise simultânea identificar o tipo celular, seu estágio de maturação além de identificar aberrâncias e alterações celulares. Desta forma a imunofenotipagem é capaz de identificar a presença ou não de células doentes além de ser capaz de diferenciar a linhagem dos blastos em mielóide ou linfóide em até 98% dos casos (JENNINGS; FOON, 1997).

Foram estudados padrões normais de diferenciação imunofenotípica, demonstrando combinações de antígenos reprodutíveis, o que permite diferenciar a célula normal da célula patológica. Na linhagem mielóide, os neutrófilos envolvem antígenos para sua diferenciação normal, dentre eles os principais são: mieloperoxidase (MPO), CD11b, CD13, CD15, CD16 e CD33. O CD10 marca o final da maturação, caracterizando já fase de bastonete e segmentados. Já os monócitos expressam em geral: CD15, CD33, CD36, CD45, CD64 E CD 300 (DUARTE, *et al.*, 2013).

Os blastos mielóides comumente expressam os antígenos: HLA-DR, CD-33 E CD-34. À medida que as células amadurecem perdem e ganham antígenos. O CD33 e o CD13 são marcadores presentes em precursores de neutrófilos e monócitos, mas quando estão maduros já não os expressam mais (DUARTE; *et al.*, 2013). Devido à perda e ganho de novos marcadores durante o tratamento da doença, a quantificação de doença residual mínima por citometria de fluxo é dificultada nesta doença, diferente das leucemias linfoblásticas agudas (LANGEBRAKE *et al.*, 2006; LOKEN *et al.*, 2012).

Para a caracterização das neoplasias mielóides, a análise de imunofenótipo, seja por citometria de fluxo ou por imuno-histoquímica é essencial. Hoje, a classificação WHO leva em consideração critérios citogenéticos e moleculares para diferenciação dos subtipos, além do imunofenótipo. A leucemia promielocítica aguda destaca-se pela sua intensa auto-

fluorescência. Apesar do diagnóstico definitivo se dar apenas quando a alteração cariotípica t(15;17) ou da presença da proteína PML-RARA, o imunofenótipo pode ajudar na caracterização e diferenciação da doença. Destaca-se: CD33 homogêneo, CD13 heterogêneo, MPO e CD117 (DUARTE; *et al.*, 2013; CRAIG; FOON, 2008).

### 2.5.3 Citogenética e genética molecular

Quando se pensa em câncer, imagina-se que as mutações ocorram após um estímulo iniciador para a primeira mutação seguida de mutações sequenciais. Dados sugerem que a maioria das mutações encontradas nos genomas de LMA é, na verdade, eventos aleatórios que ocorreram em células precursoras hematopoéticas antes de adquirirem a mutação iniciadora. Assim, ao final, temos um conjunto de mutações que ocorrem de modo “separado” e aleatório, gerando alterações genéticas complexas e múltiplas. De maneira heterogênea contribuem para o fenótipo final das leucemias. As mutações paralelas afetarão em conjunto a sobrevivência, proliferação, diferenciação e capacidade de autorrenovação celular. Assim uma mutação isolada não seria suficiente para causar LMA. É o chamado “*two-hit model*”. Esta teoria vem sendo questionada por novos estudos, porém a necessidade de múltiplas mutações (ao menos duas) para gerar a doença parece ser consenso. Em crianças acredita-se que menos estímulos são necessários para gerar a doença (DICK, 2008; WELCH *et al.*, 2013).

As mutações envolvidas na doença são divididas em dois tipos (KELLY, LM; GILLILAND, 2002):

- Mutações Classe I: não afetam a diferenciação, afetam a proliferação e/ou habilidade de sobrevivência. As principais mutações envolvidas são: FLT3-ITD, FLT3-TKD, KIT, RAS, PTPN11, JAK2 (BLOOD *et al.*, 2000; IF *et al.*, 2007).
- Mutações Classe II: prejuízo da diferenciação hematopoética e/ou auto-renovação,

geralmente envolvendo oncogenes chave. O defeito molecular causa inibição da diferenciação celular normal. Principais mutações: PML-RARA, RUNX1-RUNX1T1, CBFβ-MYH11, Fusões MLL, CEBPA, NPM1.

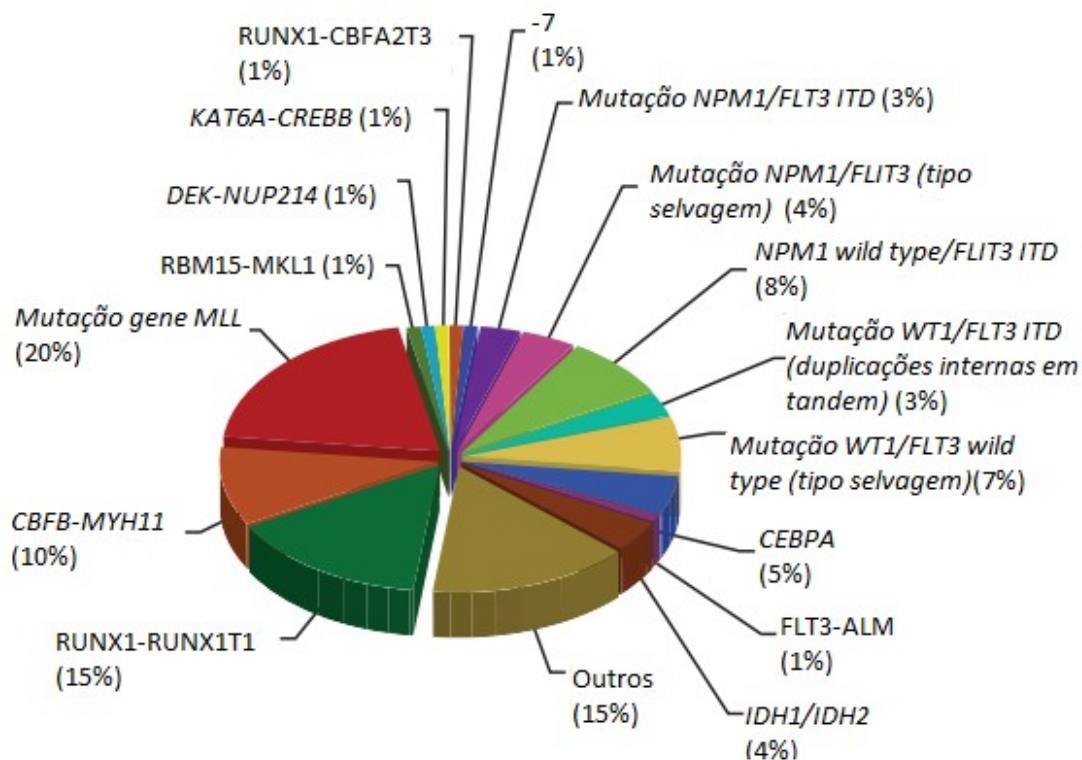
Apesar de menos prevalente que nos adultos (presente em apenas 10% das LMA infantis), a presença da mutação FLT3- ITD também confere mau prognóstico em crianças (MESHINCHI *et al.*, 2001).

As mutações do fator de ligação nuclear (CBF): inversão 16 (p13;1q22), t (16; 16) (p13; q22), e t (8; 21) (q22; q22) são consideradas de melhor prognóstico, assim como as mutações do gene NPM1 e do CEBPA (HO *et al.*, 2017; V, GROSSMANN *et al.*, 2012; ZWAAN *et al.*, 2014).

As mutações do gene RAS não parecem estar associadas ao prognóstico da leucemia mielóide aguda em crianças. As translocações t(6;9)(p22;q34) e t(8;16)(p11;p13) apresentam prognóstico pior, assim como as monossomias dos cromossomos 7 e 5 (ZWAAN *et al.*, 2015).

A Figura 3 apresenta prevalência de mutações na leucemia mielóide infantil.

**Figura 3** – Prevalência das mutações na leucemia mielóide em crianças



Fonte: Adaptado de Rubnitz; Inaba (2012)

Legenda: A Figura 3 mostra as frequências aproximadas de lesões genéticas nas leucemias mielóides na criança.

As alterações genéticas foram incorporadas a classificação das leucemias mielóides agudas, a partir da publicação da Organização Mundial da Saúde (OMS) de 2008.

## 2.6 CLASSIFICAÇÕES FAB E WHO

Em meados de 1800, Nicolaus Fridreich e Neuman, na Alemanha, foram os primeiros a falarem em classificação de leucemias, diferenciando-as em agudas e crônicas. (FREIREICH *et al.*, 2017; MUNIRAJ, 2015). Em 1976, o grupo formado por pesquisadores franceses, americanos e britânicos publicou a primeira classificação morfológica das leucemias mielóides agudas; que foi posteriormente modificada, acrescentando-se duas novas classes, M0 e M7, formando a classificação morfológica que conhecemos atualmente (Tabela 2) (BENNETT *et al.*, 1976, 1985, 1991).

**Tabela 2** – Classificação FAB\* Leucemias Mielóides Agudas

Classes	Descrições
M0	Leucemia Minimamente Diferenciada
M1	Leucemia Mielóide Sem Maturação
M2	Leucemia Mielóide Com Maturação
M3	Leucemia Promielocítica
M4	Leucemia Mielomonocítica
M5	Leucemia Monocítica
M6	Eritroleucemia
M7	Leucemia Megacarioblastica
*FAB: French-American-British	

Fonte: Bennett *et al.*, (1976, 1985, 1991)

Legenda: A Tabela 2 identifica a classificação morfológica descrita na década de 70 e posteriormente revisada, chamada classificação FAB (French-American-British), com seus respectivos números e descrições. Esta classificação visa identificar os diferentes subtipos de leucemia mielóide aguda, sendo hoje complementada por métodos mais acurados

A classificação morfológica proposta por este grupo é ainda reconhecida nos dias de hoje. Porém com os avanços da medicina diagnóstica e o surgimento de recursos laboratoriais e exames tanto citogenéticos, quanto imunofenotípicos quanto moleculares; tornaram a classificação FAB insuficiente para definição de subtipo leucêmico e definição de tratamento.

Em 1973 descreveu-se, por exemplo, a t(8;21). Viu-se que mais da metade das leucemias mielóides aguda cursam com alterações cariotípicas, que podem influenciar no prognóstico da doença. Assim, ainda de forma rudimentar surgiu a classificação da Organização Mundial da Saúde, que tentou incluir critérios genéticos na classificação dos tumores hematológicos (FREIREICH *et al.*, 2017; MUNIRAJ, 2015).

A última classificação de tumores hematológicos pela OMS foi publicada em 2016 (Tabela 3), e nela incluem-se alterações citogenéticas e moleculares (ARBER *et al.*, 2016).

**Tabela 3** – Classificação 2016 OMS para neoplasias mielóides agudas e neoplasias relacionadas

(LMA) com anormalidades genéticas recorrentes
<ul style="list-style-type: none"> <li>● LMA com t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i></li> <li>● LMA com inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i></li> <li>● LMA com <i>PML-RARA</i></li> <li>● LMA com t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLL3-KMT2A</i></li> <li>● LMA com t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i></li> <li>● LMA com inv(3)(q21.3q26.2) ou t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM</i></li> <li>● LMA (megacarioblástica) com t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKLI</i></li> <li>● Entidade provisória: LMA com <i>BCR-ABL1</i></li> <li>● LMA com mutação de <i>NPM1</i></li> <li>● LMA com mutações bialélicas de <i>CEBPA</i></li> <li>● Entidade provisória: LMA com mutação de <i>RUNX1</i></li> </ul>
LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia
Leucemia relacionada ao tratamento de neoplasias mieloides
Leucemia mieloide aguda, sem outra classificação específica:
<ul style="list-style-type: none"> <li>● LMA com diferenciação mínima</li> <li>● LMA sem maturação</li> <li>● LMA com maturação</li> <li>● Leucemia mielomonocítica aguda</li> <li>● Leucemia monoblástica/monocítica aguda</li> <li>● Leucemia eritroide pura</li> <li>● Leucemia megacarioblástica aguda</li> <li>● Leucemia basofílica aguda</li> <li>● Panmielose com mielofibrose aguda</li> </ul>
Sarcoma mieloide
Proliferação mieloide relacionada com a Síndrome de Down
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Mielopoese anormal transitória</li> <li>● Leucemia mieloide associada com a Síndrome de Down</li> </ul>
Neoplasia blástica plasmacitoide de células dendríticas
Leucemias agudas de linhagens ambíguas:
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Leucemia aguda não diferenciada Leucemia aguda de fenótipo misto com t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i></li> <li>● Leucemia aguda de fenótipo misto com t(v;11q23); rearranjo <i>MLL</i></li> <li>● Leucemia aguda de fenótipo misto, mieloide-B, NOS</li> <li>● Leucemia aguda de fenótipo misto, mieloide-T, NOS</li> </ul>

Fonte: Adaptada de Arber *et al.*, (2016, p. 2392)

Legenda: A Tabela 3 identifica a classificação da Organização Mundial de Saúde de 2016, considerando alterações citogenéticas e moleculares descritas.

## 2.7 FATORES PROGNÓSTICOS

### 2.7.1 Fatores demográficos

Além dos fatores de risco para o surgimento da doença, os estudos atuais procuram



identificar fatores prognósticos que possam ajudar na diferenciação e personalização do tratamento. Diversos fatores epidemiológicos vêm sendo apontados. A idade vem sendo historicamente apontada como um fator de risco. Pacientes acima de dez anos teriam pior prognóstico que as crianças mais novas. Na coorte americana envolvendo 3442 crianças com diagnóstico novo de LMA entre 1973 e 2011, viu-se que pacientes com idade entre 10-19 anos teriam um *hazard ratio* ajustado de 1,3 para morte quando comparados aos pacientes abaixo de 10 anos (IC 95%: 1.17–1.44). Ainda neste estudo, viu-se que a raça afroamericana e hispânica teria maior risco de mortalidade quando comparadas a caucasianos. As LMA com mínima diferenciação (2.44, 1.78–3.35) foram o subtipo com maior risco de morte (HOSSAIN; XIE; CAYWOOD, 2015).

Outro estudo envolvendo 698 crianças com leucemia mielóide aguda, avaliou as características que poderiam estar relacionadas ao prognóstico destas crianças. As crianças menores (não houve um ponto corte de idade) parecem ter menos frequentemente citogenética favorável e mais translocações de cromossomo 11q23. Quando se fez a análise com correção de outros fatores, viu-se que a taxa de remissão era similar independente da idade. Já a sobrevida global ( $P = 0,02$ ) e livre de doença ( $P = 0,06$ ) foram maiores em crianças mais novas, devido a menor taxa de recaída ( $P = 0,02$ ) (WEBB *et al.*, 2001).

O estudo do grupo St Judes, em crianças com recaída de LMA, em análise multivariada observou que sexo masculino ( $P 0,005$ ), e cada mês a mais entre diagnóstico e recaída ( $P 0,041$ ), foram fatores de melhor prognóstico antes da recaída, enquanto os subtipos FAB M7 e M5 indicaram pior prognóstico após a recaída ( $P 0,001$ ) (RUBNITZ *et al.*, 2006).

### **2.7.2 Fatores citogenéticos**

As crianças com leucemia mielóide aguda apresentam com maior frequência

alterações citogenéticas comparada aos adultos. Os fatores prognósticos ligados a citogenética variam nos estudos, principalmente quando se fala em risco intermediário e baixo. A descrição de bom prognóstico associado à presença de t(8;21), inv(16) ou t(16;16) é basicamente um consenso (TAGA *et al.*, 2016).

O cariótipo normal era considerado como risco intermediário. Nos dias atuais, sabe-se que cariótipo normal, na presença de FLT3- ITD é considerada de pior prognóstico. Assim como, quando associado à mutação do gene NPM1 e CEBPA tem melhor prognóstico. A monossomia do 7, monossomia do 5, del (5q), anormalidade 3q, aberrações do 12p e cariótipo complexo são considerados de mau prognóstico. (TARLOCK; MESHINCHI, 2015; DINARDO; COSRTES, 2016).

O protocolo COG AAML0531 considerou baixo risco: todos os com t(8; 21), inv(16) e com resposta completa após a indução 1 (na ausência de FLT3-ITD). O risco intermediário incluiu os pacientes que não se encaixam no alto ou baixo risco. Pacientes de alto risco neste protocolo foram definidos como aqueles que apresentam deleção do cromossomo 7, deleção do cromossomo 5, 5q- ou >15% de blastos após a indução 1, ou presença de FLT3-ITD. Neste estudo os pacientes foram randomizados para o uso ou não de Gemtuzumab Ozogamicin (GO). Além disso, os pacientes considerados de alto risco foram submetidos a transplante de medula óssea após a primeira intensificação, enquanto os de baixo risco receberam apenas quimioterapia e os de risco intermediário foram submetidos a transplante quando doador aparentado disponível. Em um seguimento de 3 anos, vemos que houve diferença entre a sobrevida livre de eventos e sobrevida global entre os grupos. No grupo considerado baixo risco a sobrevida livre de eventos em 3 anos foi de: 64% +/- 8 para grupo sem GO, 71,4% +/- 8,2 para grupo com GO; e no grupo de alto risco 27,2 +/- 9.6% nos sem GO e 31,2% +/-10,4 nos com GO. A sobrevida global também variou de 85.4 +/- 6.4% para os com GO de baixo risco para 47.7% para os com GO de alto risco. A porcentagem de pacientes que atingiram remissão completa após a indução também mudou segundo os grupos

chegando a 97.6% no grupo de baixo risco e 55.4% no grupo de alto risco em uso de GO. (GAMIS *et al.*, 2014).

Já o grupo nórdico, no protocolo NOPHO-AML 2004, considera baixo risco pacientes sem fatores de alto risco, t(8; 21) e inv(16) com resposta completa após a indução 2. Alto risco:  $\geq 15\%$  blastos após a indução 1 ou ausência de resposta completa após a indução 2, ou rearranjos do gene MLL. Os pacientes de alto risco foram submetidos a transplante de medula óssea se doador compatível identificado. Neste estudo a resposta ao tratamento foi analisada cuidadosamente, e a sobrevida foi relacionada ao nível de resposta após o primeiro curso de indução (resposta boa, ruim ou intermediária). Considerou-se resposta ruim ou pobre aqueles pacientes com mais de 15% de células leucêmicas após o bloco “AIET” da indução (citarabina, etoposide, tioguanina e idarrubicina) ou mais de 5% após o bloco “AM” da indução (citarabina e mitoxantrone). A resposta intermediária foi considerada entre 5 e 14.9% após o bloco AIET e bons respondedores aqueles com menos de 5%. Dentre os pacientes considerados de risco baixo (n=122), viu-se boa resposta em 82% (n=100) após a indução, enquanto nos considerados alto risco (n=27), viu-se boa resposta em 44% (n=12). O estudo não expõe em seus resultados a relação direta entre sobrevida e fatores de risco, apenas relacionado a resposta ao tratamento de indução (ABRAHAMSSON, 2014).

O protocolo *Berlin-Frankfurt-Münster* (BFM) de 2004 considera fatores de baixo risco: FAB M1/M2 com bastões de Auer, M4eo ou t(8; 21) e inv(16) e  $< 5\%$  blastos na MO no dia 15; na ausência de FLT3-ITD. Os pacientes de alto risco são todos os que não completam critérios para baixo risco. Neste trabalho comprovou-se diferença estatisticamente significativa entre os pacientes considerados baixo risco (217 pacientes com SG 89% +/- 2% e SLE 71% +/- 3%) e os de alto risco (394 pacientes, SG 65% +/- 3% e SLE 46% +/- 3%). (CREUTZIG *et al.*, 2013).

## 2.8 TRATAMENTO

A sobrevida e o desfecho da leucemia mielóide aguda melhoraram pouco desde a década de setenta. O tratamento baseia-se ainda no que chamamos de 7+3 (YATES *et al.*, 1973); que consiste em indução com infusão contínua de citarabina durante 7 dias adicionada a 3 doses de daunorrubicina. Hoje, aproximadamente 40 anos depois, há poucas alterações frente ao exposto, com alguns protocolos acrescentando uma terceira droga nesta fase, como o etoposide, além de variações no cronograma de aplicação das drogas e variação de doses (ABRAHAMSSON, *et al.*, 2011; CREUTZIG, *et al.*, 2013).

Após a remissão sabe-se que se não houver uma manutenção de terapia intensiva há alta chance de recaída e morte. Por isto os estudos atuais incluem uma terapia pós-remissão, com quimioterapia, ou transplante de célula tronco hematopoética (TCTH) autólogo ou alogênico. O papel exato do transplante e sua real indicação em pacientes em primeira remissão permanecem controversos (NIEWERTH, *et al.*, 2010).

No estudo de Woods *et al.*, (2001), envolvendo 652 crianças, evidenciou superioridade TCTH alogênico com relação a quimioterapia isolada (60% vs. 53%,  $p = 0.05$ ).

No estudo retrospectivo de Horan *et al.*, 2008, o TCTH esteve associado a menor risco de recaída, porém a maior risco de morte relacionada a tratamento (HORAN; *et al.*, 2008).

No estudo MRC AML15, o TCTH reduziu o risco de recaída e não alterou a sobrevida global de forma significativa (70% vs. 60%,  $p = 0.1$ ) (BURNETT; *et al.*, 2011).

Além do tratamento quimioterápico ou do transplante, sabe-se que para a leucemia mielóide aguda, os cuidados de suporte clínico são fundamentais. Pacientes com hiperleucocitose, por exemplo, necessitam de intervenção imediata, pela alta mortalidade relacionada principalmente a leucostase. Além disso, devido ao comprometimento do setor granulocítico e ao tratamento intensivo, os pacientes ficam expostos a maior risco de infecção,

sendo esta a maior causa de morbi-mortalidade desta doença (SUNG; *et al*, 2007; RUBNITZ; INABAL, 2012).

Assim, para melhores desfechos, é necessário estudar-se melhores estratégias, tanto de análise de resposta ao tratamento, como de doença residual mínima; novas drogas que possam aumentar a sobrevida e melhora do tratamento de suporte (TAGA *et al.*, 2016). Abaixo segue tabela de sobrevida livre de doença e sobrevidas global de diversos protocolos recentes (Tabela 4).

**Tabela 4 – Principais protocolos de tratamento LMA infantil e desfechos**

Estudo	Período	N	Idade	TCTH (%)	SLE 3 ANOS (%)	SG 3 ANOS (%)	Autores
BFM 2004 (1)	2004-2010	521	0-18 <sup>a</sup>	-	55	63	CREUTZIG <i>et al.</i> , (2013)
NOPHO-AML 2004	2004-2010	151	0-15 <sup>a</sup>	15	57	69	ABRAHAMSSON <i>et al.</i> , (2011)
COG AAML0531	2006-2010	1022	0-29	-	53	69	GAMIS <i>et al.</i> , (2014)
AML-05	2006-2010	443	0-18	12	54	73	TOMIZAWA <i>et al.</i> , (2013)

Fonte: Adaptado de Taga *et al.*, (2016)

Legenda: BFM 2004: Protocolo de Tratamento Berlin-Frankfurt-Münster 2004; NOPHO-AML 2004: Protocolo de Tratamento da Sociedade Nórdica de Hematologia e Oncologia Pediátrica; COG AAML0531: Protocolo de tratamento do Grupo de Oncologia Infantil (Children's Oncology Group) (COG); AML- 05: Protocolo de tratamento grupo japonês de leucemia/ linfoma AML-05 (Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group AML-05 study).

### 3 JUSTIFICATIVA

O levantamento epidemiológico dos pacientes pediátricos com LMA tratados nos principais centros de onco-hematologia pediátrica do Rio Grande do Sul permitirá avaliação de características clínicas, diagnósticas, terapêuticas e evolução clínica e prognóstica dos mesmos.

Considerando-se que estes dados no país hoje são muito escassos e que existem importantes diferenças inter-regionais, a cooperação e avaliação conjunta de dados de diversos serviços oncohematológicos pediátricos de uma mesma região, permitirá um retrato mais fidedigno da realidade local desta doença. Esta cooperação torna-se ainda mais palpável, após a criação, em 2011, de um grupo de especialistas do Rio Grande do Sul, denominado Grupo Regional de Estudos em Leucemia e Hemopatias da Infância. Desta maneira, os principais serviços do Rio Grande do Sul, localizados nas cidades de Pelotas, Porto Alegre e Passo Fundo já têm, entre si, um vínculo, criado em estudos já realizados de outras patologias, o que agregará à coleta de dados, o maior número de pacientes possível de nossa região.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Caracterizar os pacientes diagnosticados e/ou atendidos no período de janeiro de 2005 a agosto de 2015 quanto às suas características ao diagnóstico, tratamentos realizados e desfechos.

### 4.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Avaliar sobrevida global e taxa de recidiva nos pacientes diagnosticados nestes hospitais nos últimos 10 anos.
- Avaliar prevalência e associação com síndromes genéticas.

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 DELINEAMENTO

Estudo de coorte retrospectivo através de análise de prontuários. Cálculo do tamanho amostral e critérios de inclusão: Serão incluídos no estudo todos os pacientes diagnosticados com LMA menores dos 18 anos atendidos nos hospitais pertencentes a este estudo: Hospital da Criança Conceição, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Hospital São Vicente de Passo Fundo, Hospital da Faculdade Federal de Pelotas e Hospital da Criança Santo Antônio entre os meses de janeiro de 2005 a agosto de 2015. São hospitais essencialmente voltados ao atendimento do público assistidos pelo SUS e são os principais locais de referência para o tratamento do câncer infantil na região.

### 5.2 COLETA DE DADOS

Os dados clínicos foram coletados a partir dos registros em prontuário dos profissionais que atendem os pacientes nos hospitais abordados. As variáveis coletadas foram descritas a seguir.

### 5.3 VARIÁVEIS

Variáveis demográficas: sexo, naturalidade e data de nascimento.

Variáveis relativas ao diagnóstico no caso-índice: data do diagnóstico, classificação FAB, presença de doença extramedular, cariótipo e exame molecular.

Variáveis relativas ao tratamento: radioterapia, quimioterapia sistêmica, Transplante



de Células Tronco Hematopoiéticas Autólogo e Alogênico.

Variáveis relativas ao acompanhamento após diagnóstico: status atual, data do óbito, data da recidiva, segunda neoplasia e data da última consulta.

#### 5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada utilizando o programa SPSS v20.

As variáveis contínuas foram avaliadas pela média e desvio padrão; mediana para variáveis contínuas.

A análise de sobrevida foi realizada utilizando o método de Kaplan-Meier. Realizou-se análise multivariada através de regressão de Cox para avaliação de sobrevida considerando os seguintes fatores de risco: idade acima de 10 anos, cariótipo de risco e leucometria do diagnóstico acima de 50.000 leucócitos/mm<sup>3</sup>.

## **6 ASPECTOS ÉTICOS**

Os membros da equipe assinaram um termo de sigilo em relação aos dados obtidos em prontuário no sentido de obediência às disposições éticas e legais brasileiras. O projeto foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, e aprovado pelo número 15-0589, assim como em cada hospital incluído no estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAMSSON, J. *et al.* Response-guided induction therapy in pediatric acute myeloid leukemia with excellent remission rate. **Journal of Clinical Oncology**, v. 29, n. 3, p. 310–315, 2011.
- ARBER, D. A. *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. **Blood**, v. 127, n. 20, p. 2391–2406, 2016.
- ARCECI, R. J.; HANN, I. M.; SMITH, O. P. **Pediatric Hematology**. Third Edit ed. Malden, Massachusetts: [s.n.].
- BAER, M. R. *et al.* High frequency of immunophenotype changes in acute myeloid leukemia at relapse: implications for residual disease detection (Cancer and Leukemia Group B Study 8361). **Blood**, v. 97, n. 11, p. 3574-3580, 2001.
- BENNETT, J. M. *et al.* Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. **British Journal of Haematology**, v. 33, n. 4, p. 451–8, ago. 1976.
- BENNETT, J. M.; *et al.* Criteria for the Diagnosis of Acute Leukemia of Megakaryocyte Lineage (M7). **Annals of Internal Medicine**, v. 103, n. 3, p. 460, 1 set. 1985.
- BENNETT, J. M.; *et al.* Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). **British Journal of Haematology**, v. 78, n. 3, p. 325–9, jul. 1991.
- BENNETT, J. M.; *et al.*, Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia, **Ann Intern Med**, v. 103, p. 620-625, 1985.
- BENNETT, J. M.; *et al.*, Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). **British Journal of Haematology**, v. 78, n. 3, p. 325-329, 1991.
- BLOOD, C. *et al.* C-kit mutations in core binding factor leukemias. **Blood**, v. 95, n. 2, p. 726–728, 2000.
- BLUM, W. *et al.* Adult de novo acute myeloid leukemia with t(6;11)(q27;q23): results from Cancer and Leukemia Group B Study 8461 and review of the literature. **Cancer**, v. 101, n. 6, p. 1420- 1427, 2004.
- BOSETTI, C. *et al.* Childhood cancer mortality in Europe, 1970–2007. **European Journal of Cancer**, v. 46, n. 2, p. 384–394, 2010.
- BRAGA, P. E.; *et al.*, Câncer na infância: análise comparativa da incidência, mortalidade e sobrevida em Goiânia (Brasil) e outros países. **Cad. Saúde Pública** [online], v. 18, n.1, pp.33-44, 2002.
- BRAGA, P. E.; LATORRE, M.; CURADO, M. Câncer na infância: análise comparativa da incidência, mortalidade e sobrevida em Goiânia (Brasil) e outros países Childhood cancer: a

comparative analysis. **Cad. saúde pública**, v. 18, n. 1, p. 33–44, 2002.

BURNETT, A. K.; *et al.* Identification of patients with acute myeloblastic leukemia who benefit from the addition of gemtuzumab ozogamicin: results of the MRC AML15 trial. **J Clin Oncol**. 2011; 29:369–377.

BYRD, J. C. *et al.* Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). **Blood**, v. 100, n. 13, p. 4325-4336, 2002.

CRAIG, F. E.; FOON K.A. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. **Blood**, v. 111, p. 3941-3967, 2008.

CREUTZIG, U. *et al.* Randomized trial comparing liposomal daunorubicin with idarubicin as induction for pediatric acute myeloid leukemia: results from Study AML-BFM 2004. **Blood**, v. 122, n. 1, p. 37–43, 4 jul. 2013.

DALY, P. A.; SCHIFFER, C. A.; WIERNIK, P. H. Acute promyelocytic leukemia--clinical management of 15 patients. **American Journal of Hematology**, v. 8, n. 4, p. 347–59, 1980.

DESAI A.; STASZEWSKI H.; CUNHA B. A. An unusual initial manifestation of acute leukemia. **Am J Med**, v. 125, p. 1173, 2012.

DICK, J. E. ASH 50th anniversary review Stem cell concepts renew cancer research. **Blood**, v. 112, n. 13, p. 4793–4808, 2008.

DINARDO, C. D.; CORTES, J. E. Mutations in AML: prognostic and therapeutic implications. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**. 2016 Dec 2; 2016 (1):348-355.

DUARTE, A.; SALES, M. M.; VASCONCELOS, D. D. M. **Citometria de Fluxo - Aplicações No Laboratório Clínico e de Pesquisa**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2013.

FLORES-LUJANO, J. *et al.* Epidemiología descriptiva de la leucemia mieloide aguda (LMA) en niños residentes de la Ciudad de México: reporte del Grupo Mexicano Interinstitucional para la Identificación de las Causas de la Leucemia en Niños. **Gac Med Mex**. n. 152, p. 66-77, 2016.

FREIREICH, E. J. *et al.* The Leukemias: A Half-Century of Discovery. **Journal of Clinical Oncology**, v. 32, n. 31, p. 3463–3470, 2017.

FUNDAÇÃO ANTÔNIO PRUDENTE (FAP). **Tudo Sobre o Câncer: Infantil**. [2016] A. C. Camargo Câncer Center. Disponível em: <<http://www.accamargo.org.br/tudo-sobre-o-cancer/infantil/16/>>. Acesso em: 10 set 2017.

GAMIS, A. S. *et al.* Gemtuzumab Ozogamicin in Children and Adolescents with De Novo Acute Myeloid Leukemia Improves Event-Free Survival by Reducing Relapse Risk: Results from the Randomized Phase III Children’s Oncology Group Trial AAML0531. **Journal of Clinical Oncology**, v. 32, n. 27, p. 3021–3032, 20 set. 2014.

GREAVES, M. Evolutionary Determinants of Cancer. **Cancer Discov.** v. 5, n. 8, p. 806–821, 2015.

GREAVES, M.; MALEY, C. C. CLONAL EVOLUTION IN CANCER. **Nature**, v. 481, n. 7381, p. 306–313, 2012.

GREENLEE, R. T. et al. Cancer statistics. **CA Cancer Journal of Clinics**, 2001, v. 51, p. 15–36.

GROSSMANN, V. *et al.*, Expression of CEBPA is reduced in RUNX1-mutated acute myeloid leukemia. **Blood Cancer Journal**, v. 2, p. 2–4, 2012.

HO, P. A. *et al.* Prevalence and prognostic implications of CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia (AML): a report from the Children’s Oncology Group. **Blood**, v. 113, n. 26, p. 6558–6567, 2017.

HALL, G. W. Childhood myeloid leukemias. **Best Pract Res Clin Haematol**; 14:573–91, 2001.

HOWLADER, N.; *et al.* Seer Cancer Statistics Review 1975–2009 (Vintage 2009 Populations). **National Cancer Institute**, Bethesda, 2012.

HOFFMAN, R. *et al.* **Hematology Basic Principles and Practice**. Sixth edit ed. Churchill Livingstone: Elsevier, 2013.

HORAN, J. T.; *et al.* Impact of disease risk on efficacy of matched related bone marrow transplantation for pediatric acute myeloid leukemia: The Children’s Oncology Group. **J Clin Oncol.** 2008; 26:5797–5801.

HOSSAIN, M. J.; XIE, L.; CAYWOOD, E. H. Prognostic factors of childhood and adolescent acute myeloid leukemia (AML) survival: Evidence from four decades of US population data. **Cancer Epidemiology**, v. 39, n. 5, p. 720–726, 2015.

IF, K. *et al.* Prevalence and clinical implications of NRAS mutations in childhood AML: a report from the Children’s Oncology Group. **Leukemia**, v. 25, n. 2, p. 97–100, 2007.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Incidência, mortalidade e morbidade hospitalar por câncer em crianças, adolescentes e adultos jovens no Brasil**: informações dos registros de câncer e do sistema de mortalidade (2017). Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/wcm/incidencia/2017/pdf/faixa-etaria/criancas-adolescentes-0-19-anos.pdf>>. Acesso em: 10 jan 2018.

JENNINGS, C. D.; FOON, K. A. Recent advances in flow cytometry: application to the diagnosis of hematologic malignancy. **Blood**, v. 90, n. 8, p. 2863–92, 15 out. 1997.

KAATSCH, P. Epidemiology of childhood cancer. **Cancer Treatment Reviews**, v. 36, n. 4, p. 277–285, jun. 2010.

KALEEM Z. *et al.* Flow cytometric analysis of acute leukemias: diagnostic utility and critical analysis of data. **Arch Pathol Lab Med**, v. 127, n. 42, 2003.

KELLY, L. M.; GILLILAND, G. Genetics of myeloid leukemias. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 3, n. 1, p. 179–198, 2002.

LANGEBRAKE, C. *et al.* Residual disease monitoring in childhood acute myeloid leukemia by multiparameter flow cytometry: The MRD-AML-BFM Study Group. **Journal of Clinical Oncology**, v. 24, n. 22, p. 3686–3692, 2006.

LATORRE, M. R. D. O. Epidemiologia dos tumores na infância. In: **Pediatria Oncológica** (B. Camargo & L. F. Lopes, org.), p. 7-27, São Paulo, 2000.

LIMA, M. C. *et al.* Acute Myeloid Leukemia: analysis of epidemiological profile and survival rate. **Jornal de Pediatria**, v. 92, n. xx, p. 283–289, 2016.

LINABERY, A. M.; ROSS, J. A. Trends in childhood cancer incidence in the U.S. (1992–2004), **Cancer**, 112, pp. 416–432, 2008.

LITTLE, J. Epidemiology of Childhood Cancer. Lyon: International Agency for Research on Cancer, **IARC Scientific Publications** v. 149, 1999.

LOKEN, M. R. *et al.* Residual disease detected by multidimensional flow cytometry signifies high relapse risk in patients with de novo acute myeloid leukemia: a report from Children's Oncology Group. **Blood**, v. 120, n. 8, p. 1581–1588, 2012.

MARIS, J. M.; DENNY, C. T. Focus on embryonal malignancies. **Cancer Cell**, v. 2, n. December, p. 447–450, 2002.

MCCULLOCH, E. A.; TILL, J. E. The Radiation Sensitivity of Normal Mouse Bone Marrow Cells, Determined by Quantitative Marrow Transplantation into Irradiated Mice. **Radiation Research**. 13 (1): 115, 1960.

MESHINCHI, S. *et al.* Prevalence and prognostic significance of Flt3 internal tandem duplication in pediatric acute myeloid leukemia. **Blood**, v. 97, n. 1, p. 89–95, 2001.

MEYERS, C. A.; ALBITAR, M.; ESTEY, E. Cognitive impairment, fatigue, and cytokine levels in patients with acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. **Cancer**, v. 104, n. 4, p. 788–793, 15 ago. 2005.

MIZOCK, B. A. *et al.* Confirmation of spurious hypoxemia using continuous blood gas analysis in a patient with chronic myelogenous leukemia. **Leuk Res**, v. 19, n. 1001, 1995.

MUNIRA, J, F. Classification of Acute Leukemias – Past, Present, and Future. **IJSS Case Reports & Reviews**, v. 1, n. 12, p. 61–66, 2015.

NIEWERTH, D.; *et al.* A review on allogeneic stem cell transplantation for newly diagnosed pediatric acute myeloid leukemia. **Blood**. 2010; 116:2205–2214.

ORKIN, S. H.; FISHER, D.E.; GINSBURG, D.; LOOK, A.T.; LUX, S.E.; NATHAN, D. G. **Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood**. 8. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2015.

PETRILLI, A. S. *et al.* Diferenças clínicas, epidemiológicas e biológicas entre o câncer na criança e no adulto. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 43, p. 191-203, 1997.

RAVINDRANATH, Y. *et al.* Pediatric Oncology Group (POG) studies of acute myeloid leukemia (AML): a review of four consecutive childhood AML trials conducted between 1981 and 2000. **Leukemia**, v. 19, n. 12, p. 2101–16, 2005.

REIS, R. SO.; *et al.* Early childhood leukemia incidence trends in Brazil. **Pediatr Hematol Oncol**. Mar;33(2):83-93, 2016.

RIES, L. A. G. *et al.*, Cancer Statistics Review, 1973-1996. Bethesda MD: National Cancer Institute. NIH Pub. n. 99-2789; Eds, 1999.

RIES, L. A. G.; *et al.*, Pulmonary Rehabilitation: Joint ACCP/AACVPR Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. **Chest**. May; v. 131, n. 5 4S-42S, 2007.

RUBNITZ, J. E. *et al.* Prognostic Factors and Outcome of Recurrence in Childhood Acute Myeloid Leukemia Response to Initial Therapy. **Cancer**, v. 109, n. November, p. 157–163, 2006.

RUBNITZ, J. E.; INABA, H. Childhood acute myeloid leukaemia. **British journal of haematology**, v. 159, p. 259–276, 2012.

SANTOS, D.; ECHENIQUE, I.; TEIXEIRA, L. R. Mortalidade por câncer infantojuvenil: entenda a queda. **Rede Câncer**, p. 40–41, 2010.

SHIHADDEH F. *et al.* Cytogenetic profile of patients with acute myeloid leukemia and central nervous system disease. **Cancer**, v. 118, p. 112-117, 2012.

SMITH, M. A. *et al.*, Outcomes for children and adolescents with cancer: challenges for the twenty-first century. **J Clin Oncol**. May v. 28, n. 15, p. 2625-2634, 2010.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2017. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 67, n. 1, p. 7–30, 1 jan. 2017.

STILL, J. E.; MCCULLOCH, E. A. A Direct Measurement of the Radiation Sensitivity of Normal Mouse Bone Marrow Cells. **Radiation Research**. 14 (2): 213, 1961.

SUNG, L.; *et al.* Microbiologically documented infections and infection-related mortality in children with acute myeloid leukemia. **Blood**. 2007; 110:3532– 3539.

TAGA, T. *et al.* Acute myeloid leukemia in children: Current status and future directions. **Pediatrics International**, n. 58, p. 71–80, 2016.

TARLOCK, K.; MESHINCHI, S. Pediatric acute myeloid leukemia: biology and therapeutic implications of genomic variants. **Pediatr Clin North Am**. 2015 Feb; 62(1):75-93. doi: 10.1016/j.pcl.2014.09.007.

THEML, H.; DIEM, H.; HAFERLACH, T. **Color Atlas of Hematology - Practical Microscopic and Clinical Diagnosis** No Title. Second rev ed. Stuttgart: Thieme, 2004.

TOMIZAWA, D. *et al.* Excess treatment reduction including anthracyclines results in higher incidence of relapse in core binding factor acute myeloid leukemia in children. **Leukemia**, v. 27, n. 12, p. 2413–2416, 16 dez. 2013.

VARDIMAN, J. W. *et al.* The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. **Blood**, v. 114, n. 5, p. 937–951, 30 jul. 2009.

VIANA, M. B.; *et al.*, Leucemia mielóide aguda na criança: experiência de 15 anos em uma única instituição. **Jornal de Pediatria**, v. 79, n. 6, 2003.

WEBB, D. K. H. *et al.* Relationships between age at diagnosis, clinical features, and outcome of therapy in children treated in the Medical Research Council AML 10 and 12 trials for acute myeloid leukemia. **Blood**, v. 98, n. 6, p. 1714–1721, 2001.

WELCH, J. S. *et al.* NIH Public Access. **Cell**, v. 150, n. 2, p. 264–278, 2013.

WILLIAMS, C. K. *et al.*, Childhood leukaemia and lymphoma: African experience supports a role for environmental factors in leukaemogenesis. **Ecancermedical science**, v. 6, n. 8, p. 478, 2014.

WOODS, W. G.; *et al.* A comparison of allogeneic bone marrow transplantation, autologous bone marrow transplantation, and aggressive chemotherapy in children with acute myeloid leukemia in remission. **Blood**. 2001; 97:56–62.

YAMAMOTO, J. F.; GOODMAN, M. T. Patterns of leukemia incidence in the United States by subtype and demographic characteristics, 1997–2002. **Cancer Causes & Control**, v. 19, n. 4, p. 379–390, 7 maio 2008.

YANG Q.; RASMUSSEN S. A.; FRIEDMAN J. M.; Mortality associated with Down's syndrome in the USA from 1983 to 1997: a population-based study. **Lancet**, v. 359, p. 1019–1025, 2002.

YATES, J. W. *et al.*, Cytosine arabinoside (NSC-63878) and daunorubicin (NSC-83142) therapy in acute nonlymphocytic leukemia. **Cancer Chemother Rep**, v. 57, n. 4, p. 485–488, 1973.

ZWAAN, C. M. *et al.* Favorable prognostic impact of NPM1 gene mutations in childhood acute myeloid leukemia, with emphasis on cytogenetically normal AML. **Leukemia**, v. 23, n. January, p. 262–270, 2014.

ZWAAN, C. M.; *et al.*, Collaborative efforts driving progress in pediatric acute myeloid leukemia. **Journal of Clinical Oncology**, v. 33, n. 27, p. 2949–2962, 2015.



## 7 ARTIGO ORIGINAL

### **Epidemiological Evaluation and Survival of Children with Acute Myeloid Leukemia in Southern Brazil**

Meriene Viquetti de Souza<sup>1,2</sup>, Klerize Anecely de Souza Silva<sup>3</sup>, Pablo Santiago<sup>4</sup>, Marcelo Cunha Lorenzoni<sup>4</sup>, Cecília Fernandes Lorea<sup>5</sup>, Cláudio Galvão<sup>6</sup>, Adriano Nori Rodrigues Taniguchi<sup>2</sup>, Fernanda Fetter Scherer<sup>2</sup>, Mariana Bohns Michalowski<sup>2</sup>, Liane Esteves Daudt<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Graduate Program in Child and Adolescent Health, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>2</sup> Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; <sup>3</sup>Hospital da Criança Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil; <sup>4</sup>Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, Brazil; <sup>5</sup>Hospital Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil; <sup>6</sup>Hospital da Criança Santo Antônio, Porto Alegre, Brazil.

Correspondence: Meriene Viquetti de Souza  
Lauro Muller, 700, Torre Luna Ap 703  
Criciúma, SC, Brazil.  
88811-030  
+55 (48) 991330406  
+55 (48) 34333534  
E-mail: merienevs@gmail.com

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Short Title:** Epidemiology of Acute Leukemia in Brazilian Children

**Keywords:** Acute myeloid leukemia; epidemiology, childhood.

**Figures and tables:** 5

### **Abstract**

Understanding the epidemiological aspects of childhood acute myeloid leukemia (AML) is essential for continued progress in treatment. Despite international collaborative efforts, little has been published about childhood AML in Brazil. We conducted a multicenter retrospective cohort study of all patients treated at five pediatric hematology-oncology referral centers in southern Brazil from January 2005 to December 2015. Of 149 patients with AML, 63.0% (n=94) were male. Median age at diagnosis was 10.5 years (range, 0-18 years), and 40.3% (n=60) had a white blood cell count below 50 000/mm<sup>3</sup>. The most common FAB subtype was M3 (n=43, 28.9%). Nine (6.0%) patients had central nervous system disease. In M3 patients, overall survival (OS) was 69.2% and 3-year event-free survival (EFS) was 67.7%; in non-M3 patients, these rates were 45.3% and 36.7%, respectively. In non-M3 patients, OS was significantly different between transplanted (61.8%) and non-transplanted patients (38.2%) (p=0.031). Our results show a higher prevalence of the FAB M3 subtype than that reported in the international literature, as well as a decreased OS compared with that of developed countries. Further multicenter Brazilian studies with a larger sample size are encouraged to better understand the characteristics of AML and improve treatment and prognosis in our population.

## Introduction

Acute myeloid leukemia (AML) is a rare neoplasm, accounting for 15 to 20% of all childhood acute leukemias. Approximately 500-600 children and adolescents are diagnosed with AML each year in the United States<sup>1,2,3</sup>. Childhood AML is an aggressive malignancy, and its treatment remains a challenge. Despite the development of new drugs and the possibility of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), cure rates with current treatment protocols range from 60 to 70% in this age group<sup>4</sup>.

Recent studies have shown that cytogenetic and molecular abnormalities are involved in the pathogenesis of childhood AML, with clonal chromosome abnormalities in 70 to 85% of cases<sup>5,6</sup>. Great efforts have been made to improve characterization of the disease and prognostic stratification of patients. Different cytogenetic and molecular events have been identified and now define distinct subtypes of childhood AML, which may help to better define targets for directed therapy and reduce the toxicity of current treatment strategies<sup>7,8</sup>.

Cytogenetic abnormalities, such as t(8;21) *RUNX1/RUNX1T1* and inv(16)/t(16;16) *CBFB/MYH11*, are considered the core-binding factor mutations of leukemic cells. Pediatric patients with these mutations have a favorable prognosis and do not benefit from matched related donor HSCT<sup>9,10</sup>. The finding that patients with a normal karyotype may have cryptic mutations, and that these mutations may have prognostic value, provided new insight into these patients, who were previously considered at low risk in most protocols<sup>9</sup>. Other genetic abnormalities, such as -5/del(5q), -7/del(7q) or complex karyotype, wild-type *NPM1*, and *FLT3*-ITD, are associated with poor prognosis<sup>11</sup>. It cannot be denied that, since the 1970s, childhood AML survival rates have improved; however, overall survival (OS) remains suboptimal. Despite improvements in risk stratification, tailoring of treatment to the individual characteristics of each patient and of the disease and better indications for HSCT,

the 3-year OS still ranges from 63 to 75%<sup>12,13,14,15,16,17,18,19</sup>.

To date, little has been published about childhood AML in Brazil. Considering its relatively low incidence (seven occurrences per 1 000 000 children/year)<sup>7</sup> and prognosis, several international collaborative groups have been focused on analyzing epidemiological and prognostic factors in an attempt to improve treatment strategies and increase OS and event-free survival (EFS) rates<sup>7</sup>. The present study was therefore designed to describe the epidemiological features and survival rates of patients with childhood AML treated at southern Brazilian hospitals and compare the findings with international data.

## **Materials and methods**

We conducted a multicenter cohort study with retrospective data collection of all new AML cases in patients younger than 18 years treated at five public referral hospitals in Rio Grande do Sul, the southernmost state of Brazil, from January 2005 to December 2015. AML diagnosis was confirmed by morphological analysis and flow cytometric immunophenotyping of bone marrow aspirate and by anatomopathological study of bone marrow biopsy. Patients with secondary AML were excluded from the analysis. The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (approval number 15-0589), with secondary approvals from the Ethics Committees of all participating centers. Informed consent was waived due to the non-interventional design of the study and retrospective nature of data collection.

The patients' medical records were reviewed for data on demographics (sex, place of origin, and date of birth), presentation at diagnosis (date of diagnosis, French-American-British [FAB] classification, and karyotype), treatment (systemic chemotherapy regimen,

autologous and/or allogeneic BMT), and follow-up after diagnosis (current status, date of recurrence, date of diagnosis of a second neoplasm, date of death, or date of last contact).

### *Statistical analysis*

The number of patients aged < 18 years with a diagnosis of AML who received care at the five participating centers during the study period determined the sample size. Continuous variables were expressed as mean (SD) or median and range. Qualitative variables were expressed as absolute and relative frequencies. Survival curves were estimated by the Kaplan-Meier method and compared by the chi-square test. Cox regression models were used to evaluate associations between outcomes of interest. Data were analyzed using SPSS, version 20.0 for Windows. The level of significance was set at 5% for all analyses.

### **Results**

A total of 149 patients with a diagnosis of childhood AML treated at five pediatric hematology-oncology referral hospitals in southern Brazil over a 10-year period were analyzed. Most patients were male (n=94, 63.0%), and 60 (40.3%) had a white blood cell (WBC) count below 50 000/mm<sup>3</sup>. The most common FAB subtype was M3 in 28.9% of patients (n=43). Table 1 shows the main characteristics of the patient cohort.

Nine (6.0%) patients had central nervous system (CNS) disease, and one (0.6%) patient had pulmonary disease. Ten (6.7%) patients had extramedullary leukemia (EML). Of these, four were classified as M4/M5, one as M1, one as M3, one as M6, one as M7, and two as unspecified non-M3 FAB subtypes.

Regarding karyotype, only 102 (68.4%) patients had available information. Of these, 26 (25.5%) had a normal karyotype (Figure 1).

Fifteen patients (10.0%) were < 1 year of age at diagnosis, 23 (15.4%) were 1-4 years of age, 22 (14.8%) were 4-9 years of age, 57 (38.3%) were 9-15 years of age, and 32 (21.5%) were >15 years of age. At diagnosis, Cox regression analysis showed no association between WBC count, age, and risk of death or relapse ( $p=0.46$  and  $p=0.73$ , respectively).

Eight patients (5.4%) had associated syndromes: six had Down syndrome, one had trisomy 13 syndrome, and one had Fanconi anemia. Among patients with Down syndrome, four were male; five patients were classified as M7 subtype and one as M0 subtype. None of these patients had EML, and no radiotherapy or transplant was required. Only one patient with Down syndrome relapsed; this patient died 17 months after the initial diagnosis. Two other patients with Down syndrome died, one due to disease progression and the other due to infection. The patient with trisomy 13 syndrome underwent HSCT at first remission and is still alive after 75 months of follow-up. The patient with Fanconi anemia had two bone marrow relapses and died 9 months after the diagnosis due to disease progression.

### *Treatment*

Most patients with acute promyelocytic leukemia (31/43 patients) were treated with the GIMEMA-AIEOP AIDA protocol, which consists of all-*trans*-retinoic acid (ATRA) and idarubicin as induction, followed by three polychemotherapy consolidation courses<sup>20</sup>. The PETHEMA LPA-99 protocol was used in three other patients (also including idarubicin and ATRA as the induction regimen),<sup>21</sup> and two patients received treatment similar to that of the North American Leukemia Intergroup Protocol C9710 (ATRA+ daunorubicin + cytarabine)<sup>22</sup>. All other patients had no available information on the treatment protocol used.

Information on treatment protocol was accurately recorded in 79 of 106 patients with non-promyelocytic leukemia (74.5%). Most treatment strategies (n=44, 55.7%) were based on the Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) group protocols (1983, 1993, 1998, and 2004), in which there is a period of maintenance therapy and etoposide induction<sup>23,17</sup>. Fourteen patients (17.7%) received treatment based on the St. Jude AML02 multicenter trial,<sup>6</sup> 13 (16.4%) were treated with a Brazilian protocol,<sup>24</sup> five (6.3%) were treated with the '7 + 3' regimen, and three (3.8%) were treated with other protocols.

#### *Relapse and causes of death*

A total of 48 (32.2%) patients relapsed, 45 (93.7%) had a bone marrow relapse and three (6.3%) had a CNS relapse. The most frequently used regimens in second-line therapy were fludarabine, cytarabine, and granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), with or without idarubicin (FLAG/IDA-FLAG). In some patients, idarubicin was replaced by another anthracycline, such as mitoxantrone and daunorubicin, at an equivalent dose. The median time from diagnosis to relapse was 11 months (range, 2-68 months). Twelve (25.0%) patients had a second relapse and one (2.0%) had a third relapse.

A total of 72 (48.3%) patients died. Of the 48 patients who relapsed, 38 (79.1%) died. The leading causes of death were disease progression (n=30, 41.6%) and infection (n=31, 43.0%). Nine (12.5%) patients died of treatment complications: eight with hemorrhagic complications/disseminated intravascular coagulation and one with retinoic acid syndrome. The other two patients died of an error in total parenteral nutrition and head injury. The median time from diagnosis to death was 10 months (range, 4 days to 13.5 years).

### *HSCT*

A total of 33 (22.1%) patients underwent HSCT. Of these, three (9.0%) received autologous, 12 (36.3%) related allogeneic, 14 (42.4%) unrelated allogeneic, two (6.0%) haploidentical, and two (6.0%) umbilical cord blood HSCT types. The median time from diagnosis to transplant was 14 months (range, 6-68 months).

### *Survival*

To calculate the survival rate, we excluded patients with associated genetic syndromes. The mean 3-year OS rates in patients with M3 and non-M3 AML were 69.2% (SD, 7.6%) and 45.3% (SD, 5.0%), respectively ( $p=0.018$ ) (Figure 2). The mean EFS was 67.7% (SD, 7.1 %) in M3 patients and 36.7% (SD, 4.8%) in non-M3 patients ( $p=0.005$ ).

In patients with non-M3 AML, transplantation did not affect EFS rates (transplanted: 37.2% [SD, 8.6%] vs non-transplanted: 36.7% [SD, 5.8%];  $p=0.572$ ). However, OS rates were significantly different between transplanted and non-transplanted patients (61.8% [SD, 8.7%] vs 38.2% [SD, 5.9%];  $p=0.031$ ) (Figure 3).

### **Discussion**

Treatment of childhood cancer has markedly improved over the past decades, and the overall mortality rate has declined by 50% since the 1970s. For childhood AML, survival rates have increased from 20% to an average of 62.5% for patients aged 0-19 years (68% for <15-year-olds and 57% for 15- to 19-year-olds)<sup>25</sup>. Therefore, evaluating epidemiological features and survival probability of patients with childhood AML is essential for continued



progress in disease treatment. Despite a few single-center studies and one major multicenter study conducted in Brazil,<sup>26,27,28,29,30</sup> we still lack epidemiological data to support advances in the treatment of childhood AML. To the best of our knowledge, this is the first multicenter study to document the characteristics and survival rates of patients with childhood AML treated at hematology-oncology referral centers in southern Brazil.

In our cohort, AML occurred predominantly in males (63%), which is consistent with the literature reporting a male predominance in the incidence of AML<sup>1,2,31</sup>. However, AML was diagnosed at a median age of 10.5 years, which is in contrast with the literature that reports a mean age of 5 years at diagnosis<sup>32,33</sup>. Also worthy of note is that the most prevalent age group for AML was 9-15 years (n=57, 38.3%). This prevalence differs from that reported in other Brazilian and international studies, which show a first incidence peak before 1 year of age and a second peak between 15 and 20 years of age, with a mean age of 5 years at diagnosis<sup>32,33</sup>.

We found an incidence of 13.2 occurrences of AML per 1 000 000 children aged < 18 years in the state of Rio Grande do Sul. In the United States, the incidence is of approximately 8.9 occurrences per 1 000 000 children<sup>1,2,34</sup>. A possible explanation is race based. It is known that race can influence the incidence of childhood AML, with data showing a higher prevalence of the disease in patients of Latin-American origin<sup>35,36</sup>. Also, there was a higher prevalence of M3 over other FAB subtypes of AML. The Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute Leukemia found a prevalence of 11% (5/45) of acute promyelocytic leukemia in their AML sample<sup>35</sup>. This is consistent with our finding of 28% (43/106) of cases classified as FAB M3. Although the diagnosis in some patients was molecularly confirmed, in most cases the diagnosis was confirmed by immunophenotype or karyotype.

Another point to consider is the prevalence of EML. Although the prevalence of CNS disease of 6% (n=9) in our study was similar to that reported in previous studies,<sup>37,38</sup> the

overall prevalence of diagnosed EML of 6.7% (n=10) was much lower than that reported in the literature. Most studies report a rate of 20 to 40% of extramedullary involvement in childhood AML cases; however, some authors consider hepatomegaly and CNS disease in the diagnosis of EML, while others do not<sup>37,39,40</sup>. The lower prevalence of non-CNS EML observed in the present study may be due to lack of information in the medical records or, perhaps, due to regional peculiarities. Moreover, children with EML are more frequently classified as M4/M5 subtypes, which is consistent with our findings (four of ten patients with EML were classified as M4/M5). However, prognosis in these cases is still controversial<sup>41</sup>. While some authors argue that EML has a worse prognosis,<sup>38,42</sup> others argue that there is no relationship between extramedullary involvement and prognosis<sup>39,43,44</sup>.

A high WBC count ( $>100 \times 10^9/L$ ) is generally related to a worse prognosis<sup>45,46,47</sup>. In our cohort, only 83 patients had WBC count recorded at diagnosis, with a median WBC count of 20 300/mm<sup>3</sup>. Of these, only 11 had a WBC count  $>100\,000/mm^3$ , but we found no relationship between WBC count and risk of death or relapse (p=0.46). The small number of patients with high WBC counts at diagnosis might have influenced this analysis.

It is known that developing countries have lower OS rates than developed countries<sup>48,49,50</sup>. In developed countries, the 5-year OS for childhood AML ranges from 60 to 70% (Table 2). In a study of 193 children with *de novo* AML conducted in Saudi Arabia, the 5-year OS was 58.8%<sup>33</sup>. In a study of 72 patients in India, the 3-year OS was 36% and EFS was 28%,<sup>49</sup> while in Thailand the 5-year OS was 30.3%<sup>54</sup>. In a recent Brazilian multicenter study, evaluating 703 patients with *de novo* childhood AML (2000-2015) treated as a single controlled clinical trial at many different centers according to the BFM-AML 2004 protocol, the cumulative 5-year OS was 37.7% (SD, 2.8%)<sup>52</sup>. In our study, OS was 45.3% and 3-year EFS was 36.7%. In a study conducted in Florianópolis, a city also located in southern Brazil, the mortality rate was 43%,<sup>53</sup> similar to that of our study (48.3%). These results differ

considerably from those obtained from studies conducted in developed countries<sup>15,17</sup>. The survival differences may be attributed to lack of supportive care, death due to treatment toxicity, difficulties in risk stratification with limited access to molecular examination, and prolonged time to HSCT in developing countries<sup>51</sup>.

The role of HSCT in childhood AML remains controversial<sup>55</sup>. Despite some variability, most indications for HSCT as well as the cytogenetic markers of high risk and standard risk are well known and have been incorporated in the World Health Organization (WHO) classifications<sup>56,57,15,17</sup>. In the present study, there was a significant difference in 3-year OS between transplanted and non-transplanted patients (61.8% vs 38.2%). However, lack of information on the pre-transplant status of the recipients precluded a more detailed analysis.

Treatment complications remain a major cause of morbidity and mortality in childhood AML, even in developed countries, with infection as the leading cause<sup>58,59</sup>. In our study, infection (n=31, 43%) and disease progression (n=30, 42%) were the major causes of death. In the AML-BFM 93 and AML-BFM 98 clinical trials, patients died more frequently in the first 14 days of treatment (n=104, 11.5%) due to disease complications (leukostasis and bleeding). After this period, the major cause of death was infection, mainly bacterial and fungal<sup>59</sup>. Among 492 children with AML enrolled in a multicenter study in the United States and Canada, 58 died of infection, with a cumulative incidence of infection-related mortality of 11% (SD, 2%).<sup>60</sup> The infection-related mortality is expected to be higher in developing countries due to the lack of supportive care. In a study conducted in Central America, of 279 patients with AML, 65 (23%) died of treatment-related complications: 29 of infection and 13 of bleeding<sup>48</sup>.

This study has limitations inherent in its retrospective design. We relied on medical record review alone, and some data were missing or incompletely recorded, resulting in a

reduced sample size for some of the analyses. Despite this shortcoming, it is still possible to draw significant information on the epidemiological aspects of childhood AML treated at southern Brazilian hospitals.

In conclusion, our results show a higher prevalence of the FAB M3 subtype of AML in our population than that reported in the international literature. Although similar to rates reported in other Brazilian studies, OS was decreased compared with that of developed countries. Perhaps increased access to cytogenetic and molecular tests and, more importantly, proper hospital support could improve the survival of children with AML treated in Brazil, thus leading to a survival rate comparable to that of developed countries. Further prospective, multicenter Brazilian studies with a larger sample size are encouraged to better understand the characteristics of AML and improve treatment and prognosis in our population.

### **Acknowledgements**

The authors would like to thank all the centers involved in this study.

### **Conflict of Interest**

The authors declare no conflict of interest.

### **References**

1. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, Mariotto A, Miller BA, Feuer EJ, *et al.* (eds). *SEER Cancer Statistics Review 1975-2004 - Previous Version - SEER Cancer Statistics*

[Internet]. 2007. Available from: [https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975\\_2004/](https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2004/). Access: 10 may 2017.

2. Ries LAG, Smith MA, Gurney JG, Linet M, Tamra T, Young JL, *et al.* *Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975-1995*. NIH Pub No 99-4649. 1999, p 179.
3. Smith MA, Seibel NL, Altekruse SF, Ries LAG, Melbert DL, O’Leary M, *et al.* Outcomes for children and adolescents with cancer: challenges for the twenty-first century. *J Clin Oncol.* 2010 May 20;28(15), pp 2625–2634.
4. Ravindranath Y, Chang M, Steuber CP, Becton D, Dahl G, Civin C, *et al.* Pediatric Oncology Group (POG) studies of acute myeloid leukemia (AML): a review of four consecutive childhood AML trials conducted between 1981 and 2000. *Leukemia* 2005;19(12), pp 2101–2116.
5. Manola KN. Cytogenetics of pediatric acute myeloid leukemia. *Eur J Haematol.* 2009 Nov;83(5):391-405. doi: 10.1111/j.1600-0609.2009.01308.x
6. Rubnitz JE, Inaba H. Childhood acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol.* 2012 Nov;159(3):259-76. doi: 10.1111/bjh.12040.
7. Zwaan CM, Kolb EA, Reinhardt D, Abrahamsson J, Adachi S, Aplenc R, *et al.* Collaborative efforts driving progress in pediatric acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2015;33(27), pp 2949–2962.

8. Kolb EA, Meshinchi S. Acute myeloid leukemia in children and adolescents: identification of new molecular targets brings promise of new therapies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2015;2015:507-13. doi: 10.1182/asheducation-2015.1.507.
9. Tarlock K, Alonzo TA, Loken MR, Gerbing RB, Ries RE, Aplenc R, *et al*. Disease Characteristics and Prognostic Implications of Cell Surface FLT3 Receptor (CD135) Expression in Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Report from the Children's Oncology Group. *Clin Cancer Res*. 2017 Jul 15;23(14):3649-3656. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2353.
10. Lange BJ, Smith FO, Feusner J, Barnard DR, Dinndorf P, Feig S, *et al*. Outcomes in CCG-2961, a Children's Oncology Group Phase 3 Trial for untreated pediatric acute myeloid leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*, 1 February, 2008, v. 111, n° 3 pp 1044-1053.
11. Medinger M, Passweg JR. Acute myeloid leukaemia genomics. *Brit J Haemat*. 2017, v. 179, Issue 4, November 2017, pp. 530–542.
12. Tsukimoto I, Tawa A, Horibe K, Tabuchi K, Kigasawa H, Tsuchida M, *et al*. Risk-stratified therapy and the intensive use of cytarabine improves the outcome in childhood acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol*. 2009; 27: 4007–13.
13. Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito AM, Kudo K, Taga T, *et al*. Excess treatment reduction including anthracyclines results in higher incidence of relapse in core binding factor acute myeloid leukemia in children. *Leukemia*. 2013 Dec; 27(12):2413-6. doi: 10.1038/leu.2013.153.

14. Rubnitz JE, Inaba H, Dahl G, Ribeiro RC, Bowman WP, Taub J, *et al.* Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukaemia: results of the AML02 multicentre trial. *Lancet Oncol.* 2010 Jun;11(6):543-52. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70090-5.
15. Abrahamsson J, Forestier E, Heldrup J, Jahnukainen K, Jónsson OG, Lausen B, *et al.* Response-guided induction therapy in pediatric acute myeloid leukemia with excellent remission rate. *J Clin Oncol.* 2011 Jan 20;29(3):310-5. doi: 10.1200/JCO.2010.30.6829.
16. Gibson BE, Webb DK, Howman AJ, De Graaf SS, Harrison CJ, Wheatley K, *et al.* Results of a randomized trial in children with Acute Myeloid Leukaemia: medical research council AML12 trial. *Br J Haematol.* 2011 Nov;155(3):366-76. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08851.x.
17. Creutzig U, Zimmermann M, Bourquin JP, Dworzak MN, Fleischhack G, Graf N, *et al.* Randomized trial comparing liposomal daunorubicin with idarubicin as induction for pediatric acute myeloid leukemia: results from Study AML-BFM 2004. *Blood.* 2013 Jul 4;122(1):37-43. doi: 10.1182/blood-2013-02-484097.
18. Pession A, Masetti R, Rizzari C, Putti MC, Casale F, Fafioli F, *et al.* Results of the AIEOP AML 2002/01 multicenter prospective trials for the treatment of children with acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; 122: 170–8. 13. doi:10.1182/blood-2013-03-491621.

19. Gamiš AS, Alonzo TA, Meshinchi S, Sung L, Gerbing RB, Raimondi SC, *et al.* Gemtuzumab ozogamicin in children and adolescents with de novo acute myeloid leukemia improves event-free survival by reducing relapse risk: results from the randomized phase III Children's Oncology Group trial AAML0531. *J Clin Oncol.* 2014 Sep 20;32(27):3021-32.
20. Testi AM, Biondi A, Lo Coco F, Moleti ML, Giona F, Vignetti M, *et al.* GIMEMA-AIEOPAIDA protocol for the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL) in children. *Blood.* 2005 Jul 15;106(2), pp 447-453.
21. Sanz MA, Martín G, González M, León A, Rayón C, Rivas C, *et al.* Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans-retinoic acid and anthracycline monochemotherapy: a multicenter study by the PETHEMA group. *Blood.* 2004 Feb 15;103(4), pp 1237-1243.
22. Powell BL, Moser B, Stock W, Gallagher re, Willman CL, Stone RM, *et al.* Clinical Trials and Observations Arsenic trioxide improves event-free and overall survival for adults with acute promyelocytic leukemia: North American Leukemia Intergroup Study C9710. *Blood.* 2010 Nov 11; 116(19), pp 3751–3757. doi: 10.1182/blood-2010-02-269621.
23. Creutzig U, Zimmermann M, Ritter J, Henze G, Graf N, Löffler H, *et al.* Definition of a standard-risk group in children with AML. *Br J Haematol.* 1999 Mar;104(3), pp 630-639.



24. Instituto Nacional do Câncer (INCA-MS). Leucemias agudas na infância e na Adolescência. *Rev Bras Cancerol.* 2001, 47(3), pp 245-57.
25. Smith MA, Altekruse SF, Adamson PC, *et al.*: Declining childhood and adolescent cancer mortality. *Cancer* 120 (16): 2497-506, 2014.
26. Viana MB, Cunha KCCM., Ramos G, Murao M. Leucemia mieloide aguda na criança: experiência de 15 anos em uma única instituição. *J Pediatr.* 2003;79(6):489–96.
27. Lima MC, Bousfield DS, Freund APF, Dacoregio JS, Costa TJB, Costa I, *et al.* Acute Myeloid Leukemia: analysis of epidemiological profile and survival rate. *J Pediatr.* 2016;92(xx), pp 283–289.
28. Rego MFN, Pinheiro GS, Metze K, Lorand-Metze I. Acute leukemias in Piauí: comparison with features observed in other regions of Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 2003;35, pp 331-337.
29. Lacy CB, Levy Junior, IE, Frances LTVM, Wanderley AV, Carneiro RCM, Bentes AQ. Frequency of acute myeloid leukemia in children attended in Belém, Pará from August 2005 to May 2009. [internet], *J Bras Patol Med Lab.* 2015,51(2). Available from: <http://www.jbpml.org.br/detalhes/123/frequencia-de-leucemia-mieloide-aguda-em-criancas-atendidas-em-belem--para--no-periodo-de-agosto-de-2005-a-maio-de-2009>. Access: 10 may 2017.

30. Andrade FG, Noronha EP, Brisson GD, Dos Santos Vicente Bueno F, Cezar IS, Terra-Granado E, *et al.* Molecular Characterization of Pediatric Acute Myeloid Leukemia: Results of a Multicentric Study in Brazil. *Arch Med Res.* 2016 Nov; 47(8):656-667. doi: 10.1016/j.arcmed.2016.11.015.
31. National Cancer Institute (NIH). *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010.* Surveillance, Epidemiology, and End-Results Program. (2013). Available from: [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2010/browse\\_csr.php?section=28&page=sect\\_28\\_table.01.html](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2010/browse_csr.php?section=28&page=sect_28_table.01.html). Access: 14 may 2017.
32. Webb DKH, Harrison G, Stevens RF, Gibson BG, Hann IM. Relationships between age at diagnosis, clinical features, and outcome of therapy in children treated in the Medical Research Council AML 10 and 12 trials for acute myeloid leukemia. *Blood.* 2001;98(6), pp 1714–1721.
33. Jastaniah W, Al Ghemlas I, Al Daama S, Ballourah W, Bayoumy M, Al-Anzi F, *et al.* Clinical characteristics and outcome of childhood de novo acute myeloid leukemia in Saudi Arabia: A multicenter SAPHOS leukemia group study. *Leuk Res.* 2016;49, pp 66–72.
34. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Altekruse SF, *et al.*, SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013, *National Cancer Institute.* [internet], April 2016. Available at: [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2013/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/). Access: 12 may 2017.

35. Mendes L, Coser VM, Ramos G, Waldir P, Lopes LF, Oliveira MSP. letter: The apparent excesso acute promyelocytic leukemia in infant acute leukemias in Brazil. *Hematologica*. 2004; 89:(11) e135 Wellington.
36. Douer D, Preston-Martin S, Chang E, Nichols PW, Watkins KJ, Levine AM. High frequency of acute promyelocytic leukemia among Latinos with acute myeloid leukemia. *Blood*. 1996 Jan 1;87(1), pp 308-313.
37. Støve HK, Sandahl JD, Abrahamsson J, Asdahl PH, Forestier E, Ha SY, *et al*. Extramedullary leukemia in children with acute myeloid leukemia: A population-based cohort study from the Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology (NOPHO). *Pediatr Blood Cancer*. 2017 Dec;64(12). doi: 10.1002/pbc.26520. Epub 2017 Mar 23.
38. Chang M, Raimondi SC, Ravindranath Y, Carroll AJ, Camitta B Gresik MV, *et al*. Prognostic factors in children and adolescents with acute myeloid leukemia (excluding children with Down syndrome and acute promyelocytic leukemia): Univariate and recursive partitioning analysis of patients treated on Pediatric Oncology Group (POG) Study 8821. *Leukemia*. 2000;14, pp 1201–1207.
39. Bisschop MM, Révész T, Van Weerden JF, Hählen K, Van der Does-van den Berg A. Extramedullary infiltrates at diagnosis have no prognostic significance in children with acute myeloid leukaemia. *Leukemia*, 2001. Jan;15(1), pp 46-49.

40. Kobayashi R, Tawa A, Hanada R, Horibe K, Tsuchida M, Tsukimoto I, *et al.* Extramedullary infiltration at diagnosis and prognosis in children with acute myelogenous leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2007 Apr;48(4):393-8.
41. Bakst RL, Tallman MS, Douer D, Yahalom J. How I treat extramedullary acute myeloid leukemia. *Blood*. 2011;118(14), pp 3785-3793.
42. Paydas S, Zorludemir S, Ergin M. Granulocytic sarcoma: 32 cases and review of the literature. *Leuk Lymphoma*. 2006;47(12), pp 2527-2541.
43. Lan TY, Lin DT, Tien HF, Yang RS, Chen CY, Wu K. Prognostic factors of treatment outcomes in patients with granulocytic sarcoma. *Acta Haematol*. 2009;122(4):238- 246.
44. Tsimberidou AM, Kantarjian HM, Estey E, Cortes JE, Verstovsek S, Faderl S, *et al.* Outcome in patients with nonleukemic granulocytic sarcoma treated with chemotherapy with or without radiotherapy. *Leukemia*. 2003;17(6): 1100-1103.
45. Zeller B, Glosli H, Forestier E, Ha SY, Jahnukainen K, Jónsson ÓG, *et al.* Hyperleucocytosis in paediatric acute myeloid leukaemia - the challenge of white blood cell counts above  $200 \times 10^9 /l$ . The NOPHO experience 1984-2014. *Br J Haematol*. 2017 Aug;178(3), pp 448-456. doi: 10.1111/bjh.14692. Epub 2017 May 25.
46. Hug, V., Keating, M., McCredie, K., Hester, J., Bodey, G.P, Freireich, E.J. Clinical course and response to treatment of patients with acute myelogenous leukemia presenting with a high leukocyte count. *Cancer*, 1983. 52, pp 773–779.

47. Creutzig U, Ritter J, Budde M, Sutor A, Schellong G. Early deaths due to hemorrhage and leukostasis in childhood acute myelogenous leukemia. *Cancer*, 1987. 60, pp 3071–3079.
48. Gupta S, Bonilla M, Valverde P, Fu L, Howard SC, Ribeiro RC, *et al*. Treatment-related mortality in children with acute myeloid leukaemia in Central America: incidence, timing and predictors. *Eur J Cancer*. 2012 Jun;48(9):1363-9. doi: 10.1016/j.ejca.2011.10.009.
49. Radhakrishnan V, Thampy C, Ganesan P, Rajendranath R, Ganesan TS, Rajalekshmy KR, *et al*. Acute Myeloid Leukemia in Children: Experience from Tertiary Cancer Centre in India. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2016 Sep;32(3):257-61. doi: 10.1007/s12288-015-0591-5.
50. Xu XJ, Tang YM, Song H, Yang SL, Shi SW, Wei J. Long-term outcome of childhood acute myeloid leukemia in a developing country: experience from a children's hospital in China. *Leuk Lymphoma*. 2010 Dec;51(12):2262-9. doi: 10.3109/10428194.2010.518653.
51. Howard SC, Wilimas JA. Delays in diagnosis and treatment of childhood cancer: where in the world are they important? *Pediatr Blood Cancer*, 2005; 44(4):303–4.
52. Andrade FG, Noronha EP, Brisson GD, Dos Santos Vicente Bueno F, Cezar IS, Terra-Granado E, *et al*. Molecular Characterization of Pediatric Acute Myeloid Leukemia: Results of a Multicentric Study in Brazil. *Arch Med Res*. 2016 Nov; 47(8):656-667. doi: 10.1016/j.arcmed.2016.11.015.

53. De Lima MC, da Silva DB, Freund AP, Dacoregio JS, Costa Tel J, Costa I, *et al.* Acute Myeloid Leukemia: analysis of epidemiological profile and survival rate. *J Pediatr (Rio J)*. 2016 May-Jun;92(3):283-9. doi: 10.1016/j.jpmed.2015.08.008.
54. Rujkijyanont P, Kaewinsang S, Monsereenusorn C, Traivaree C. Pediatric acute leukemia: the effect of prognostic factors on clinical outcomes at Phramongkutkloa Hospital, Bangkok, Thailand. *J Med Assoc Thai*. 2014 Feb;97 Suppl 2:S188-95.
55. Flower A, Cairo MS. The Evolution of Allogeneic Stem Cell Transplant for Children and Adolescents with Acute Myeloid Leukemia. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2017 Jan;15(1), pp 52-62.
56. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, *et al.* The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009 Jul 30;114(5), pp 937-51. doi: 10.1182/blood-2009-03-209262.
57. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20), pp 2391-405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.
58. Kurt B, Flynn P, Shenep JL, Pounds S, Lensing S, Ribeiro RC, *et al.* Prophylactic antibiotics reduce morbidity due to septicemia during intensive treatment for pediatric acute myeloid leukemia. *Cancer*. 2008; 113:376–382.

59. Creutzig U, Zimmermann M, Reinhardt D, Dworzak M, Stary J, Lehrnbecher T. Early deaths and treatment-related mortality in children undergoing therapy for acute myeloid leukemia: analysis of the multicenter clinical trials AML-BFM 93 and AML-BFM 98. *J Clin Oncol*. 2004 Nov 1;22(21):4384-93.
60. Sung L, Lange BJ, Gerbing RB, Alonzo TA, Feusner J. Microbiologically documented infections and infection-related mortality in children with acute myeloid leukemia. *Blood*, 15 November, v. 110, n° 10, 2007, 110: 3532-3539. doi:10.1182/blood-2007-05-091942.
61. Hasle H, Abrahamsson J, Forestier E, Ha SY, Heldrup J, Jahnukainen K, *et al*. Gemtuzumab ozogamicin as postconsolidation therapy does not prevent relapse in children with AML: results from NOPHO-AML 2004. *Blood*. 2012 Aug 2;120(5), pp 978-984.

**Table 1.** Baseline characteristics of the pediatric AML cohort

<b>Variables</b>	<b>N = 149</b>
Age, years, median (range)	10.5 (0-18)
Male sex, n (%)	94 (63.1)
White blood cell count (/mm <sup>3</sup> ), n (%)	
<10 000	31(20.8)
10 000-50 000	29 (19.5)
>50 000-100 000	12 (8.1)
>100 000	11 (7.4)
Not reported	66 (44.3)
CNS +, n (%)	9 (6.0)
FAB subtype, n (%)	
M0	11 (7.4)
M1	15 (10.1)
M2	15 (10.1)
M3	43 (28.9)
M4	14 (9.4)
M5	12 (8.1)
M6	5 (3.4)
M7	11 (7.4)
Non-M3	23 (15.4)

**Legend for Table 1:** Baseline characteristics of the AML cohort. AML= acute myeloid leukemia; FAB= French-American-British classification of AML; CNS= central nervous system.



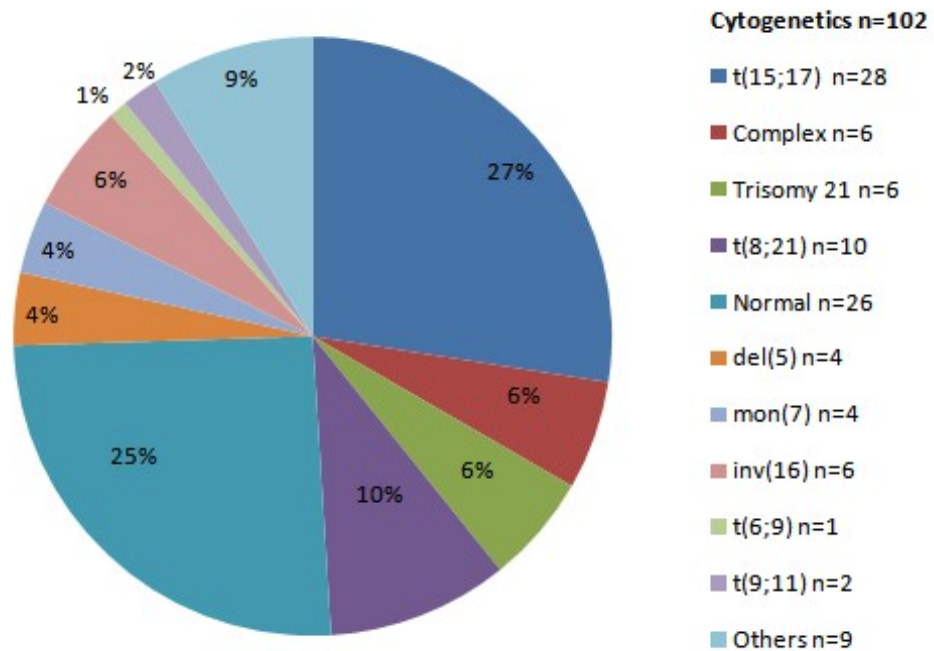
**Table 2.** Survival in different studies

Study group (inclusion date)	No. of patients	Follow-up		No. of patients with HSCT
		Median EFS (%)	Median OS (%)	
Saudi Arabia (2005-2012) <sup>33</sup>	175	5 years (40.9)	5 years (58.8)	CR1: 49
BFM-AML (2004-2010) <sup>6</sup>	521	5 years (55.0)	5 years (74.0)	42
NOPHO (2004-2009) <sup>61</sup>	151	3 years (57.0)	3 years (69.0)	22
Indian cohort (2008-2013) <sup>49</sup>	72	3 years (28.0)	3 years (36.0)	-
Present study* (2005-2015)	106	3 years (36.7)	3 years (45.3)	33

**Legend for Table 2:** Survival in different studies, BFM-AML= Berlin-Frankfurt-Münster protocol for acute myeloid leukemia; NOPHO= Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology; HSCT= hematopoietic stem cell transplantation; OS= overall survival; EFS= event-free survival.

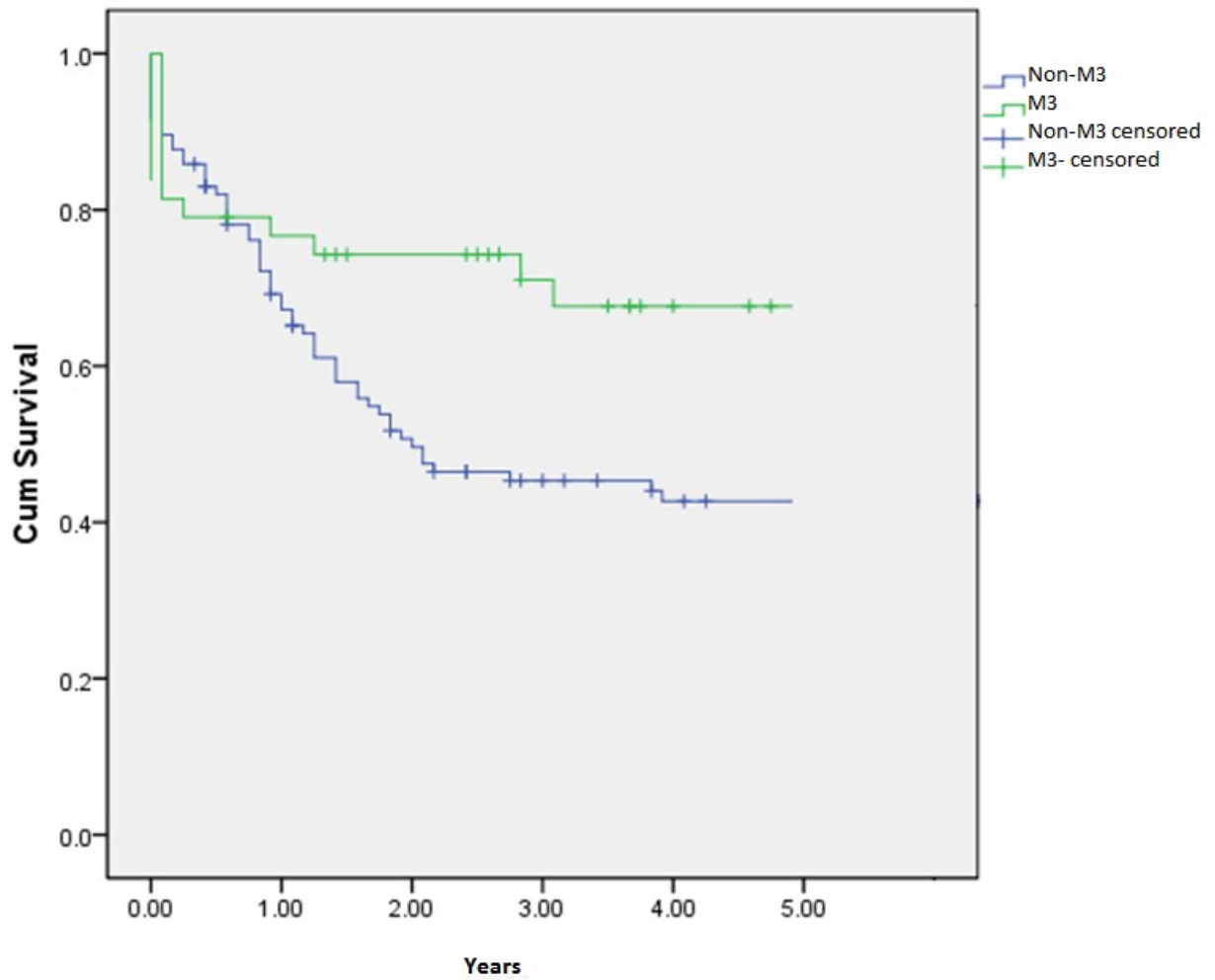
\* We included only patients with non-promyelocytic acute myeloid leukemia (n=106). Note the difference in survival in developed vs developing countries.

**Figure 1.** Frequency of cytogenetic abnormalities.



**Legend for Figure 1:** Frequency of cytogenetic abnormalities. Seven patients had no record of cytogenetic testing; 28 (27%) patients had a t karyotype (15;17) and 26 (25%) had a normal karyotype, which, according to most current protocols, is considered an intermediate risk.

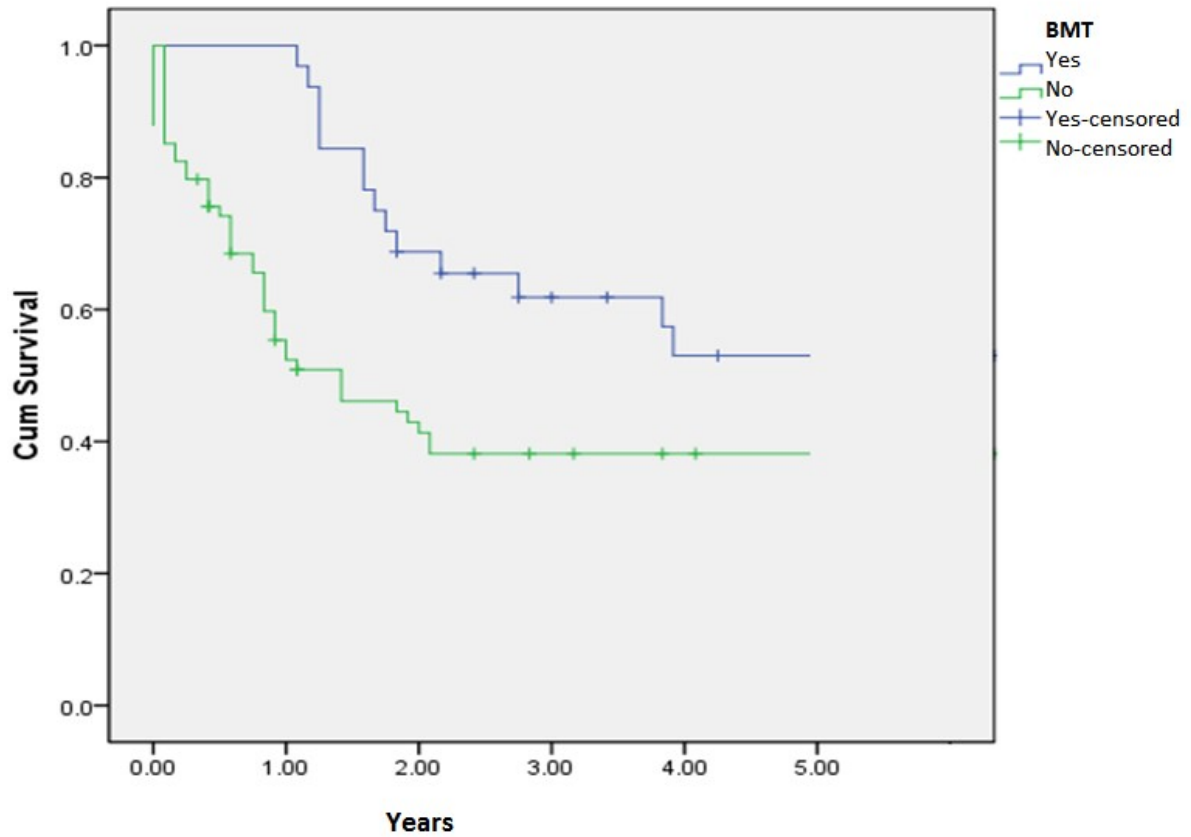
**Figure 2.** Overall survival for promyelocytic and non-promyelocytic leukemia.



**Legend for Figure 2:** Overall survival for promyelocytic and non-promyelocytic leukemia.

The 3-year overall survival was 68.0% (SD, 7.6%) for M3 and 45.0% (SD, 5.0%) for non-M3 acute myeloid leukemia;  $p=0.018$ .

**Figure 3.** Overall survival in patients with non-acute promyelocytic leukemia, with and without bone marrow transplantation.



**Legend for Figure 3:** Overall survival in patients with non-acute promyelocytic leukemia, with and without bone marrow transplantation. The 3-year overall survival was 62.0% (SD, 8.7%) in transplanted patients vs 38.0% (SD, 5.9%) in non-transplanted patients;  $p=0.031$ .

## 8 CONCLUSÕES

Este trabalho é uma das poucas avaliações epidemiológicas sobre LMA na infância em nosso país. Salientamos a prevalência maior do subtipo FAB M3 comparada à literatura mundial. Viu-se a sobrevida global semelhante a outros estudos brasileiros, porém menor quando comparada a países desenvolvidos, nos pacientes com LMA não M3. Diante disso, evidencia-se a importância de estudos multicêntricos, prospectivos, incluindo um maior número de pacientes. Desta maneira poderiam ser melhor avaliados quais os fatores que implicam na menor sobrevida dos pacientes no país. Seria, por exemplo, o suporte clínico, maior incidência de infecções, atraso quimioterápico relacionado a período de neutropenia e infecções, melhor estratificação de risco para direcionamento de tratamento? Identificando-se com maior clareza os fatores envolvidos poderão ser traçados um plano e assim melhorar tanto o tratamento quanto o prognóstico das crianças com leucemia mielóide aguda tratada em nosso país.