

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica

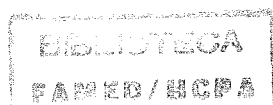
**OBSERVAÇÕES PRELIMINARES SOBRE A SEGURANÇA E A ATIVIDADE
ANTI-TUMORAL DA COMBINAÇÃO DO AGENTE HIPOMETILADOR DO DNA
DECITABINA COM DAUNORUBICINA COMO TRATAMENTO DE PRIMEIRA
LINHA EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA.**

Mário Sérgio Fernandes

Orientador: Prof. Gilberto Schwartzmann

Dissertação de Mestrado

2000



Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica

**OBSERVAÇÕES PRELIMINARES SOBRE A SEGURANÇA E A ATIVIDADE
ANTI-TUMORAL DA COMBINAÇÃO DO AGENTE HIPOMETILADOR DO DNA
DECITABINA COM DAUNORUBICINA COMO TRATAMENTO DE PRIMEIRA
LINHA EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA.**

Mário Sérgio Fernandes

**Dissertação apresentada no curso de Pós-Graduação em Clínica Médica
como requisito para a obtenção do título de Mestre.**

Orientador: Prof. Gilberto Schwartzmann

Dissertação de Mestrado

2000

MED
T
wh250 F363o 2000

05189682

[0283473] Fernandes, Mário Sérgio. Observações preliminares sobre a segurança e a atividade anti-tumoral da combinação do agente hipometilador do DNA decitabina com daunorubicina como tratamento de primeira linha em pacientes com leucemia mielóide aguda. 2000. 113 f. .

F363o Fernandes, Mário Sérgio

Observações preliminares sobre a segurança e a atividade anti-tumoral da combinação do agente hipometilador do DNA decitabina com daunorubicina como tratamento de primeira linha em pacientes com leucemia mielóide aguda / Mário Sérgio Fernandes ; orient. Gilberto Schwartzmann. – Porto Alegre, 2000. 113 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina : Clínica Médica.

1. Leucemia mielóide aguda : Terapia. 2. Daunorubicina. 3. Decitabina. I. Schwartzmann, Gilberto. II. Título.

NLM: WH 250

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado aos pacientes que participaram da pesquisa e seus familiares.

AGRADECIMENTOS

Ao colega, amigo e orientador Prof. Gilberto Schwartzmann, pela especial atenção e pelos conhecimentos transmitidos durante o período da dissertação.

Aos médicos residentes do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul por participarem do atendimento clínico e preenchimento dos formulários.

A Luciane Kalakun e Luciane Di Leoni pela participação na monitorização dos dados da pesquisa e pelo incentivo.

A Fernanda Longhi pela ajuda importante no trabalho com os prontuários.

A Mariza, Pedro, Henrique, Débora e Júlia, pela compreensão.

A meus pais e irmãos pelo apoio.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATRA	Ácido <i>all-trans</i> -retinoico
DAC	5-aza-2'-deoxicitidina, decitabina
CALGB	Cancer and Leukemia Group B
CTC	Common Toxicity Criteria
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FAB	French-American-British group classification
LD	Lethal Dose
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
NCI	National Cancer Institute
PUC	Pontifícia Universidade Católica
RC	Remissão Completa
RP	Remissão Parcial
WHO	World Health Organization

ÍNDICE

Introdução	7
Revisão da literatura	11
Objetivos	27
Objetivo geral	27
Objetivo específico	27
Referências da revisão da literatura	28
Artigo relacionado publicado em língua inglesa	39
Abstract	39
Introduction	40
Patients And Methods	42
Study design, end-points and statistical considerations	42
Eligibility criteria	42
Evaluation of responses and toxicity	43
Drug supply and administration	43
Follow-up studies	45
Ethical considerations	45
Results	46
Discussion	47
References	49
Tables	52
Artigo original em língua portuguesa	57
Resumo	57
Objetivo	57

Métodos	57
Resultados	58
Conclusão	58
Introdução	59
Pacientes e métodos	61
Pacientes	61
Delineamento e procedimentos	61
Efeitos adversos	64
Análise dos resultados	64
Resultados	66
Discussão	68
Conclusões	70
Considerações finais	71
Referências	72
Tabelas	76
Anexos	81

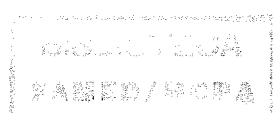
INTRODUÇÃO

A leucemia aguda faz parte de um grupo heterogêneo de neoplasias, afetando as células hematopoéticas pluripotenciais parcialmente ou não diferenciadas (1). Predisposições genéticas, exposição ambiental, drogas e fatores ocupacionais têm sido implicado como possíveis agentes leucemogênicos em crianças e adultos (2).

As leucemias agudas são classificadas em categoria linfocítica e não-linfocítica (ou comumente referida como mielóide) e a Leucemia Mielóide Aguda (LMA) representa um grupo que tem similaridade clínica mas com apresentação morfológica, imunológica e citogenética distinta (1,3). A classificação FAB (French-American-British Classification), baseada na morfologia e, em menor grau, na citoquímica dos esfregaços sanguíneos e de medula óssea, identifica 8 subtipos de LMA (4). Modificação tem sido proposta para melhorar esta classificação incluindo dados de imunofenotipagem e de cariograma (5).

Nos Estados Unidos da América a incidência anual de LMA é de 2.2 por 100.000 e há aproximadamente 9.700 novos casos cada ano. A incidência aumenta com a idade, é maior em homens do que em mulheres e é responsável por 80 a 90% dos casos de leucemia aguda no adulto (6-8). No Brasil, o Ministério da Saúde registrou o número de 1132 óbitos por LMA em 1996, o equivalente a 0.75 óbitos por 100.000 pessoas (9). No Estado do Rio Grande do Sul, em 1998, houve 77 óbitos por LMA, equivalendo a 0.78 por 100.000 pessoas e representou 0.65% do total das mortes por neoplasias (10).

O objetivo da terapia da LMA é induzir e manter uma remissão completa (RC) que consiste em chegar, após a terapia quimioterápica de indução, numa contagem plaquetária acima de $100 \times 10^9/L$, contagem de neutrófilos acima ou igual a $1500 \times 10^9/L$ e menos de 5% de blastos na medula óssea (3,11). Isto ocorre geralmente após um período de aplasia



que se consegue, atualmente, em torno de 62% dos pacientes com a terapia padrão (citarabina e daunorubina) com menos de 15% de todos os pacientes conseguindo manter uma sobrevivência global num período de 5 anos (12,13). No Brasil e América do Sul as poucas referências sobre o assunto registram uma taxa de RC entre 41 e 56%, com sobrevivência livre de doença em dois anos em 18 a 24% (14-18).

A terapia pós-remissão consiste em uma quimioterapia de consolidação ou intensificação e é essencial para eliminar a doença residual e chegar a uma sobrevivência livre de doença por um período longo. Isto depende de um número de fatores incluindo idade, mielodisplasia prévia, rapidez em obter a RC e a citogenética (1,3).

Várias são as causas de falha na terapia da LMA, tais como o desenvolvimento de resistência às drogas, toxicidade medular exagerada e doença extramedular (19,20). Tanto o transplante heterólogo como autólogo de medula óssea parecem ter bons resultados após a remissão pois podem potencialmente diminuir as chances de recidiva, apesar de acrescentar riscos de morbidade e mortalidade devido a infecções e a doença enxerto versus hospedeiro. Alguns trabalhos mais recentes mostram similaridade na sobrevivência global comparando ambos os tipos de transplantes com a quimioterapia pós-remissão (21-24).

A droga citosina arabinoside (Ara-C) vem sendo usada há mais de 20 anos na terapia de indução de remissão, em vários esquemas de aplicação, combinações e de dose. Quando usada em combinação com a daunorubicina no tratamento de primeira linha para a LMA, produz percentuais de RC acima de 50%. Apesar disso, a maioria dos pacientes com LMA recaem e acabam por falecer devido à progressão da doença (25-31).

Conseguir elevar o percentual de remissões completas na terapia de indução é fundamental para que melhorem os índices de cura em pacientes com LMA (32-34). Neste sentido, vários agentes têm sido testados em combinação com o Ara-C, como o etoposide, a mitoxantrone e a idarubicina, ou mesmo regimes com altas doses de Ara-C (35-39). Portanto, a identificação de novas drogas com maior nível de respostas tanto como agente único como em combinação é plenamente justificada.

A decitabina (5-aza-2'-deoxycytidine; 5-AZA-2'-CdR, DAC) um novo agente hipometilador do DNA, tem demonstrado um significativo efeito antileucêmico em estudos pré-clínicos e clínicos iniciais (40). Estudos comparativos com o Ara-C em modelos pré-clínicos sugerem que este agente tenha atividade comparável ou superior ao Ara-C em linhagens celulares de leucemia mieloide aguda humana (41). Além disso, possui efeito indutor de diferenciação celular em modelos de leucemia humana in vitro (42,43).

Pelas razões acima mencionadas, a decitabina pareceu-nos um agente experimental de potencial interesse no tratamento de pacientes com LMA. Uma vez que o tratamento padrão da LMA consiste da combinação do agente Ara-C com a daunorubicina, desenhamos um estudo-piloto no sentido de obter dados preliminares quanto à segurança e atividade antileucêmica de um regime em que o agente decitabina fosse utilizado em substituição ao Ara-C na combinação com daunorubicina como terapia de primeira linha para o tratamento de pacientes com LMA.

Foram observados efeitos antileucêmicos em pacientes com LMA, dentro de um perfil de toxicidade clínica aceitável. Estes achados foram decisivos para que a decitabina continuasse a ser estudada com mais profundidade por outros investigadores.

Hoje, a decitabina começa a fazer parte do armamentário terapêutico das síndromes mielodisplásicas em vários países, estando também em fase adiantada de avaliação nos EUA e na Europa em estudos multicêntricos prospectivos e randomizados como substituto do Ara-C em regimes de primeira linha no tratamento de pacientes com LMA. Este estudo-piloto, objeto desta dissertação, desempenhou um papel decisivo no desenvolvimento deste novo e promissor medicamento.

REVISÃO DA LITERATURA

A LMA é uma doença clonal maligna de células hematopoéticas imaturas e, devido à proliferação e maturação aberrante, caracteriza-se por uma acumulação de grande número de células anormais que falham em se diferenciar em granulócitos e monócitos funcionais (44).

A LMA é relativamente infrequente sendo estimada em 1.2% de todas as mortes por câncer no Estados Unidos e com incidência anual de 2.2 por 100.000 (6-8). No Brasil, temos a estatística equivalente a 0.75 óbitos por 100.000 pessoas e, no Estado do Rio Grande do Sul, 0.78 por 100.000 pessoas, com 77 óbitos por LMA representando 0.65% do total das mortes por neoplasias (9,10).

Apesar de incomum a LMA tem sido objeto de muita pesquisa em função de ser rapidamente fatal se não tratada e, historicamente, tem sido o protótipo de malignidade que tem gerado valioso aprendizado na biologia e terapêutica do câncer. Citogeneticamente é, provavelmente, a doença neoplásica humana mais extensivamente estudada (45,46).

A patogênese da LMA é incerta mas envolve anormalidades cromossômicas na maioria dos pacientes. Novos métodos diagnósticos, incluindo a reação em cadeia de polimerase, têm aumentado a sensibilidade de detecção das anormalidades cromossômicas e a habilidade de detectar doença residual mínima (1,2).

Estratégias terapêuticas importantes que são essenciais para o tratamento moderno das neoplasias foram primeiramente mostradas serem úteis quando aplicadas na LMA. Isto inclui o cuidado nas complicações da aplasia medular como o manejo da neutropenia febril e o policiamento nas transfusões de plaquetas, o cuidado com a quimioterapia, a

importância da RC, o transplante de medula óssea e células progenitoras periféricas e a identificação de marcadores genéticos mais importantes. Subseqüentemente, uma grande evolução tem ocorrido na linha de estratégias inovadoras durante as últimas três décadas para esta doença (45).

A terapia da LMA pode ser dividida em duas fases: terapia de indução e terapia pós-remissão. O objetivo da terapia de indução é a RC que, usualmente, requer um período de aplasia (exceto na leucemia pró-mielocítica aguda) (1). Como definido pelo National Cancer Institute (11) RC é definida por normalização da contagem de neutrófilos (acima ou igual a $1500 \times 10^9/L$) e plaquetas (acima de $100 \times 10^9/L$) e menos de 5% de blastos numa medula óssea com pelo menos 20% de celularidade, sem bastão de Auer, bem como ausência de leucemia extramedular. Além disso estes critérios devem estar mantidos por pelo menos 4 semanas ou até o início da terapia de intensificação (ou pós-remissão) se ocorrer antes deste período. Remissão parcial (RP) é definido por 5 a 25% de blastos.

A terapia pós-remissão pode consistir em quimioterapia de consolidação ou intensificação e de manutenção. Terapia de manutenção é menos intensiva e menos mielossupressora do que a indução. Consolidação envolve regimes similares àqueles usados na indução e a intensificação envolve o uso de drogas de doses maiores que na indução. A terapia de manutenção não é importante em LMA como na leucemia linfocítica aguda e, provavelmente, não se justifica se uma terapia pós-remissão tiver adequada intensidade. Como a consolidação pode ser de variável intensidade alguns autores sugerem que seja sinônimo de intensificação quando altas doses de drogas forem usadas.(1,47).

Assim, a terapia da LMA essencialmente envolve estas duas fases pré-mencionadas de indução e pós-remissão (consolidação ou intensificação). Estas duas fases têm sido consideradas arbitrárias porque leucemia residual submicroscópica ainda é demonstrada depois da RC conseguida com a terapia de indução. Ensaio randomizados que não envolvem terapia pós-remissão têm cura de 0% demonstrando que esta fase é necessária para eliminar a doença residual e conseguir a cura (1,26,45,47).

A maior causa de morte na indução é infecção e hemorragia. Uma melhora no provimento de transfusão plaquetária tem sido responsável por substancial redução nas mortes hemorrágicas nos últimos 20 anos. Um grupo australiano de tratamento de LMA relatou que hemorragia com ou sem infecção foi a maior causa de morte em 56% dos pacientes durante a quimioterapia de indução em 1976 evoluindo para apenas 8% em 1996. A infecção continua sendo a maior causa de morte na terapia de indução em LMA. O uso de novas drogas antibacterianas tem reduzido as infecções por bactérias gram-negativas mas o *staphylococcus aureus* e fungos são persistentes problemas clínicos (45).

Uma outra conduta para reduzir a prolongada e profunda neutropenia na terapia de indução da LMA é o uso de fatores de crescimento hematopoético. Os estudos prospectivos com estes medicamentos, na sua maior parte, têm sido conduzidos em pacientes mais velhos onde o risco de morte por aplasia medular justifica a preocupação do risco potencial de estimulação de células leucêmicas. Vários estudos têm sido publicados, mas apresentando diferentes tanto os delineamentos, como a idade dos pacientes e os regimes de indução (48-49). Até o momento, a experiência agregada sugere que, apesar de os fatores de crescimento encurtarem o período de neutropenia seguindo a quimioterapia de indução e alguns estudos mostrarem redução significativa da morbidade, a RC e a sobrevivência global na grande maioria das vezes não são melhoradas. Por outro lado, o uso de fatores de crescimento parece seguro com pouco ou nenhum risco de

estimulação leucêmica. Este fato permitirá estudos avaliando os fatores de crescimento como terapia preparadora, como agentes indutores de diferenciação e como imunomoduladores (50-52).

Em 1968, Ellison et al no Cancer and Leukemia Group B (CALGB) registraram o uso de citarabina a 30 mg/m² diariamente como infusão contínua para LMA. Este estudo mostrou uma sobrevivência prolongada de 20% nos pacientes que conseguiram a RC e iniciou a terapia moderna para esta doença (53). Aproximadamente 30-40% dos pacientes chegavam a uma RC com citarabina ou daunorubicina dados como agente único. Posterior melhora ocorreu quando estes agentes foram combinados, com uma RC em mais de 50% dos pacientes (25,54).

Outros agentes foram adicionados a citarabina como 6-tioguanina e daunorubicina e a combinação destes três (TAD) foi superior a citarabina mais 6-tioguanina, com RC acima de 50 %. Subseqüentemente, o protocolo TAD foi comparado com a combinação de duas drogas, citarabina por 7 dias e daunorubicina por 3 dias (7+3) em estudos randomizados e mostrou ser equivalente. Esta combinação tornou-se o tratamento de indução padrão (1,3,26-28,45,56).

O CALGB estabeleceu que 3 dias de daunorubicina e 7 dias de citarabina foi melhor do que 2 dias e 5 dias, respectivamente, e que 10 dias de citarabina não foi melhor do que 7 dias. Daunorubicina na dose de 30 mg/m² foi inferior a 45 mg/m² em pacientes com menos de 60 anos e menos tóxico do que adriamicina (doxorubicina) 30 mg/m². Finalmente, a dose de 100 mg/m² de citarabina foi igualmente efetiva quanto 200 mg/m² (55,56).

Quatro estudos randomizados têm comparado idarubicina a daunorubicina e têm sugerido que idarubicina possa ser superior a daunorubicina, particularmente em adultos jovens. Entretanto, não está claro que qualquer melhora observada com idarubicina represente uma vantagem biológica inerente à droga mais do que uma insuficiência para comparar drogas na sua equivalência biológica de doses. Nenhum estudo randomizado prospectivo tem sido registrado comparando daunorubicina na dose de 45 mg/m² com daunorubicina na dose de 60 ou 70 mg/m², nem tem estudos comparando idarubicina na dose de 12 mg/m² com daunorubicina na dose de 60 ou 70 mg/m². Também não está claro que a sobrevivência global com idarubicina seja superior àquela conseguida com daunorubicina desde que dois estudos mostraram vantagem e dois não (33, 57-59).

Mitoxantrona parece ser tão efetivo quanto a daunorubicina em paciente jovens com respeito à RC e a baixa incidência de leucemia resistente (38).

Amsacrina foi comparado com a daunorubicina, ambos associados a arabinoside e 6-tioguanina, e foi mostrada uma RC maior (70% e 54%), conseguida mais RC com somente um ciclo (48 e 28%) e melhor sobrevivência global (35).

Dois grandes estudos prospectivos randomizados compararam diretamente o uso de altas doses de citarabina com esquema padrão de indução de remissão, usando a mesma terapia pós-remissão. Ambos demonstraram que a RC com citarabina em altas doses não foi maior do que a indução padrão e foram associados com aumentada toxicidade hematológica e extramedular. Estes dois grandes estudos também mostraram uma maior sobrevivência livre de doença mas uma similar sobrevivência global (60,61).

A adição de etoposide ao esquema padrão 7+3 não aumentou o nível de RC, melhorou a sobrevivência livre de doença mas não alterou a sobrevivência global em avaliação nos 5 e 10 anos (62).

Assim, a maioria dos adultos com LMA alcançam uma RC com uma antraciclina e citarabina. Entretanto, sobrevivência livre de doença por longo tempo ocorre em somente 25-50% destes pacientes que conseguem a RC. A maioria dos pacientes com LMA ainda morre de sua doença. Com a combinação 7+3 como padrão, em oito estudos totalizando 2.618 pacientes, o nível de resposta completa foi de 64% com uma medida de duração de remissão de 8 a 12 meses e uma sobrevivência global média de 9 a 16 meses (45).

O Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) revisou a sobrevivência de 1414 pacientes, de cinco estudos clínicos durante o período de 1976 a 1994, todos usando daunorubicina e citarabina para indução. A terapia pós-remissão na grande maioria dos casos foi consolidação intensiva. Do total de pacientes 62% chegaram a uma RC, mas 76% recidivaram ou morreram. A sobrevivência global em 5 anos foi de 15%, sendo que para pacientes com idade menor do que 55 anos foi de 9-33% e para idade de 55 anos ou mais foi de 6-15%. Nos pacientes com menos de 55 anos a sobrevivência livre de doença e a sobrevivência global foram melhores com mais intensivas estratégias pós-remissão (12).

É bem reconhecido que virtualmente todos os pacientes em RC seguindo a terapia de indução ainda têm doença residual que leva à recidiva. Assim, uma variedade de condutas tem sido explorada para prevenir recidiva como a terapia de manutenção com baixa dose, terapia intensiva de consolidação e ablação medular por quimioterapia ou quimiorradioterapia com transplante de medula óssea alogeneico ou autólogo ou de células hematopoéticas periféricas.

Os resultados com o uso de baixas doses de citarabina não são satisfatórios (melhora a sobrevivência livre de doença mas não a sobrevivência global), mas poderiam ser de utilidade em pacientes mais idosos.

A quimioterapia intensiva de consolidação mais comumente usada é o esquema com altas doses de citarabina. O grupo CALGB randomizou 596 pacientes em RC para receber uma das três doses de citarabina: 100 mg/m² /dia por 5 dias, 400 mg/m² /dia por 5 dias em infusão contínua em ambos os casos e 3 g/m² numa infusão de 3 horas, duas vezes ao dia, no dias 1, 3 e 5. Os resultados foram melhores no grupo com citogenética favorável, com sobrevivência livre de doença em 52 meses de 21%, 25% e 39%, respectivamente. Para pacientes com risco citogenético intermediário e alto não houve evidência que qualquer dos três métodos seja superior (19).

O estudo colaborativo entre European Organization for Research and Treatment of Câncer (EORTC) e Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMENA), randomizou três grupos de pacientes para comparar o transplante alogeneico, o transplante autólogo e o esquema de altas doses de citarabina e mostrou que, em 4 anos, havia uma sobrevivência livre de doença de 55%, 48% e 30% (melhor em ambos os tipos de transplante comparado com a quimioterapia) e uma sobrevivência global de 59%, 56% e 46% (similares), respectivamente (63). Um outro estudo comparando o transplante autólogo com a quimioterapia em altas doses não mostrou diferença na sobrevivência livre de doença e na sobrevivência global (64).

A leucemia pró-mielocítica aguda merece uma consideração separada devido ser tratada diferentemente de todos outros tipos de LMA e tem sido a mais potencialmente curável. Desde seu primeiro registro em 1988 (65) vários estudos mostram a efetividade do ácido *all-trans*-retinoico (ATRA) como terapia diferenciadora nesta leucemia mostrando



melhor sobrevivência livre de eventos, sobrevivência livre de doença e sobrevivência global, chegando a 70% dos pacientes permanecerem livre de doença em 4 anos. A mais séria complicação desta terapia com ATRA é a síndrome retinoide, uma síndrome de sofrimento cardiorespiratório manifestado por infiltrado pulmonar intersticial, hipoxemia, hipotensão, ganho de peso inexplicado, podendo estar relacionada a um quadro de hiperleucocitose (66,67).

Os resultados do tratamento para adultos com LMA dependem não somente da idade do paciente e o tipo de terapia pós-remissão mas também das características biológicas da doença incluindo a presença de uma antecedente mielodisplasia, cariótipo e expressão fenotípica da resistência multidroga. A classificação FAB tem sido largamente adotada e tem permitido a uniformidade do diagnóstico dos subtipos morfológicos da LMA. Permanece útil na identificação de certos subtipos biológicos mas não em outros. São cada vez mais importantes os métodos diagnósticos e prognósticos contemporâneos como a citogenética, o estudo molecular e a imunofenotipagem. Avanços nos resultados têm ocorrido na área de cuidados de suporte (prevenção e terapia das infecções, transfusões apropriadas de glóbulos e plaquetas) com conseqüente aumento da intensidade da terapia pós-remissão e, cada vez mais presente, o transplante de medula óssea.

Alguns grupos de pacientes com LMA têm sido beneficiados por estas modernas modalidades de terapia mencionadas acima. Adultos jovens podem ter agora mais de 50% de chance de sobrevivência longa após um transplante. Entretanto a sobrevivência média continua ainda entre 9 e 15 meses pois os estudos clínicos têm restrições de idade e estado geral, excluindo pacientes com problemas renais e hepáticos. Os bons resultados em alguns ensaios, como por exemplo com transplante de medula, podem estar relacionados a uma população altamente selecionada (45).

Outros tipos de câncer não hematológico como os epiteliais têm sobrevivência global maior do que a LMA (câncer de mama estágio II com 7,5 anos, câncer de pulmão não de pequenas células não ressecável III B com 13,7 meses). Assim, comparando com LMA, tem-se atualmente mais sucesso em tratar neoplasias epiteliais definidas como menos tratáveis. Esta perspectiva deveria prover um racional exame crítico da conduta terapêutica e planejar novos tratamentos para LMA para todos os pacientes, não somente aqueles com bom prognóstico (45).

Novos agentes com efeito indutor da diferenciação tumoral parecem potencialmente de interesse na terapêutica experimental da LMA. Durante o desenvolvimento normal dos tecidos e órgãos, os processos celulares que regulam a potencialidade das células em proliferar e realizar a diferenciação estão intrinsecamente ligados. A fase inicial de uma neoplasia pode interromper esta ligação e freqüentemente é acompanhada por uma diminuída expressão da função de diferenciação, produção aberrante de produtos diferenciados, ou uma diferenciação celular inapropriada. Também, a indução da diferenciação *in vitro* freqüentemente é associada com a reduzida capacidade das células para formar tumores *in vivo*. Além disso, repetidas passagens de linhagens de células tumorais em cultura demonstram perda da capacidade de diferenciação em associação com seu crescimento maligno. Assim, em certas instâncias, o processo neoplásico tem sido interpretado como um defeito na diferenciação celular (68.69).

A origem da transformação maligna na LMA tem sido sujeito de intensa investigação. Um dos modelos propõe que um número de células progenitoras seja suscetível a transformação leucêmica resultando na expansão de células anormais que são bloqueadas num estágio particular da diferenciação. Outro modelo propõe que esta transformação ocorra somente na célula primitiva multi-potencial com habilidade variável para diferenciar e adquirir marcadores de linhagens fenotípicas específicas (70-74).

A droga decitabina é um análogo da deoxicidina no qual o C-5 no anel pirimidínico é substituído por uma molécula de nitrogênio (75).

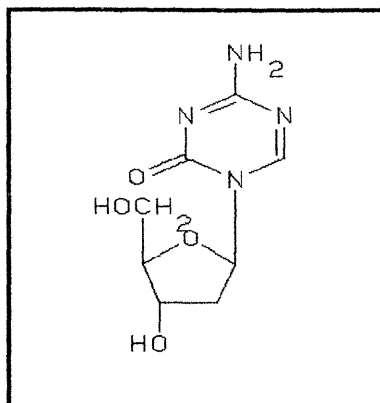


Figura 1. Estrutura química da decitabina

Em células de ratos quase 5% da deoxicidina remanescente no DNA apresenta-se como decitabina. A metilação ocorre imediatamente após a replicação do DNA e envolve a transferência de um grupo metílico do S-adenosil-metionina para a posição 5 da deoxicidina numa reação catalisada pela DNA-metilase. A função biológica da 5-metildeoxicidina no DNA foi desconhecida até que recentes investigações indicassem que a metilação do DNA pode ter uma importante função na expressão genética. Em geral a metilação do DNA reprime a expressão genética enquanto que a demetilação produz ativação do gene (76,77).

Os análogos pirimidínicos da deoxicidina, 5-Aza-citidina e a decitabina inibem a metilação do DNA em células de rato. A decitabina difere da deoxicidina pela presença do nitrogênio na posição 5 do anel heterocíclico. A inibição é devido à incorporação destes análogos ao DNA que, aparentemente, produz uma inativação da DNA-metilase. Tem sido proposto que a inibição da metilação do DNA por estes análogos da deoxicidina seja responsável pela gene-ativação e a indução da diferenciação celular (78).

A decitabina é um ativo agente antileucêmico no animal e no homem. Há uma boa correlação entre a extensão da inibição da metilação do DNA e a atividade antileucêmica do decitabina em ratos. Entretanto o mecanismo de ação não é claro. Ao contrário da hipometilação, a citosina arabinoside (Ara-C) induz a hipermetilação do DNA e também exibe sua bem conhecida atividade antileucêmica (79).

A fosforilação da decitabina é catalisada pela deoxicitidine-quinase, e é requerida para a expressão dos efeitos citotóxicos. É o mesmo mecanismo da citosina arabinoside (Ara-C, citarabina). Assim é improvável que a leucemia refratária ao Ara-C seja sensível à decitabina, a menos que outro mecanismo de resistência ao Ara-C esteja presente. Comparação da atividade da decitabina com a da citarabina em alguns modelos de leucemia animal mostrou que a decitabina é um agente antileucêmico mais potente. Apesar de que ambos agentes são incorporados ao DNA os mecanismos de sua citotoxicidade são completamente diferentes. Enquanto se aceita que Ara-C induz a citotoxicidade como resultado direto da interferência com a síntese de DNA a decitabina induz hipometilação do DNA que, por sua vez, associa-se com alterada expressão genética, indução da diferenciação e, provavelmente, morte celular (80,81).

A observação de que as células tumorais passam por uma maturação quando o paciente entra em remissão tem estimulado a expressão da diferenciação induzida por droga como mais um método para o tratamento do câncer. Uma notável demonstração disto é o uso do ácido all-trans-retinoico (ATRA) no tratamento da leucemia pró-mielocítica aguda (65-67,82).

Covey e cols. (83) estudaram o efeito da decitabina no crescimento e potencial clonogênico de células leucêmicas L1210 in vitro. Células foram expostas a 0.001-100 mg/ml de decitabina por períodos de 1-120 h. A dose relacionada ao efeito foi visto entre

0.01 e 0.5 mg/ml. A sobrevivência diminuiu com o tempo de exposição aumentado até 24 h. De qualquer maneira o aumento da exposição além das 24 h não diminuiu a sobrevivência de uma maneira consistente.

Pinto e cols. (84) mostraram uma diferenciação radical das células blásticas leucêmicas humanas depois de incubação *in vitro* com doses não tóxicas de decitabina. Mais ainda, eles mostraram que, em um sistema líquido HLA-DR negativo, os blastos leucêmicos expressavam antígenos DR depois da incubação com Ara-C ou decitabina.

Walker e cols. (85) mostraram que células *murine* Tg84-15 altamente tumorigênicas tratadas com decitabina formaram colônias que eram miosina-positivo e continham microtubos, ao passo que o potencial tumorigênico das células tratadas foi suprimido.

Estudos de toxicologia animal foram realizados por diferentes investigadores. Vesely e Cinak (86) administraram decitabina na dose de 1.5, 3.0 e 6.0 mg/kg *i.p.* em ratos (machos DBA/2) em 5 dias consecutivos. Os animais que receberam a dose maior morreram entre os dias 8 e 17 após a injeção. Momparler e Gonzales (87) administraram decitabina em infusão contínua por 8 h em ratos (macho CD2F2, Balb/c x DBA/2). LD50 e LD10 foram 54 e 25 mg/kg, respectivamente. Em outro estudo, Momparler e Frith (88) administraram decitabina como infusão contínua de 12 h e LD50 foi 22.2 e 29.5 mg/k para ratos fêmeas e machos, respectivamente. Leuco e plaquetopenia foram observados. Histopatologia nestes animais que receberam dose LD50 mostrou hipoplasia de medula óssea e dano da mucosa intestinal no dia 7 e recuperação no dia 28 após a infusão.

Chabot e Momparler (89) mostraram uma atividade anti-tumoral da decitabina contra leucemia em ratos, com várias doses, notando um leve efeito mas não total no bloqueio da progressão do ciclo celular para a fase S. Covey e Zaharko (90) relataram seus

experimentos em que o tempo de sobrevivência elevou-se 4 vezes do tempo de sobrevivência esperado nos animais leucêmicos controles. Richel e cols. (91), usando um modelo de ratos portadores de LMA (BNML), mostraram um aumento de sobrevivência depois do tratamento com decitabina comparado ao Ara-C, com uma efetividade antileucêmica maior e um efeito tóxico comparável.

Numa experiência clínica com decitabina, Rivarde e cols. (92) realizaram um estudo de fase I com esta droga em crianças com leucemia aguda, nas doses de 0.75-30 mg/kg administrada por 12-30 h de infusão contínua ou 10 mg/kg como aplicação em bolo e o efeito antileucêmico foi somente mínimo. Um efeito muito melhor foi observado com doses maiores de 36-80 mg/kg dados em 36-44 h de infusão contínua. Efeitos colaterais consistiram de supressão da medula óssea, náusea e vômitos, diarreia e alopecia. O efeito anti-tumoral da decitabina foi muito limitado, mas marcada leucopenia e trombocitopenia foram observados com o nadir 9 a 12 dias depois do tratamento. Recuperação iniciou 28 dias depois para as plaquetas e 42 dias para os leucócitos. A concentração plasmática média para uma infusão de 1 mg/kg/h foi estimada em 0.5 µg/ml.

Um estudo farmacológico de fase I em adultos com tumores sólidos realizado por Groeningen e cols. (93) mostrou que decitabina é eliminado rapidamente e amplamente por processos metabólicos. Os pacientes receberam 75 mg/m² a 100 mg/m², em 1 h de infusão, e os picos plasmáticos médio foram 0.93 e 2.01 µM, respectivamente. A determinação do decitabina na urina coletada 8 horas após o início da infusão, para todas as doses, foi de <1% da dose infundida.

Debusscher e cols. (94) relataram para "EORTC Leukemia Group" sua experiência com decitabina em 26 pacientes na sua maioria refratárias ao Ara-C (20 LMA, 2 LLA, 1 bifenotípica e 3 crises blásticas de LMC). Trinta e quatro cursos foram dados, por infusão

contínua ou por 12 h, em 2,3,4 e 5 dias. A toxicidade encontrada foi náusea e vômito (22/34 cursos), mucosite (7/34), alopecia e moderada alteração da função hepática. Um caso de insuficiência respiratória aguda, um episódio de taquiarritmia e um caso de insuficiência cardíaca congestiva foram registrados. Pancitopenia foi profunda e prolongada. Um paciente chegou a completa remissão. Vinte e três dos 26 pacientes experimentaram um efeito antileucêmico.

Willemze e cols. (95) trataram 5 pacientes com leucemia refratária e 11 pacientes com leucemia recidivada com decitabina 125-500 mg/m² numa infusão de 6 h, 2 vezes ao dia, por 6 dias e AMSA 120 mg/m²/dia nos dias 6 e 7. Este esquema provocou prolongada mielossupressão e outras toxicidades sem provocar muito impacto na atividade antileucêmica. Nenhuma resposta e nenhuma toxicidade foram vista nos pacientes refratários, mas 8 de 11 pacientes com doença recidivada conseguiram uma RC estável. Dois pacientes obtiveram uma RP. Moderada a severa toxicidade (gastrointestinal, neurológica) foi vista em 5 pacientes recidivados. Granulocitopenia foi aparente por mais ou menos 3 semanas. A remissão durou de 2 a 14 meses.

Zagonel e cols. (96), em 1993, relataram o efeito do decitabina em 10 pacientes com mielodisplasia. Usaram a dose de 45 mg/m² em infusão de 4h por 3 dias ou 50 mg/m² em infusão contínua por 3 dias. Em 4 pacientes houve completa normalização do sangue periférico e medula óssea (resposta hematológica completa).

Em 1993, Silverman e cols. (97) apresentaram os resultados do uso de decitabina em pacientes com mielodisplasia, na dose de 75 mg/m² /dia por 7 dias. Resposta foi vista em 49% dos 49 pacientes avaliáveis, 5 (12%) em RC.

Petti e cols. (98) apresentaram os resultados preliminares do uso de decitabina no tratamento de pacientes com LMA com prognóstico reservado. Um total de 10 de 12 pacientes avaliáveis com decitabina numa dose de 90-120 mg/m² numa infusão de 4 h, três vezes ao dia, por 3 dias consecutivos. Seis pacientes apresentavam mielodisplasia prévia, um apresentava LMA secundária e cinco pacientes foram considerados portadores de leucemia *de novo*. Somente três pacientes chegaram a uma RC e um com RP. Uma verdadeira fase aplástica foi documentada em 5 pacientes e, nos outros, uma moderada ou mesmo uma medula óssea normocelular foi observada seguindo a administração da decitabina. A mais proeminente toxicidade foi a neutropenia, com media de recuperação de 30 dias (13-53 dias). Trombocitopenia grau 3-4 (WHO) ocorreu em 13 de 16 cursos da droga e recuperou em média de 25 dias (20-45 dias). Toxicidade extra-hematológica foi geralmente moderada mas dois pacientes morreram por eventos cerebrais trombóticos durante o período de aplasia e um paciente com insuficiência cardíaca aguda.

Gattei e cols. (99) em 1993, relataram os efeitos da decitabina *in vitro* e *in vivo* nas células clonogênicas em 9 pacientes com LMA. A dose usada foi de 90-120 mg/m² em infusão de 4 h, 3 vezes ao dia, por 3 dias cada 4-6 semanas. Dois pacientes chegaram à RC, dois com RP, dois morreram na indução e três não responderam. Os estudos *in vitro* mostraram forte sugestão de indução da diferenciação celular e/ou uma desorganização genética das células neoplásicas, seguidas por perda do potencial clonogênico e, em última análise, uma morte celular na ausência de destruição celular aguda, como o principal mecanismo de ação da droga.

Willenze e cols. (100) também em 1993, relataram a ação da decitabina (125 mg/m², 6h de infusão, cada 12h, por 6 dias) em 20 pacientes com LMA recidivada (uma ou mais recidivas), com uso combinado com as drogas m-ansacrine (120 mg/m² dias 6 e 7) e ou idarubicina (12 mg/m², dias 5, 6 e 7). Treze pacientes (59%) chegaram a uma RC, doze

tratados com decitabina+m-ansacrine e um com decitabina+idarubicina. Dois chegaram a uma RP e seis pacientes falharam em responder ou morreram durante o período de indução de remissão. A neutropenia durou em média 25 dias e a plaquetopenia que necessitasse transfusão, 18 dias. A toxicidade não-hematológica consistiu de náusea e vômito em alguns pacientes, diarreia e sinais clínicos de peritonite em nove pacientes. Toxicidade cerebral ou cerebelar em dois, sangramento gastrointestinal em três e toxicidade hepática em dois pacientes. A duração da remissão teve uma média de 4 meses (1-30 meses).

Mais recentemente, a decitabina também tem sido estudada, *in vitro* e *in vivo*, em outras neoplasias, como tumor de próstata e mama, em regime de condicionamento para transplante de medula óssea, em fase blástica não-linfóide da leucemia mielóide crônica e em mielodisplasia (101-106).

Assim, estudos preliminares mostram que a decitabina é um agente antileucêmico comparável às altas doses de Ara-C com comparável toxicidade e que mais estudos clínicos para terapia de indução de remissão são necessários para descobrir se pode substituir a droga arabinosíde no tratamento para LMA recidivada e no tratamento de primeira linha desta doença.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estudar a viabilidade da utilização do agente experimental decitabina como substituto do ara-C na combinação com a daunorubicina no tratamento de primeira linha de pacientes com Leucemia Mielóide Aguda.

Objetivos Específicos

a) Descrever o perfil de toxicidade da combinação decitabina com daunorubicina nos pacientes incluídos neste estudo preliminar.

b) Documentar o percentual de remissões completas obtido com esta combinação na população estudada.

REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Greer JP, Baer MR, Kinney MC. Acute Myelogenous leukemias. In Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer J, Rodgers GM, eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th ed. Baltimore (Maryland): Williams & Wilkins; 1999. p. 2272-319.
2. Greaves MF. Aetiology of acute leukemia. *Lancet* 1997;349:344-9.
3. Estey H, Kantarjian H, Keating. Therapy for Acute Myeloid Leukemia. In Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P, eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*, 3th ed. Churchill Livingstone 2000;1025-42.
4. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT. Proposals for the classification of the acute leukaemias. *Br J Haematol* 1976;33:451-8.
5. Head DR. Revised classification of acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1996;10:1826-31.
6. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Ca: Cancer statistics 1997. *Cancer J Clin* 1997;47:5-27.
7. Hernandez JA, Land HJ, McKenna RW. Leukemias, myeloma and other lymphoreticular neoplasms. *Cancer* 1995;75:381-94.
8. Sandler DP, Ross JA. Epidemiology of acute leukemia in children and adults. *Semin Oncol* 1997;24:3-16.
9. Centro Nacional de Epidemiologia/Fundação Nacional de Saúde/Ministério da Saúde (Brasil). *Mortalidade Brasil*. Brasília: Ministério da Saúde;1998:42.
10. Grassi PR, editor. *Estatísticas de Saúde: Mortalidade*, 1998. Porto Alegre: Editora Corag;1999:24.
11. Cheson BD, Cassileth PA, Head DR., Schiffer A, Bennett JM, Bloomfield CD, et al. Report of the National Cancer Institute-Sponsored Workshop on Definitions of Diagnosis and Response in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* 1990;8:813-19.

12. Bennett JM, Young ML, Andersen JW, Cassileth PA, Tallman MS, Paietta E, et al. Long-term survival in acute myeloid leukemia: the Eastern Cooperative Oncology Group experience. *Cancer* 1997;80 Suppl 11:2205-9.
13. Baudard M, Beauchamp-Nicoud A, Delmer A, Rio B, Blanc C, Zittoun R, et al. Has the prognosis of adult patients with acute myeloid leukemia improved over years? A single institution experience of 784 consecutive patients over a 16-year period. *Leukemia* 1999;13:1481-90.
14. Fagundes EM, Rocha VG, Azevedo WM, Clementino NC, Quintão JS, Ferraz MH, et al. Leucemia mielóide aguda do adulto: análise retrospectiva de 99 casos. *Bol Soc Bras Hematol Hemot* 1995;17:33-9.
15. Dorlhiac-Llacer PE, Beitler B, Pozzi DB, Chamone DA. Tratamento quimioterápico da leucemia mielóide aguda (LMA), experiência de 16 anos da disciplina de Hematologia e Hemoterapia da Faculdade de Medicina da universidade de São Paulo (FMUSP). *Anais do XXII Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia. Bol Soc Bras Hematol Hemot* 1996;084-P.
16. Ribas AC, Souza TF, Peters LB, Delmoral JÁ, Faune CC, Ferreira SI, et al. Leucemia mielóide aguda: apresentação de 59 casos. *Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia. Bol Soc Bras Hematol Hemot* 1998;B-124.
17. Insausti CL, Guevara JM, Inaty J. Evaluación del Protocolo 86 para el tratamiento de las Leucemias Mieloblásticas Agudas. *P C M* 1991;5:12-8.
18. Pulcheri W, Spector N, Nucci M, de Morais JC, Pimenta G, de Oliveira HP. The treatment of acute myeloid leukemia in Brazil: progress and obstacles. *Haematologica* 1995;80:130-5.
19. Mayer RI, Davis RB, Schiffer CA, Berg DT, Powell BL, Shulman P, et al. Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1994;331:896-903.
20. Crump M, Keating A. Acute leukemia in adults. *Curr Opin Hematol* 1995;2:247-54.

21. Zittoun RA, Franco M, Willemze R, Witte T, Labar B, Resegotto L, Leoni F, et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *N Eng J Med* 1995;332:217-23.
22. Ravindranath Y, Yeager AM, Chang MN, Steuber P, Krischer J, Grhan-Pole J, et al. Autologous bone marrow transplantation versus intensive consolidation chemotherapy for acute myeloid leukemia in childhood. *N Eng J Med* 1996;334:1428-34.
23. Harousseau JL, Cahn JY, Pignon B, Witz F, Milpied N, Delain M, et al. Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. The Groupe Ouest Est Leucemies Aigues Myeloblastiques (GOLAM). *Blood* 1997;90:2978-86.
24. Cassileth PA, Harrington DP, Appelbaum FR, Lazarus HM, Rowe JM, Paietta E, et al. Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. *N Engl J Med* 1998;339:1649-56.
25. Freidereich E. Arabinosyl cytosine: A 20-year update. *J Clin Oncol* 1987;5:523-4.
26. Gale RP, Foon KA. Therapy of acute myelogenous leukemia. *Semin Hematol* 1987;24:40-54.
27. Mayer RJ. Current chemotherapy treatment approaches to the management of previously untreated adults with de novo acute myeloid leukemia. *Semin Oncol* 1987;14:384-96.
28. Stone RM, Mayer RJ. Treatment of the newly diagnosed adult with de novo acute myeloid leukemia. *Hematol Oncol Clin North* 1993;7:47-64.
29. Crump M, Keating A. Acute leukemia in adults. *Curr Opin Hematol* 1995;2:247-54.
30. Burnett AK. Tailoring the treatment of acute myeloid leukemia. *Curr Opin Hematol* 1999;6:247-52.
31. Anderlini P, Luna M, Kantarjian HM, O'Brien S, Pierce S, Keating MJ et al. Causes of initial remission induction failure in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Blood* 1996;10:600-8.

32. Rowe JM, Tallman MS. Intensifying induction therapy in acute myeloid leukemia: Has a new standard of care emerged? *Blood* 1997;90:2121-6.
33. Bishop JF, Matthews JP, Young G, Szer J, Joshua DE, Dodds A, et al. The influence of induction chemotherapy dose and dose intensity on the duration of remission in acute myeloid leukemia. Australian Leukemia Study Group. *Leuk Lymphoma* 1994;15:79-84.
34. Mitus AJ, Miller KB, Schenkein DP, Ryan HF, Parsons SK, Wheeler C, et al. Improved survival for patients with acute myelogenous leukemia. *J Clin Oncol* 1995;13:560-9.
35. Keating MJ, Gehan EA, Smith TL, Estey EH, Walters RS, Kantarjian HM, et al. A strategy for evaluation of new treatments in untreated patients: application to a clinical trial of AMSA for acute leukemia. *J Clin Oncol* 1987;5:710-21.
36. Wiernik PH; Banks PL; Case DC Jr; Arlin ZA; Periman PO; Todd MB, et al. Cytarabine plus idarubicin or daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 1992;79:313-9.
37. Bishop JF, Lowenthal RM, Joshua D, Matthews JP, Todd D, Cobcroft R, et al. Australian Leukemia Study Group: Etoposide in acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 1990;75:27-32.
38. Arlin Z; Case DC Jr; Moore J; Wiernik P; Feldman E; Saletan S, et al. Randomized multicenter trial of cytosine arabinoside with mitoxantrone or daunorubicin in previously untreated adult patients with acute nonlymphocytic leukemia (ANLL). Lederle Cooperative Group. *Leukemia*, 1990;4:177-83.
39. Rassam SB, Turker A, Powles RL, Smith AG, Newland AC, Erskine JG, et al. Idarubicin for remission induction of acute myeloid leukemia: United Kingdom Multicenter Experience. *Seminars in Oncology* 1993;20:13-9.
40. Onetto N, Momparler RL, Momparler LF, Gyger M. In vitro biochemical tests to evaluate the response to therapy of acute leukemia with cytosine arabinoside or 5-aza-2'-deoxycytidine. *Sem Oncol* 1987;14 Suppl 1:231-7.

41. Richel DJ, Colly LP, Lurvink E, Willemze R. Comparison of the antileukemic activity of 5-Aza-2'-deoxycytidine and arabinofuranosyl-cytosine in rats with myelocytic leukemia. *Br J Cancer* 1988;58:730-3.
42. Pinto A, Attadia V, Fusco A, Ferrara F, Spada OA, Di Fiore PP. 5-Aza-2'-deoxycytidine induces terminal differentiation of leukemic blasts from patients with acute myeloid leukemias. *Blood* 1984;64:922-9.
43. Walker C, Ranney DF, Shay JW. 5-Azacytidine-induced uncoupling of differentiation and tumorigenicity in a murine cell line. *JNCI* 1984;73:877-83.
44. Fialkow PJ, Singer JW, Raskind WH, Adamson JW, Jacobson RJ, Bernstein ID, et al. Clonal development, stem-cell differentiation, and clinical remissions in acute nonlymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 1987;317:468-73.
45. Bishop JF. The treatment of adult acute myeloid leukemia. *Semin Oncol* 1997;24:57-69.
46. Yunis JJ, Bloomfield CD, Ensrud K. All patients with acute nonlymphocytic leukemia may have a chromosomal defect. *N Engl J Med* 1981;305:135-9.
47. Bloomfield CD. Postremission therapy in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1985;3:1570-2
48. Dombret H, Chastang C, Fenaux P, Reiffers J, Bordessoule D, Bouabdallah R, et al. A controlled study of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in elderly patients after treatment for acute myelogenous leukaemia. *N Eng J Med* 1995;332:1678-83.
49. Zittoun R, Sucijs S, Mandelli F, de Witte T, Thaler J, Stryckmans P, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor associated with induction treatment of acute myelogenous leukaemia: a randomised trial of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Leukemia Cooperative Group. *J Clin Oncol* 1996;14:2150-9.
50. Schiffer CA. Hematopoietic growth factors as adjuncts to the treatment of acute myeloid leukaemia. *Blood* 1996;88:3675-85.

51. Goldstone AH, Burnett AK, Milligan DW, Prentice AG, Wheatley K. Lack of benefit of G-CSF on complete remission and possible increased relapsed risk in acute myeloid leukemia: an MRC study of 800 patients. *Blood* 1997;90:2595-602
52. Rowe JM, Andersen J, Mazza JJ, Bennett JM, Paietta E, Hayes FA, et al. A randomised placebo-controlled study of granulocyte-macrophage colony stimulating factor in adult patients (>55-70 years de idade) with acute myeloid leukemia (AML): a study of the Eastern Cooperative Oncology Group (E1490) *Blood* 1995;86:457-62.
53. Ellison RR, Holanf JF, Weil M, et al. Arabinosylcytosine. A useful agent in the treatment of acute leukemia in adults. *Blood* 1968;32:507-23.
54. Coltman CA, Freireich EJ, Pendleton O, Bickers JN, Bodey GP, Hewlet JS, et al. Adult acute leukemia studies using cytarabine: Early Southwest Oncology Group Trials. *Med Pediatr Oncol* 1982;10:173-83.
55. Dillman RO, Davis RB, Green MR, Weiss RB, Gottlieb AJ, Caplan S, et al. A comparative study of two different doses of cytarabine for acute myeloid leukemia: A phase III study of Cancer and Leukemia Group B. *Blood* 1991;78:2520-6.
56. Berman E, Arlin ZA, Gaynor J, Miller W, Gee TS, Kempim SJ, et al. Comparative trial of cytarabine and thioguanine in combination with amsacrine or daunorubicin in patients with untreated acute nonlymphocytic leukemia: Results of the L-16M protocol. *Leukemia* 1989;3:115-21.
57. Berman E, Heller G, Santorsa J, et al. Results of a randomised trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Blood* 1991;77:1666-74.
58. Vogler WR, Veles-Garcia E, Weiner RS, Flaum MA, Bartolucci AA, Omura GA, et al. A phase III trial comparing idarubicin and daunorubicin in combination with cytarabine in acute myeloid leukemia: a Southeastern Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1992;10:1103-11.

59. Mandelli F, Petti MC, Ardia A, Di Pietro N, Di Raimondo F, Ganzina F, et al. A randomised clinical trial comparing idarubicin and cytarabine to daunorubicin and cytarabine in the treatment of acute nonlymphocytic leukemia: A multicentric study from the Italian Co-operative Group GIMEMA. *Eur J Cancer* 1991;27:750-5.
60. Schiller G, Gajewski J, Nimer S, Territo M, Ho W, Lee M, et al. A randomized study of intermediate versus conventional-dose cytarabine as intensive induction for acute myeloid leukemia. *Br J Haematol* 1992;81:170-7.
61. Weick JK, Kopecky KJ, Appelbaum FR, Head DR, Kingsbury LL, Balcerzak SP, et al. A randomized investigation of high-dose versus standard-dose cytarabine arabinoside with daunorubicin in patients with previously untreated acute myeloid leukemia: A Southwest Oncology Group Study. *Blood* 1996;88:2841-51.
62. Hann IM, Stevens RF, Goldstone AH, Rees JK, Wheatley K, Gray RG, et al. Randomised comparison of DAT versus ADE as induction chemotherapy in children and younger adults with acute myeloid leukemia. Results of the Medical Research Council's 10th AML Trial (MRC AML10). *Blood* 1997;89:2311-8.
63. Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R, de Witte T, Labar B, Resegotti L, et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared intensive chemotherapy in acute myeloid leukemia. *N Eng J Med* 1995;332:217-23.
64. Harousseau JL, Cahn JY, Pignon P, Witz F, Milpied N, Delain M, et al. Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as pre-remission therapy in adult acute myeloid leukemia. *Blood* 1997;90:2978-86.
65. Huang ME, Ye YC, Chen SR, Chai JR, Lu JX, Zhao L, et al. Use of all-trans-retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1988;72:567-72.
66. Tallman MS, Andersen JW, Schiffer CA, Appelbaum FR, Feusner JH, Ogden A, et al. All-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1997;89:337:1021-8.

67. Mandelli F, Diverio D, Avvisati G, Luciano A, Barbui T, Bernasconi C, et al, Molecular remission in PML/RAR alpha-positive acute promyeloid leukemia by combined all and idarubicina (AIDA) therapy. *Blood* 1997;90:1014-21.
68. Barret JC, Ts'o PO. Evidence for the progressive nature of neoplastic transformation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:3761-5.
69. Hunter T. Cooperation between oncogenes. *Cell* 1991;64:249-70.
70. Sawyers C, Denny CT, Witte ON. Leukemia and the disruption of normal hematopoiesis. *Cell* 1991;64:337-50.
71. Cline MJ. The molecular basis of Leukemia. *N Engl J Med* 1994;330:328-36.
72. Keinanen M, Griffin JD, Bloomfield CD. Clonal chromosomal abnormalities showing multiple-cell-lineage involvement in acute myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1988;318:1153-8.
73. Fearon ER, Burke PJ, Schiffer CA. Differentiation of leukemia cells to polymorphonuclear leukocytes in patients with acute nonlymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 1986;315:15-24.
74. McCulloch EA. Stem cells in normal and leukemic hemopoiesis. *Blood* 1983;62:1-13.
75. Jones PA, Taylor SM. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation *Cell* 1980;20:85-93.
76. Kolata G. Fitting methylation into development. *Science* 1985;228:1183-4.
77. Holliday R, Pugh JE. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science* 1975;187:226-32.
78. DeSimone J, Heller P, Molokie RE, Hall L, Zwiers D. Tetrahydrouridine, cytidine analogues, and hemoglobin F. *Am J Hematol* 1985;18:283-8.
79. Boehm TL, Drahovsky D. DNA hypermethylation and changes in gene expression may be related to the chemotherapeutic action of cytarabine. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1984; 20: 1561-3.
80. Cedar H. DNA methylation and gene activity. *Cell* 1988;53:3-4.

81. Momparler RL, Momparler LF, Sanson J. Comparison of the antileukemic activity of 5-aza-2'-deoxycytidine, 1- β -arabinofuranosylcytosine and 5-aza-2'-deoxycytidineazacytidine against L1210 leukemia. *Leuk Res* 1984;8:1043-9.
82. Warrell RP, de The H, Wang ZY, Degos L. Acute promyelocytic leukemia, *Medical Progress. NEJM* 1993;329(3):177-89.
83. Covey JM, D'Incalci M, Tilchen EJ, Zaharko DS, Kohn KW. Differences in DNA damage produced by incorporation of 5-Aza-2'-deoxycytidine or 5,6-Dihidro-5-azacytidine into DNA of mammalian cells. *Cancer Res* 1986;46: 5511-7.
84. Pinto A, Attadia V, Fusco A, Ferrara F, Spada OA, Di Fiore PP. 5-Aza-2'-deoxycytidine induces terminal differentiation of leukemic blasts from patients with acute myeloid leukemias. *Blood* 1984;64:922-9.
85. Walker C, Ranney DF, Shay JW. 5-Azacytidine-induced uncoupling of differentiation and tumorigenecity in a murine cell line. *JNCI* 1984;73:877-83.
86. Vesely J, Cihak A. 5-Aza-2'-deoxycytidine: preclinical studies in mice. *Neoplasm* 1980;27:113-9.
87. Momparler RL, Gonzalez FA. Effect of intravenous infusion of 5-Aza-2'-deoxycytidine on survival time of mice with L1210 leukemia. *Cancer Res* 1978; 38: 2673-8.
88. Momparler RL, Frith CH. Toxicology in mice of the antileukemic agent 5-Aza-2'-deoxycytidine. *Drug Chem Toxicol* 1981;4: 373-81.
89. Chabot GG, Momparler RL. Effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine on survival and cell cycle progression of L1210 leukemia cells. *Leuk Res* 1986;10:533-7.
90. Covey JM, Zaharko DS. Effects of dose and duration on 5-Aza-2'-deoxycytidine cytotoxicity for L1210 leukemia in vitro. *Cancer Treat Rep* 1984;68:1475-81.
91. Richel DJ, Colly LP, Lurvink E, Willemze R. Comparison of the antileukemic activity of 5-Aza-2'-deoxycytidine and arabinofuranosyl-cytosine in rats with myelocytic leukemia. *Br J Cancer* 1988;58:730-3.

92. Rivard GE, Momparler RL, Demers J, Benoit P, Raymond R, Lin K, et al. Phase I study on 5-Aza-2'-deoxycytidine in children with acute leukemia. *Leuk Res* 1981;5: 453-62.
93. Groeningen CJ, Leyva A, O'Brien AM, Boeijs L, Gall HE, Pinedo HM. Phase I and pharmacokinetic study of 5-Aza-2'-deoxycytidine in cancer patients. *Cancer Res.* 1986;46:4831-6.
94. Debusscher L, Maria JP, Dodion P, Blanc GM, Arrigo C, Zittoun R, et al. Phase I, II trial of 5-Aza-2'deoxycytidine (NSC-127.716) in adult patients with acute leukemia. In Momparler RL, Vos D, eds. *5-Aza-2'deoxycytidine, Preclinical and Clinical Studies*, PCH Publications 1990;131-43.
95. Willemze R, Richel DJ, Arentsen-Honders W, Colly LP. Preliminary results of 5-Aza-2'-deoxycytidine in patients with the Ara-C resistant and sensitive acute leukemia. In Momparler RL, Vos D, eds. *5-Aza-2'deoxycytidine, Preclinical and Clinical Studies*, PCH Publications 1990,183-91.
96. Zagonel V, Re GL, Marotta G, Babare R, Sardeo G, Gattei V, et al. 5-Aza-2'-deoxycytidine induces trilineage response in unfavourable myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1993;7 Suppl 1:30-5.
97. Silverman LR, Holland JF, Weinberg RS, Alter BP, Davis RB, Ellison RR, et al. Effects of treatment with 5-Aza-2'-deoxycytidine on the in vivo and in vitro hematopoiesis in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1993; 7 Suppl 1:21-9.
98. Petti MC, Mandelli F, Zagonel V, Gregoris C, Merola MC, Latagliata R, et al. Pilot study of 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in the treatment of poor prognosis acute myelogenous leukemia: preliminary results. *Leukemia* 1993;7 Suppl 1:36-41.
99. Gattei V, Aldinucci D, Petti MC, Ponte A, Zagonel V, Pinto A. In vitro e in vivo effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) on clonogenic cells from acute myelogenous leukemia patients. *Leukemia* 1993;7 Suppl 1:42-8.

100. Willemze R, Archimbaud E, Muus P. Preliminary results with 5-Aza-2'-deoxycytidine (DAC)-containing chemotherapy in patients with relapsed or refractory acute leukemia. For the EORTC Leukemia Cooperative Group. *Leukemia* 1993;7 Suppl 1:49-50.
101. Thibault A, Figg WD, Bergan RC, Lush RM, Myers CE, Tompkins A, et al. A phase II study of 5-aza-2'deoxycytidine (decitabine) in hormone independent metastatic (D2) prostate cancer. *Tumori* 1998;84:87-9.
102. Ferguson AT, Vertino PM, Spitzner JR, Baylin SB, Muller MT, Davidson NE. Role of estrogen receptor gene demethylation and DNA methyltransferase.DNA adduct formation in 5-aza-2'deoxycytidine-induced cytotoxicity in human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1997;272:32260-6.
103. Giralt S, Davis M, O'Brien SM, van Besien K, Champlin R, de Vos D, et al. Studies de decitabine with allogeneic progenitor cell transplantation. *Leukemia* 1997;11 (Suppl 1):S32-4.
104. Kantarjian HM, O'Brien SM, Keating M, Beran M, Estey E, Giralt S, et al. Results of decitabine therapy in the accelerated and blastic phases of chronic myelogenous leukemia. *Leukemia* 1997;11:1617-20.
105. Sacchi S, Kantarjian HM, O'Brien S, Cortes J, Rios MB, Giles FJ, et al. Chronic myelogenous leukemia in nonlymphoid blastic phase: analysis of the results of first salvage therapy with three different treatment approaches for 162 patients. *Cancer* 1999;86:2632-41.
106. Wijermans P, Lubbert M, Verhoef G, Bosly A, Ravoet C, Andre M, et al. Low dose 5-aza-2'deoxycytidine, a DNA hypomethylating agent, for the treatment of high-risk myelodysplastic syndrome: a multicenter phase II study in elderly patients. *J Clin Oncol* 2000;18:956-62.

**DECITABINE (5-AZA-2'-DEOXYCYTIDINE; DAC) PLUS DAUNORUBICIN
AS A FIRST LINE TREATMENT IN PATIENTS
WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA:
PRELIMINARY OBSERVATIONS**

ABSTRACT

The authors report on the preliminary results of an ongoing phase II trial whereby the combination of the new DNA hypomethylating agent, 5-Aza-deoxycytidine (DAC), plus daunorubicin was given as first-line induction therapy to non-pretreated patients with acute myeloid leukemia (except FAB M3). DAC was given as a 4-h intravenous infusion at the dose of 90 mg/m² daily from days 1-5, while daunorubicin was administered at the dose of 50 mg/m² on days 1-3. A maximum of two courses were given to the patients with an interval of 4-6 weeks. Up to now, eight patients were accrued, of those six were evaluable for toxicity and response. The main toxic effects were bone marrow suppression, mucositis, nausea and vomiting, and alopecia. All six patients achieved a complete remission after one (five cases) or two (one case) courses. The trial is open for patient accrual.

Keywords: decitabine; 5-Aza-2'-deoxycytidine; DAC; acute myeloid leukemia

INTRODUCTION

Cytosine arabinoside (Ara-C) plus an anthracycline derivative (daunorubicin or, more recently, idarubicin) are currently used as first-line induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukemia (AML) in several institutions (1). By using this regimen, about 60% of the patients may achieve a complete remission. In spite of the use of post-remission consolidation regimens, leukemia relapses are observed in the majority of patients (2). Unfortunately, only about 30% of the adult patients under age 45 years and 20% of patients ages 45-60 are expected to have a prolonged disease-free survival (3,4). Therefore, it is very important that new drugs with higher single agent activity against this disease are identified.

5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine; DAC) is an analog of deoxycytidine, in which the C-5 of the pyrimidine ring has been replaced by nitrogen (5). Following its incorporation into the cell, DAC leads to DNA hypomethylation, which appears to have an important role in the control of gene expression and cell differentiation (6). Indeed, DAC was shown to have both differentiation inducing as well as antiproliferative effects in various in vitro systems, such as the HL-60 human acute promyelocytic leukemia model (7,8). Furthermore, it has comparable or superior antiproliferative effects to Ara-C in murine and human leukemia cell lines (9-11).

Preliminary results from trials with DAC in patients with relapsed acute myeloid leukemia have demonstrated that this agent is able to induce complete remissions even after one treatment course in over 50% of cases (12). This antileukemic effect can be comparable to other salvage chemotherapy regimens used in this disease. The main toxic effects of DAC are myelosuppression, mucositis, nausea and vomiting and alopecia.

As the combination of Ara-C and daunorubicin was being currently used in the routine management of patients with acute myeloid leukemia at our institution outside clinical trials, we decided to evaluate the combination of DAC/daunorubicin as first-line therapy in patients with this disease (13). In this paper, the initial results of the above mentioned phase II trial are discussed.

PATIENTS AND METHODS

Study design, end-points and statistical considerations

This study is a non-randomized phase II trial whereby consecutive patients with non-pretreated acute myeloid leukemia were accrued. The aims of the study were to determine the percentage of complete and partial responses and the progression-free survival (PFS) of patients included in the trial. The evaluation of objective responses was performed at least 4 weeks after the treatment administration. The two-stage Gehan method (14) was applied to calculate the number of patients to be included in the trial, especially to allow its early discontinuation in case of no tumor responses documented in the first seven patients. Otherwise, an accrual of 25 patients was planned for its completion.

Eligibility criteria

Patients had to fulfill the following criteria: cytologically proven diagnosis of FAB classified (15) acute myeloid leukemia (AML), except acute promyelocytic leukemia (M3), age between 18 and 70 years, WHO performance status 0-2, life expectancy of >1 month, absence of prior chemotherapy, radiotherapy and/or immunotherapy, adequate renal (creatinine <130 $\mu\text{mol/l}$), liver (bilirubin <25 $\mu\text{mol/l}$), pulmonary and cardiac function (ECG), and written informed consent. Cytogenetic analysis was performed in all patients. Patients with poor medical risks because of non-malignant systemic disease, active uncontrolled infection or central nervous system involvement were excluded from the trial.

Evaluation of responses and toxicity

Responses were classified according to the CALGB criteria (16). The following lesions were considered evaluable for response: peripheral blood, bone marrow or other manifestations of acute myeloid leukemia in sites such as skin, lymph nodes and spleen. A complete remission (CR) consisted of normal bone marrow cytology, containing less than 5% blast cells. Peripheral white blood count had to be in the normal range (more than $3 \times 10^9/l$), granulocytes more than $1.5 \times 10^9/l$, platelets more than $100 \times 10^9/l$, no blast cells. Leukemic cell infiltrations of the skin and other tissues had to be absent. A partial remission (PR) was characterized by bone marrow cytology containing between 5 and 25% blast cells and normal peripheral blood morphology, in the absence of other manifestations of leukemia. All other situations were considered as treatment failures. Relapses were defined as increase in blast cells to more than 10% in two bone marrow evaluations at 2-week intervals. Extramedullary relapse had to be based on cytological or pathological diagnosis. The duration of responses and survival were calculated from the date complete remission was documented until relapse. Progression-free survival was dated from the commencement of treatment until the documentation of relapse. Toxicity was graded according to the NCI Common Toxicity Criteria (CTC) scale (17,18).

Drug supply and administration

DAC was supplied and formulated by Pharmachemie BV, Haarlem, the Netherlands, while daunorubicin was purchased from Farnitalia Carlo Erba, Brazil.

DAC sterile powder was a freeze-dried preparation. Each 20-ml vial contained 50 mg DAC. When reconstituted with 5 ml of sterile water for injection USP, each ml contained 10

mg of DAC. The intact vials were stored at 2-8°C and were stable for at least 1 year. Reconstitution of the ampoules resulted in a rapidly decomposing solution, with drug concentration decreasing by about 10% after 5h at 25°C and after 24h at 4°C. Thus, the solution was prepared immediately prior to drug administration. DAC (90 mg/m²) was given as a 4h i.v. infusion on days 1 to 5. Each of the doses was diluted in at least 500 ml normal saline. Daunorubicin (50 mg/m²/day) was administered as a short i.v. bolus infusion on days 1 to 3. No dosage adjustments were made. A maximum of two courses with an interval of 4-6 weeks was given as induction regimen. Treatment was discontinued if bone marrow contained more than 25% blast cells 4-6 weeks after the first course, or if disease progression was otherwise observed.

Treatment was administered to the patients in isolated hospital rooms, with standard routine measurements for granulocytopenic/immunosuppressed patients. No prophylactic antibiotics were given to patients. Those patients developing fever during the neutropenic period underwent a detailed survey for a potential infectious agent, including laboratory tests, cultures from blood, urine and sputum specimens, chest X-rays and CT scans. Immediately after cultures were obtained, a combination including an aminoglycoside plus a third-generation cephalosporin was administered to the patient. Antifungal therapy was added in case of persistent fever, clinical evidence of candida infection and/or positive cultures. No uniform recommendation was included in the study protocol for post-remission therapy. In general, patients were given either standard high-dose Ara-C consolidation therapy, or they were referred to bone marrow transplantation programs (in case a potential compatible donor was available).

Follow-up studies

Patients had to undergo a complete clinical evaluation prior to the start of therapy, including a full medical history, clinical examination, hematological evaluation, blood chemistry, bone marrow aspirate and biopsy, and immunophenotypic and cytogenetic analysis. Renal and liver laboratory tests, as well as cardiac evaluation including ECG were also performed. Patients were monitored daily for toxicity and blood counts were done at least once weekly. Bone marrow aspirate and biopsy was performed before starting therapy and at day 10, as well as thereafter according to clinical and hematological judgment.

Ethical considerations

Before the patient was entered into the study, written informed consent was obtained in agreement with the Helsinki Declaration. The study was approved by the institutional ethical committee and the Brazilian Health Authorities, and was performed according to the local laws and regulations relevant to the use of new therapeutic agents in human beings.

RESULTS

The characteristics of patients included in this phase II trial are summarized in Tables 1 and 2. Of a group of eight patients accrued so far, one patient was excluded due to a different diagnosis at immunophenotypic review (acute lymphoblastic leukemia), dying due to sepsis during the neutropenic period at day 21 of the induction program. The other patient developed a cerebral hemorrhage and died at day 12 of the first course of therapy.

Six patients were then evaluable for toxicity and response. The main toxic effects experienced by the patients were grade 4 neutropenia and thrombocytopenia, nausea and vomiting and mucositis (Tables 3 and 4).

All evaluable patients achieved CR during one to two courses of induction therapy, while the duration of responses ranged from 5-24 months (Table 5).

DISCUSSION

There is a great deal of interest in the clinical development of new anticancer agents acting by novel and unique mechanisms of action (19). Therefore, DNA hypomethylating agents such as DAC are worth clinical testing, considering that the level of DNA methylation can potentially modulate the function of oncogenes and tumor suppressor genes and/or cell differentiation (20,21).

Studies performed in murine models have demonstrated a correlation between the extent of the inhibition of DNA methylation caused by DAC and its anti-leukemic effects (5,9). In addition, its differentiation-inducing effects were demonstrated after in vitro incubation of leukemia cells with non-toxic drug concentrations (22). Also, the modulation of tumor-suppressor genes by DAC in leukemia and solid tumor models was recently documented (23,24).

In preclinical systems, DAC has comparable or superior antitumor activity than its related deoxycytidine analogue, Ara-C, the latter being one of the most active agents against acute myeloid leukemia in clinical use (9,11). Therefore, it is of great interest to evaluate DAC in patients who were not previously exposed to Ara-C.

Although preliminary, this is the first report on the use of the DAC/daunorubicin combination as first-line therapy in patients with acute myeloid leukemia. The toxicity profile of the DAC/daunorubicin combination observed in this trial was comparable to our previous experience using Ara-C/daunorubicin or Ara-C/idarubicin combinations as induction regimens in patients with acute myeloid leukemia (1-3). The duration of severe thrombocytopenia appeared, however, to be relatively shorter in our present trial than our

previous experience with Ara-C plus daunomycin (thrombocytes reached 20 000 cells/mm³ on days 13-20 following therapy) while the median total number of platelets units transfused per patient during the induction period was 28 (range 15-96). However, this observation should be confirmed in a larger patient population.

Regarding the antitumor activity of the combination it is of note that all six patients who completed induction chemotherapy achieved a CR after one (five cases) or two (one case) courses. Although this report deals with a very small group of patients, the observation of CR in all evaluable cases seems very promising. Interestingly, DAC was given as a 4-h i.v. infusion to the patients, which could be considered as a limited daily drug exposure, according to preclinical and clinical pharmacokinetic data (12). However, an obvious antileukemia effect was achieved, suggesting that its DNA hypomethylating effects were retained and enough to produce a therapeutic advantage.

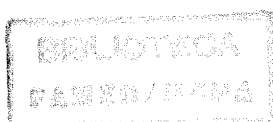
The preliminary evaluation of the cellularity of the bone marrow did not allow any conclusion as far as the occurrence of tumor cell differentiation following DAC exposure in the patients. In fact, an initial review of the slides showed only a cytotoxic effect. However, this observation should be looked at further, as there was no sequential evaluation of cell differentiation markers in bone marrow samples following therapy.

The same holds true for the cytogenetic analysis of the bone marrow in responding cases. In summary, the initial phase II evaluation of the DAC/daunorubicin combination as an induction regimen in patients with non-pretreated acute myeloid leukemia revealed promising antitumor activity with acceptable toxic effects.

REFERENCES

- 1 Keating A, Crump M. Acute leukemia in adults. *Curr Opin Hematol* 1995; 2: 247-254.
- 2 Gale RP, Foon KA. Therapy of acute myelogenous leukemia. *Semin Hematol* 1987; 24: 40-54.
- 3 Champlin R, Gale RP. Acute myelogenous leukemia: recent advances in therapy. *Blood* 1987; 69: 1551-1562.
- 4 Stone RM, Mayer RJ. Treatment of the newly diagnosed adult with de novo acute myeloid leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1993; 7: 47-64.
- 5 Jones PA, Taylor SM. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation. *Cell* 1980; 20: 85-93.
- 6 Cleusot F, Acs G, Christman JK. Inhibition of DNA methyl-transferase and induction of Friend erythroleukemia cell differentiation by 5-azacytidine and 5-Aza-2'deoxyctidine. *J Biol Chem* 1982; 257:2041-2048.
- 7 Schwartzmann G, Pinedo HM, Leyva L. Resistance of HL-60 promyelocytic leukemia cells to induction of differentiation and its reversal by combination treatment. *Eur J Cancer* 1987; 23: 739-743.
- 8 Leyva A, Schwartzmann G, Boieje LMC, Pinedo HM, DeWaal FC. Growth-inhibitory effects of 5-aza-2'-deoxycytidine in HL-60 promyelocytic leukemia cells resistant to differentiation induction. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 23: 595-597.
- 9 Momparler RL, Goodman J. In vitro cytotoxic and biochemical effects of 5-Aza-2'deoxycytidine. *Cancer Res* 1977; 37: 1636-1639.
- 10 Momparler RL, Combinational chemotherapy of L1210 and L1210/Ara-C leukemia with 5-Aza-2'deoxycytidine and B-2'-deoxythioguanosine. *Int J Cancer* 1982; 30: 361-364.
- 11 Momparler RL. 5-Aza-2'deoxycytidine: an overview. In: Momparler RJ, de Vos D (eds). *5-Aza-2'-Deoxycytidine Preclinical and Clinical Studies*. Pharmachemie: Haarlem, the

- Netherlands, 1990, pp 9-15.
- 12 Richel DJ, Colli LP, Kluin-Nelemans JC, Willemse R. The antileukemic activity of 5-Aza-2'deoxyctidine (aza-dC) in patients with relapsed and resistant leukemia. *Br J Cancer* 1991; 64: 144-148.
 - 13 Peters WC, Willemze R, Colly LP. Results of induction and consolidation treatment with high-dose cytosine arabinoside and m-Amsa of patients with poor-risk acute myelogenous leukemia. *Eur J Haematol* 1988; 40: 199-204.
 - 14 Gehan LA. The determination of the number of patients required in preliminary and follow-up trial of a new chemotherapeutic agent. *J Chronic Dis* 1961; 13: 346-349.
 - 15 Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Group. *Ann Intern Med* 1985; 103:620-625.
 - 16 Chesan BD, Cassileth PA, Head DR et al. Report of the National Cancer institute-sponsored workshop on definitions of diagnosis and response in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1990; 5:813-819.
 - 17 Schwartzmann G, Wanders J, Koier IJ, Franklin HR, Dalesio O, Hornstra HW et al. EORTC New Drug Development Office coordinating and monitoring program for phase I and II trials with new anticancer agents. *Eur J Cancer* 1991; 27: 1162-1168.
 - 18 Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M et al. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 1981; 47: 207-214.
 - 19 Schwartzmann G, Workman P. Anticancer drug screening and discovery in the 1990s: a European perspective. *Eur J Cancer* 1993; 29: 3-14.
 - 20 Christman JK, Price P, Pedrinan L, Acs G. Correlation between hypomethylation of DNA and expression of globin genes in Friend erythroleukemia cells. *Eur J Biochem* 1977; 81: 53-61.
 - 21 Momparler RL, Derse D. Kinetics of phosphorylation of 5-Aza-2'deoxyctidine by deoxyctidine kinase. *Biochem Pharmacol* 1979; 28: 1443-1444.



- 22 Pinto A, Attadia V, Fusco A, Ferrara F, Spada OA, DiFiore PP. 5-Aza-2'-deoxycytidine induces terminal differentiation of leukemic blasts from patients with acute myeloid Leukemias. *Blood* 1984;64: 922-929.
- 23 Gonzalez-Zulueta M, Bender CM, Pao MM, Zingg J-M, Tsai YC, Arap W. Activation of a silent p16/CDKN2 tumor suppressor gene by 5-aza-2'-deoxycytidine restores growth control to human cancer cells. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1996; 37: 420 (Abstr. 2868).
- 24 Ferguson AT, Vetino PM, Davidson NE. Effects of 5-aza-2'-deoxycytidine on human cancer cell lines with variable DNA methyltransferase activity. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1996; 37: 537 (Abstr. 3675).

Table 1**Patient characteristics (n = 8)**

No.	Age (years)	M/F	PS (WHO)	FAB classification
1	35	F	2	M4
2	39	F	2	M5
3	38	F	2	M4
4	52	F	1	M2
5	51	F	2	M5
6	46	F	2	M5*
7	30	M	2	M4
8	59	F	2	ALL†

FAB, French-American–British Group classification; PS, performance status; WHO, World Health Organization.

* Early death on day 12 from starting therapy. †ALL at phenotypic review; removed from study.

Table 2
Immunophenotypic and cytogenetic characteristics
of evaluable patients

N°	FAB*	Cytochemistry	Immunophenotype	Karyotype
1	M4	PAS-/SUDAN+	CD10 0% CD3 1% CD19 0% CD13 60% CD14 40% HLA-DR 60% Glycophorin 10%	N
2	M5	PAS-/SUDAN+	CD10 0% CD2 7% CD19 2% CD13 0% CD14 6% HLA-DR 80% Glycophorin 0%	N
3	M4	PAS-/SUDAN+	CD10 0% CD19 0% CD2 5% CD13 80% CD14 1% HLA-DR 65% Glycophorin 0%	N
4	M2	PAS/SUDAN+	CD10 0% CD19 1% CD13 85% CD14 35% HLA-DR 90% Glycophorin 5%	N
5	M5	PAS/SUDAN+	CD10 0% CD19 0% CD13 20% CD14 80% HLA-DR 90% Glycophorin 5%	N
7	M4	PAS/SUDAN+ Myeloperoxidase:+	CD10 0% CD19 1% CD2 22% CD13 87% CD14 5% CD33 78% HLA-DR 79%	inv(16)(p13q22)

* FAB, French-American-British Group classification; PAS, Periodic Acid Schiff reaction: N, normal.

Table 3**Worse toxic effects NCI-CTC* (grades 3-4) (n = 6)**

Type of effect	N° of patients (%)
Neutropenia	6(100)
Thrombocytopenia	6(100)
Alopecia	6(100)
Mucositis	5(83)
Nausea/vomiting	4(67)

*NCI-CTC, National Cancer institute Common Toxicity Criteria.

Table 4

Duration of severe myelosuppression and transfused units

Patient	N >500	P >20 000	Platelet units	Red cell units
1	20	13	18	3
2	18	11	15	9
3	15	13	28	3
4	17	17	28	3
5	17	17	32	5
6	—	—	—	—
7	34	20	96	8
8	—	—	—	—

Number of days N = neutrophils and P = platelets were under 500 and 20 000 cells/mm³, respectively,

Table 5

Type and duration of clinical remissions (n= 6)

Patient N°	Type of remission (CALGB)	Duration of remission (months)
1	CR	7
2	CR	16
3	CR	21*
4	CR	24†
5	CR	5‡
6	NE	-§
7	CR	5
8	PV	-¶

CR, complete remission; PR, partial remission; NE, non-evaluable; PV, protocol violation.

* Died of neutropenic sepsis after high-dose Ara-C.

† Refused second high-dose Ara-C consolidation; remains in CR.

‡ No high-dose Ara-C consolidation due to hepatitis B.

§ More than 20 000 cells/mm³ at diagnosis; underwent two leukophereses; died due to CNS bleeding on day 12.

|| Alive with relapse; on second-line chemotherapy.

¶ ALL confirmed on immunophenotypic analysis; died of sepsis on day 21.

OBSERVAÇÕES PRELIMINARES SOBRE A SEGURANÇA E A ATIVIDADE
ANTI-TUMORAL DA COMBINAÇÃO DO AGENTE HIPOMETILADOR DO DNA
DECITABINA COM A DAUNORUBICINA COMO TRATAMENTO DE
PRIMEIRA LINHA EM PACIENTES COM
LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

RESUMO

Objetivo

Determinar o percentual de remissão completa e avaliar os efeitos tóxicos da droga 5-AZA-2'-deoxicitidine (5-AZA-2'-CdR, decitabina, DAC) e daunorubicina em pacientes com leucemia mielóide aguda (LMA).

Métodos

Realizou-se um estudo experimental, não randomizado, de fase II, onde 9 pacientes consecutivos elegíveis de 12 avaliáveis, entre 18 e 59 anos, com leucemia mielóide aguda não tratados foram avaliados e comparados com controle histórico. Os pacientes receberam 90 mg/m² de decitabina administrado em 4 h de infusão endovenosa por 5 dias, diluída em 500 ml de solução salina fisiológica e 50 mg/m² de daunorubicina como injeção endovenosa em bolo, nos dias 1,2 e 3. A remissão completa foi avaliada mediante critérios standardizados e os efeitos adversos avaliados pelo exame clínico e laboratorial.

Resultados

Todos os pacientes apresentaram remissão completa com um ciclo ou dois do protocolo em estudo. Os efeitos adversos foram semelhantes ao uso de drogas usadas historicamente no tratamento desta doença.

Conclusão

Decitabina em combinação com daunorubicina resulta em remissão completa com efeitos adversos comparáveis a esquemas anteriores de tratamento em pacientes com leucemia mielóide aguda e estudos de fase II e III devem continuar sendo conduzido.

INTRODUÇÃO

A incidência da LMA é de 2.2 por 100.000, há aproximadamente 9.700 novos casos cada ano nos EUA e a incidência aumenta com a idade sendo responsável por quase 90% dos casos de leucemia aguda no adulto (1,2). Aproximadamente 65% dos pacientes adultos previamente não tratados com doença primária entram em RC com a terapia convencional, isto é, 7 dias de Ara-C em infusão contínua e 3 dias de uma antraciclina, em geral a daunorubicina.

Entretanto, mesmo com terapia convencional de consolidação ou manutenção, menos que 25% destes pacientes permanecem em remissão com duração média de 8 a 12 meses e sobrevivência média de 9 a 16 meses (3-8). A prioridade atual é manter a remissão e impedir a recidiva com quimioterapia de de intensificação ou consolidação tem este fim.

Vários estudos randomizados têm sido conduzidos para avaliar função do transplante de medula óssea, alogeneico ou autólogo, na LMA. Todos estes estudos reduzem o risco de recidiva mas não necessariamente melhoram a sobrevivência ou devido à mortalidade do procedimento ou a terapia de salvamento nas recidivas pós-transplantes. Apresentando-se como mais uma modalidade terapêutica intensiva no sentido de evitar a recidiva e chegar à cura da doença o transplante de medula óssea em geral necessita que o paciente esteja em RC (9-12) . Assim torna-se importante que novas drogas com maior atividade contra esta doença sejam identificadas.

Decitabina é um análogo da deoxicidina, no qual o C-5 do anel pirimidínico é substituído por um nitrogênio. Em seguida a sua incorporação na célula, a decitabina leva a

hipometilação do DNA, que parece ter uma importante função no controle na expressão genética e na diferenciação celular (13,14).

Decitabina mostrou ter efeitos na indução de diferenciação e efeito antiproliferativo em vários estudos in vitro. Também tem efeito comparável ou superior ao Ara-C em linhagens de células leucêmicas de rato e humanas (15-20).

Resultados preliminares de ensaios clínicos com decitabina em pacientes com mielodisplasia e LMA recidivada têm demonstrado que este agente é capaz de induzir RC em até 50% dos casos, efeito comparável a outros regimes quimioterápicos de salvamento usados (21-28).

A combinação Ara-C + antraciclina continua sendo a terapia padrão (principalmente o esquema 7-3, com 7 dias de Ara-C e 3 dias de daunorubicina) para os pacientes com LMA (5,29,30). Neste trabalho avaliamos a combinação decitabina + daunorubicina como terapia de primeira linha em pacientes com LMA. Neste estudo de fase II avaliamos percentual de RC e a toxicidade desta combinação.

PACIENTES E MÉTODOS

Pacientes

Foram estudados pacientes entre 18 e 59 anos com LMA primária sem tratamento prévio. As características destes pacientes estão na tabela 1. O estudo foi realizado no Serviço de Hematologia do Hospital São Lucas, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e todos os pacientes receberam informação oral e assinaram um consentimento informado. O diagnóstico foi realizado baseado nos critérios da classificação FAB (French, American, British) (31) e os pacientes com o subtipo leucemia pró-mielocítica aguda (FAB M3) não participaram do estudo em função do efeito benéfico do ácido *all-trans*-retinoico comparado com quimioterapia somente (32,33).

Delineamento e Procedimentos

Realizou-se um estudo não-randomizado, de fase II, onde pacientes hospitalizados consecutivos foram incluídos no estudo para comparação com os dados históricos. Os pacientes preenchiem as condições de elegibilidade como o diagnóstico definido de LMA, exceto o subtipo M3, usando o sistema de classificação FAB, com o uso, além da morfologia, da imunofenotipagem e cariograma; idade acima de 18 e abaixo de 70 anos; adequada função renal, hepática, pulmonar e cardíaca. Condições para inelegibilidade eram o estado geral comprometido devido à doença sistêmica não maligna; tratamento quimioterápico ou radioterápico anterior; envolvimento do sistema nervoso central; leucemia pró-mielocítica aguda (FAB-M3).

Decitabina foi fornecido pelo laboratório Pharmachemie BV, Haarlem, Holanda e daunorubicina pelo laboratório Carlo Erba, Brasil. Cada frasco de decitabina liofilizada era armazenado a 4° C e reconstituído com 50 ml de água estéril para aplicação endovenosa com cada ml contendo 10 mg da droga. A solução era preparada imediatamente antes da administração. Decitabina era aplicada numa infusão endovenosa de 4 h, na dose de 90 mg/m², nos dias 1 a 5, diluída em 500 ml de solução salina normal. Daunorubicina era aplicado na dose de 50 mg/m² numa infusão endovenosa rápida nos dias 1 a 3.

O tratamento foi aplicado ao pacientes em quarto hospitalar com isolamento protetor, com medidas padronizadas para pacientes neutropênicos. Todos portavam cateter central com dupla via. Os pacientes não receberam profilaxia com antibióticos. Caso apresentassem febre no período de neutropenia, após uma avaliação clínica detalhada e coleta de material para culturas, recebiam uma combinação de aminoglicosídeo (amicacina) e uma cefalosporina de terceira (ceftriaxone) ou quarta geração (cefepime). Antifúngico era administrado se havia febre persistente após 7 dias de antibioticoterapia, suspeita clínica ou cultura positiva para fungo.

O critério para transfusão de glóbulos era uma hemoglobina igual ou menor que 8 g%. O critério para transfusão diária e profilática de plaquetas era contagem de menos de 10.000/mm³; entre 10-20.000/mm³ nos casos de febre ou abaixo de 50.000/mm³ prévio a procedimentos cirúrgicos.

Nenhuma recomendação foi determinada neste estudo para a quimioterapia pós-remissão, embora a maioria tenha realizado um ou mais ciclos com altas doses de Ara-C com ou sem uma antraciclina e alguns foram encaminhados para um centro de transplante de medula óssea.

O exame clínico completo realizado anterior ao tratamento continuava com história, exame físico, avaliação laboratorial hematológica e bioquímica diariamente e/ou em dias alternados, avaliação radiológica e outros testes de imagem dependendo do caso. Ecocardiografia ou radiocardiografia foi realizado em todos pacientes devido ao possível efeito cardiotóxico da daunorubicina. Os exames de imunofenotipagem e cariótipo foram realizados ao diagnóstico através do aspirado de medula óssea.

O aspirado e a biópsia de medula óssea foram repetidos a partir do dia 10 depois do início do tratamento, conforme julgamento clínico e até uma ou duas vezes por semana. Conforme os critérios de definição e resposta em LMA do NCI (34) os pacientes eram considerados em RC ou RP. Por este critério, uma RC exige uma contagem sanguínea periférica de neutrófilos igual ou maior que $1.500/\text{mm}^3$, plaquetas acima de $100.000/\text{mm}^3$ e nenhum blasto leucêmico no sangue periférico. A medula óssea deve ter mais que 20% de celularidade com maturação de todas as linhagens celulares e o aspirado medular com menos de 5% de células blásticas. Não deve ter presença de infiltração leucêmica extramedular. RP é caracterizado por medula óssea contendo entre 5 e 25% de blastos. Todas outras situações são consideradas uma falência do tratamento.

A RC deveria manter por, no mínimo, 4 semanas, a normalização dos neutrófilos e plaquetas embora este período não devesse interferir com a continuidade do tratamento quimioterápico planejado para logo após a recuperação da contagem sanguínea. A duração de remissão é a data da RC detectada até a recidiva.

A sobrevivência tem como data inicial o começo do tratamento. Recidiva seguindo a RC é definida como reaparecimento de blastos no sangue periférico ou o achado de mais de 5% de blastos na medula óssea.

O tratamento pós-remissão consistiu no uso de 1 a 4 ciclos de altas doses de Ara-C com ou sem uma antraciclina, dependendo da tolerância do paciente. Após a recidiva alguns pacientes voltaram a realizar outros protocolos de reindução, como idarubicina, VP-16, mitoxantrone e Ara-C.

Efeitos adversos

A ocorrência de efeitos adversos foi monitorizada continuamente por avaliação clínica e por testes laboratoriais conforme graduação da escala do National Cancer Institute Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) (35).

Análise dos resultados

De um grupo de 12 pacientes que entraram no estudo, apenas 9 puderam ser avaliados. Um paciente teve o diagnóstico de leucemia linfocítica aguda e dois pacientes tiveram óbito dentro da primeira semana após o término do tratamento, sendo considerados morte precoce (34). O método de Gehan (36) em dois estágios espera que o mínimo de sete pacientes seja avaliado para que, se não houver resultados em todos, fosse descontinuado imediatamente a pesquisa. Como isto não ocorreu o estudo continuou aberto para a entrada de novos pacientes.

A análise baseou-se na avaliação da RC, através do exame de sangue periférico, biópsia e aspirado de medula óssea. Também foi observado o tempo para chegar a RC, a duração da RC e a sobrevivência atual dos pacientes. A ocorrência de efeitos adversos foi

avaliada por acompanhamento clínico e testes laboratoriais e graduada conforme a escala do National Cancer Institute - Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) (35),

RESULTADOS

As características clínicas e de sangue periférico dos pacientes incluídos no estudo estão na tabela 1. Dos doze pacientes que entraram no estudo, um teve erro diagnóstico e dois morreram antes de uma semana após o término do tratamento. Estes últimos foram considerados, segundo o NCI (34), como falência de tratamento de causa indeterminada. Assim, com nove pacientes avaliáveis, a média de idade foi de 36 anos, a maioria apresentando performance grau 2 e a LMA com diferenciação (FAB-M2) junto com a leucemia mielo-monocítica aguda (FAB-M4) foram as mais comuns.

As características citotóxicas, imunofenotípicas e cariotípicas estão na tabela 2. Dois pacientes tiveram detectado alterações no cariógrama. Um paciente com FAB M4 detectou-se a inversão do cromossomo 16, cuja relação é descrita na literatura. Outro paciente com FAB M1 apresentou deleção do cromossomo 9, neste caso sem aparente relação com a classificação morfológica.

A tabela 3 mostra os ciclos quimioterápicos recebidos, a resposta, a duração da resposta e a sobrevivência geral até o momento. Todos os nove pacientes avaliáveis entraram em RC. Quatro necessitaram dois ciclos da combinação quimioterápica em estudo.

Levou-se, em média, 41.6 dias para chegar à remissão e isto se deve, provavelmente, aos quatro pacientes que receberam dois ciclos do protocolo em investigação e apresentaram o dobro do tempo para recuperar a medula óssea comparado aos pacientes que receberam apenas um ciclo.

A duração da RC e a sobrevivência total tiveram uma média de 15.6 e 20.6 meses, respectivamente. Na tabela 4 encontra-se a duração da mielossupressão e as transfusões de glóbulos e plaquetas. A média do tempo de recuperação dos granulócitos foi de 26 dias e a média de recuperação das plaquetas foi de 17 dias. Em 22 dias, em média, os pacientes já estavam com mais de 100.000 plaquetas por mm^3 . Receberam, em média, 8.6 unidades de concentrado de glóbulos e 52.8 unidades de concentrado de plaquetas. Nota-se que os pacientes que receberam dois ciclos apresentaram recuperação hematológica mais demorada e receberam mais transfusões de glóbulos e plaquetas que os que receberam apenas um ciclo.

A tabela 5 mostrou uma toxicidade não-hematológica na grande maioria dos casos igual ou abaixo do grau 1 sendo que apenas um paciente teve estomatite grau 3. A alopecia ocorreu em todos. Não houve toxicidade cardiológica apesar do uso da antraciclina. A toxicidade hematológica, como esperado, teve grau 4 em todos pacientes (três tiveram somente grau 3 no item anemia devido às transfusões de glóbulos para manter a hemoglobina acima de 8 g%). A duração da leucopenia e plaquetopenia está na tabela 4.

DISCUSSÃO

Este estudo em que a decitabina, em combinação com a daunorubicina, comparado ao tratamento convencional, clássico, para LMA, o esquema 7-3, isto é 7 dias de Ara-C e 3 dias de daunoblastina, demonstra que consegue RC neste reduzido número de pacientes estudados.

Em quatro pacientes foram necessários dois ciclos (44%) para conseguir a RC. No esquema 7-3, contra qual a maioria dos novos regimes são testados, 25 a 63% dos pacientes requerem mais do que um curso de indução para chegar a uma RC (3,37-40). Levou-se, em média, 41.6 dias para chegar à remissão e isto se deve aos pacientes que receberam dois ciclos que apresentaram o dobro do tempo para recuperar a medula óssea comparado aos pacientes que receberam um ciclo.

A duração média da RC e a da sobrevivência total de 15.6 e 20.6 meses, respectivamente, é comparável ao tratamento convencional de Ara-C mais daunorubicina que apresenta uma duração média de RC de 8.4 e de 9.2 meses e de sobrevivência total de 8.7 e de 13.7 meses conforme publicações anteriores (5,39).

Este estudo demonstra que a decitabina, em combinação com a daunorubicina é efetiva em induzir RC em pacientes com LMA, primária e sem tratamento prévio. Apesar deste trabalho apresentar um grupo muito pequeno de pacientes a observação de conseguir a RC em todos os pacientes avaliáveis é muito promissora.

A dose estipulada neste ensaio parece ser a mais adequada conforme os dados de farmacocinética pré-clínica e clínica. Assim, conclui-se por um óbvio efeito antileucêmico,

sugerindo que o efeito de hipometilação do DNA ocorrido sendo capaz de produzir uma vantagem terapêutica. A mielossupressão, com suas complicações relacionadas, foi o mais significativo efeito colateral mas sem evolução fatal nos pacientes elegíveis.

Pode-se observar que a substituição do Ara-C pela decitabina não comprometeu a segurança da combinação, produzindo ao mesmo tempo níveis de RC semelhante ou até superiores ao esquema clássico.

Em suma, esta avaliação clínica da combinação de decitabina e daunorubicina como regime de indução em pacientes com LMA não pré-tratada revelou atividade anti-tumoral com efeitos tóxicos aceitáveis. Estes dados preliminares, juntamente com muitos outros em vários países, fizeram com que este agente tenha obtido aprovação em alguns países para o tratamento de síndromes mielodisplásicas e se encontra em fase avançada de avaliação em pacientes com LMA, possuindo grande perspectiva de registro também nesta indicação. Estudos futuros com decitabina, neste tipo de doença maligna, deverão ser estimulados, tanto na fase de indução de remissão como na fase de consolidação, como agente único ou em combinação.

CONCLUSÕES

1. A combinação de decitabina com daunorubicina não produziu nenhum tipo de toxicidade que impedisse a realização deste estudo preliminar, mostrando-se um regime viável para estudos subseqüentes em pacientes com LMA.
2. A toxicidade hematológica e não-hematológica produzida por esta combinação foi semelhante à observada nos protocolos convencionais para tratamento de pacientes com LMA.
3. Atingiu-se a remissão completa da doença na totalidade dos pacientes incluídos nesta série com a combinação decitabina mais daunorubicina.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo preliminar, o autor teve como objetivo estudar a viabilidade de um esquema de tratamento de primeira linha para pacientes com LMA incluindo o agente experimental decitabina (em substituição ao agente Ara-C) na combinação com o derivado antraciclínico daunorubicina.

Através da avaliação detalhada de um grupo de pacientes incluídos consecutivamente neste estudo-piloto, pode-se observar que a substituição do Ara-C pela decitabina não comprometeu a segurança da combinação, produzindo ao mesmo tempo níveis de remissões completas semelhantes ou talvez superiores ao esquema clássico.

Estas observações foram fundamentais para que estudos de fase II fossem iniciados com esta nova combinação em pacientes com LMA e também estimulou vários investigadores a iniciar a avaliação da decitabina em outras indicações hematológicas.

Hoje, temos a satisfação de constatar que este agente obteve aprovação para uso em vários países para o tratamento de síndromes mielodisplásicas e se encontra em fase avançada de avaliação em pacientes com LMA, possuindo grandes perspectivas de registro também nesta indicação. Os resultados apresentados nesta dissertação foram de fundamental importância neste processo.

REFERÊNCIAS

1. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics 1997. *Ca Cancer J Clin* 1997;47:5-27.
2. Sandler DP, Ross JA. Epidemiology of acute leukemia in children and adults. *Semin Oncol* 1997;24:3-16.
3. Mayer RI, Davis RB, Schiffer CA, Berg DT, Powell BL, Shulman P, Omura GA, Moore JO, McIntyre OR, Frei E 3rd. Intensive post remission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1994;331:896-903.
4. Bennett JM, Young ML, Andersen JW, Cassileth PA, Tallman MS, Paietta E, et al. Long-term survival in acute myeloid leukemia: the Eastern Cooperative Oncology Group experience. *Cancer* 1997;80 Suppl 11:2205-9.
5. Bishop JF. The treatment of Adult Acute Myeloid Leukemia. *Semin Oncol* 1997;24:57-99.
6. Burnett AK. Tailoring the treatment of acute myeloid leukemia. *Curr Opin Hematol* 1999;6:247-52.
7. Baudard M, Beauchamp-Nicoud A, Delmer A, Rio B, Blanc C, Zittoun R, et al. Has the prognosis of adult patients with acute myeloid leukemia improved over years? A single institution experience of 784 consecutive patients over a 16-year period. *Leukemia* 1999;13:1481-90.
8. Estey H, Kantarjian H, Keating MJ. Therapy for Acute Myeloid Leukemia. In Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P, eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*, 3th ed. Churchill Livingstone 2000;1025-42.
9. Zittoun RA, Franco M, Willemze R, Witte T, Labar B, Resegotto L, et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *N Eng J Med* 1995;332:217-23.

10. Ravindranath Y, Yeager AM, Chang MN, Steuber P, Krischer J, Grhan-Pole J, et al. Autologous bone marrow transplantation versus intensive consolidation chemotherapy for acute myeloid leukaemia in childhood. *N Engl J Med* 1996;334:1428-34.
11. Harousseau JL, Cahn JY, Pignon B, Witz F, Milpied N, Delain M, et al. Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukaemia. The Groupe Ouest Est Leucemies Aigues Myeloblastiques (GOLAM). *Blood* 1997;90:2978-86.
12. Cassileth PA, Harrington DP, Appelbaum FR, Lazarus HM, Rowe JM, Paietta E, et al. Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. *N Engl J Med* 1998;339:1649-56.
13. Jones PA, Taylor SM. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation. *Cell* 1980;20:85-93.
14. DeSimone J, Heller P, Molokie RE, Hall L, Zwiers D. Tetrahydrouridine, cytidine analogues, and hemoglobin F. *Am J Hematol* 1985;18:283-8.
15. Momparler RL, Goodman J. In vitro cytotoxic and biochemical effects of 5-aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Res* 1977;37:1636-9.
16. Momparler RL, Gonzalez FA. Effect of intravenous infusion of 5-Aza-2'deoxycytidine on survival time of mice with L1210 leukemia. *Cancer Res* 1978; 38: 2673-8.
17. Momparler RL, Frith CH. Toxicology in mice of the antileukemic agent 5-Aza-2'-deoxycytidine. *Drug Chem Toxicol* 1981;4: 373-81.
18. Chabot GG, Momparler RL. Effects of 5-Aza-2'deoxycytidine on survival and cell cycle progression of L1210 leukemia cells. *Leuk Res* 1986;10:533-7.
19. Covey JM, Zaharko DS. Effects of dose and duration on 5-Aza-2'deoxycytidine cytotoxicity for L1210 leukemia in vitro. *Cancer Treat Rep* 1984;68:1475-81.
20. Richel DJ, Colly LP, Luvink E, Willemze R. Comparison of the antileukemic activity of 5-Aza-2'-deoxycytidine and arabinofuranosyl-cytosine in rats with myelocytic leukemia. *Br J Cancer* 1988;58:730-3.

21. Zagonel V, Re GL, Marotta G, Babare R, Sardeo G, Gattei V, et al. 5-Aza-2'-deoxycytidine induces trilineage response in unfavourable myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1993;7(Suppl 1):30-5.
22. Silverman LR, Holland JF, Weinberg RS, Alter BP, Davis RB, Ellison RR, et al. Effects of treatment with 5-Aza-2'-deoxycytidine on the in vivo and in vitro hematopoiesis in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1993; 7 Suppl 1:21-9.
23. Debusscher L, Maria JP, Dodion P, Blanc GM, Arrigo C, Zittoun R, et al. Phase I, II trial of 5-Aza-2'deoxycytidine (NSC-127.716) in adult patients with acute leukemia. In Momparler RL, Vos D, eds. *5-Aza-2'deoxycytidine, Preclinical and Clinical Studies*, PCH Publications 1990;131-43.
24. Rivard GE, Momparler RL, Demers J, Benoit P, Raymond R, Lin K, et al. Phase I study on 5-Aza-2'-deoxycytidine in children with acute leukemia. *Leuk Res* 1981;5: 453-62.
25. Willemze R, Richel DJ, Arentsen-Honders W, Colly LP. Preliminary results of 5-Aza-2'-deoxycytidine in patients with the Ara-C resistant and sensitive acute leukemia. In Momparler RL, Vos D, eds. *5-Aza-2'deoxycytidine, Preclinical and Clinical Studies*, PCH Publications 1990,183-91.
26. Petti MC, Mandelli F, Zagonel V, Gregoris C, Merola MC, Latagliata R, et al. Pilot study of 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in the treatment of poor prognosis acute myelogenous leukemia: preliminary results. *Leukemia* 1993;7 Suppl 1:36-41.
27. Gattei V, Aldinucci D, Petti MC, Ponte A, Zagonel V, Pinto A. In vitro e in vivo effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) on clonogenic cells from acute myelogenous leukemia patients. *Leukemia* 1993;7 Suppl 1:42-8.
28. Willemze R, Archimbaud E, Muus P for the EORTC Leukemia Cooperative Group. Preliminary results with 5-Aza-2'-deoxycytidine (DAC)-containing chemotherapy in patients with relapsed or refractory acute leukemia. *Leukemia* 1993;7 Suppl 1:49-50.
29. Fonn KA, Gale RP. Therapy of acute myelogenous leukemia. *Blood Reviews* 1992;6:15-25.

30. Estey EH. Treatment of acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes. *Sem Hematol* 1995;32:132-51.
31. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT. Proposals for the classification of the acute leukemias *Br J Haematol* 1976;33:451-8.
32. Warrell RP, de The H, Wang ZY, Degos L. Acute promyelocytic leukemia, *Medical Progress. NEJM* 1993;329(3):177-89.
33. Tallman MS, Andersen JW, Schiffer CA, Appelbaum FR, Feusner JH, Ogden A, et al. All-trans-Retinoic acid in Acute Promyelocytic Leukemia. *NEJM* 1997;337:1021-8.
34. Cheson BD, Cassileth PA, Head DR., Schiffer A, Bennett JM, Bloomfield CD, et al. Report of the National Cancer Institute-Sponsored Workshop on Definitions of Diagnosis and Response in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* 1990;8:813-9.
35. Green S, Weiss GR. Southwest Oncology Group standard response criteria, endpoint definitions and toxicity criteria. *Invest News Drugs.* 1992;10:239-53.
36. Gehan EA. The determination of the number of patients required in a preliminary and follow-up trial of a new chemotherapeutic agent. *J Chronic Dis* 1961;13:346-9.
37. Mayer RJ. Current chemotherapy treatment approaches to the management of previously untreated adults with de novo acute myeloid leukemia. *Semin Oncol* 1987;14:384-96.
38. Estey EH. Treatment of acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes. *Sem Hematol* 1995;32:132-51.
39. Wiernik PH; Banks PL; Case DC Jr; Arlin ZA; Periman PO; Todd MB et al, Cytarabine plus idarubicin or daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 1992;79:313-9.
40. Stone RM, Mayer RJ. Treatment of the newly diagnosed adult with de novo acute myeloid leukemia. *Hematol Oncol Clin North* 1993;7:47-64.

Tabela 1

Características dos pacientes elegíveis

N.º de pacientes avaliados	12
Inelegíveis	
Cancelado*	1
Falência de tratamento de causa indeterminada†	2
Elegíveis	9
Sexo (n.º pacientes)	
M/F	5/4
Idade (anos)	
Média	36
Variação	18-51
Tipos de LMA/FAB‡ (n.º pacientes)	
M1	2
M2	3
M4	3
M5	1
Hemoglobina (g%)	
Média	8.4
Variação	5.7-12.7
Leucócitos > 50.000/mm ³	5
Plaquetas (mm ³)	
Média	56.000
Variação	13-121.000
Performance/WHO (n.º pacientes)	
1	3
2	4
3	2

*Erro de diagnóstico; †Segundo NCI (15); ‡FAB, French-American-British Group classification.

Tabela 2

Características citoquímicas, imunofenotípicas e cariotípicas

Paciente	FAB*	Cito-química	Imunofenotipagem								Cariotipagem
1	M4	SB† + PAS‡ -	CD13 60% CD14 40%	CD45 60% CD10 0%	CD19 0% CD20 0%	Glycophorina 10% CD61 0% HLA-DR. 60%	Normal				
2	M2	SB + PAS -	CD13 70% CD14 6%	HLA-DR 80% CD45 35%	CD10 0% CD19 2%	CD20 1% Glycophorina 1%	Normal				
3	M4	SB + PAS -	CD13 80% CD14 1%	CD45 90% CD10 0%	CD19 0% CD20 1% CD61 0%	Glycophorina 12% HLA-DR. 15%	Normal				
4	M2	SB + PAS -	CD13 85% CD14 35%	HLA-DR 65% CD34 0%	CD10 0% CD19 1% CD61 0%	CD20 0% Glycophorina 0%	Normal				
5	M5	SB + PAS -	CD13 20% CD14 80%	CD10 0% CD19 1%	CD20 0% CD61 0%	HLA-DR. 90% Glycophorina 0%	Normal				
8	M4	SB + PAS -	CD13 87.6% CD14 5.1%	CD2 22,8% CD7 2.6% CD10 0.1%	CD19 1.2% CD20 2.5% CD33 7.2%	CD34 2.2% CD45 8.9% HLA-DR 79.8%	46,XY,inv(16) (p13q22)				
9	M1	SB + PAS -	CD13 22.2% CD14 1% CD15 26.4%	CD2 1.3% CD7 75% CD10 0.1%	CD19 0.7% CD20 0.2% CD33 74.4%	CD34 62% CD45 94% HLA-DR 61.9%	Normal				
11	M2	SB + PAS -	CD13 94.9% CD14 2.4% CD15 6.8%	CD2 58.6% CD7 29% CD10 0.1%	CD19 14.7% CD20 7.6% CD33 4.2%	CD34 49.5% CD45 99.8% HLA-DR 91.9%	Normal				
12	M1	SB + PAS -	CD13 58.5% CD14 3.6% CD15 98.4%	CD2 0.8% CD10 0.1% CD19 3.6%	CD20 0.3% CD33 99.5% CD34 97.9%	CD45 99.9% Glycophorina 1% HLA-DR. 99.7%	46,XY,del(9) (q11q34)				

*FAB, French-American-British Group classification; †SB, Sudan Black; ‡PAS, Periodic Acid Schif.

Tabela 3

Resposta ao tratamento, tempo para chegar à remissão,
duração da remissão e sobrevivência total

Paciente	Ciclos decitabine + daunorubicina	Resposta	Tempo para chegar à remissão (dias)	Duração da remissão (meses)	Sobrevivência total (meses)	Tratamento pós- remissão (número de ciclos)
1	1	RC*	28	13	16	Alta dose Ara-C (2)
2	1	RC	29	16	19	Alta dose Ara-C (1)
3	1	RC	38	21 (Óbito em remissão)	21 (óbito em remissão)	Alta dose Ara-C (4) (Óbito no 4º ciclo)
4	1	RC	24	41	48	Alta dose Ara-C (1) Baixa dose Ara-C SC
5	1	RC	26	6	16	Hepatite aguda pós- remissão. Optou por terapia paliativa (baixa dose Ara-C e VP oral)
8	2	RC	90	6	11	Alta dose Ara-C (1) Baixa dose Ara-C SC
9	2	RC	52	11	24	Alta dose Ara-C (2)
11	2	RC	37	19	19 (vivo, em remissão)	Alta dose Ara-C (4)
12	2	RC	51	7	11	Alta dose Ara-C (4)
Média			41.6	15.6	20.6	

* RC, Remissão Completa.

Tabela 4

Duração da mielossupressão e transfusões de glóbulos e plaquetas

Paciente/ (nº ciclos)	Recuperação hematológica (dias)			Transfusões (unidades)	
	granulócitos >500/mm ³	Plaquetas >20.000/mm ³	plaquetas >100.000/mm ³	Glóbulos	plaquetas
1(1)	20	13	24	3	18
2(1)	18	11	25	9	15
3(1)	15	13	17	3	28
4(1)	17	17	21	3	28
5(1)	17	17	19	5	32
8(2)	34	20	24	8	96
9(2)	47	31	33	11	92
11(2)	40	17	20	21	81
12(2)	26	17	22	15	85
Média	26.0	17.2	22.7	8.6	52.8

Tabela 5

Incidência de toxicidade aguda (NCI-CTC) *

Tipo de efeito	Graus				
	0	1	2	3	4
Toxicidade hematológica					
Leucopenia					9
Plaquetopenia					9
Anemia				3	6
Toxicidade não-hematológica					
Náuseas	1	6	2		
Vômitos	1	7	1		
Estomatite	5	2	1	1	
Alopécia			9		

*NCI- CTC, National Cancer Institute – Common Toxicity Criteria. Anexo 1

Anexo 1

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO PARA PARTICIPAR DE ESTUDO CLÍNICO

AVALIAÇÃO SOBRE A SEGURANÇA E A ATIVIDADE

ANTI-TUMORAL DA COMBINAÇÃO DO AGENTE HIPOMETILADOR DO DNA

DECITABINA COM DAUNORUBICINA COMO TRATAMENTO DE PRIMEIRA

LINHA EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA.

Você está convidado a participar voluntariamente de uma pesquisa clínica. Leia atentamente as informações a seguir antes de dar o seu consentimento.

O objetivo deste estudo é avaliar a eficácia ou índice de resposta, ou ainda a remissão completa da droga decitabina junto com a daunorubicina em pacientes com leucemia mielóide aguda, avaliar seus efeitos colaterais e, dependendo dos resultados, justificar posterior continuidade da avaliação desta combinação no tratamento desta doença.

O alvo da terapia da leucemia mielóide aguda é a remissão completa geralmente que se consegue, atualmente, em torno de 60-70% dos pacientes. Este período de tratamento denomina-se terapia de indução. Após este período, havendo remissão o paciente entra em outro período de tratamento denominado consolidação, geralmente sendo usado altas doses de quimioterapia. A droga cytarabine vem sendo usada há mais de 15 anos na terapia de indução, em vários esquemas de aplicação, combinações e de dose, e parece ser ainda a mais eficaz conseguindo o percentual de remissão completa descrito acima.

Propomos o uso de uma droga, decitabina, que tem mostrado ser mais potente que a citarabine em estudos pré-clínicos e sua combinação com a daunorubicina será avaliada como terapia de primeira linha neste estudo.

Participando deste estudo, espera-se que você se beneficie com este tratamento, entrando em remissão completa e continuando o tratamento com o método convencional.

Após ser submetido a avaliação clínica rigorosa e estabilização das complicações de sua doença, isto é, estar na melhor situação possível para iniciar o tratamento quimioterápico, você receberá o tratamento que consiste em:

1. Decitabina 90 mg/m², endovenoso, em infusão de 4 h/dia, por 5 dias, diluído em 500 ml de solução fisiológica 0.9%.
2. Daunorubicina 50 mg/m², endovenoso, nos dias 1,2 e 3.

Você estará sendo continuamente assistido durante a internação e a qualquer sinal de que a droga não tenha tido o efeito esperado, nossa equipe rediscutirá seu caso e decidirá por um outro protocolo quimioterápico sempre com a perspectiva de lhe proporcionar a remissão completa que é necessário neste período do tratamento.

Você não será a primeira pessoa a utilizar o tratamento proposto neste estudo. A droga também já foi usada em várias pesquisas em animais e humanos e em pacientes portadores de leucemia semelhante à sua, em situações de refratariedade e de recidiva. Os efeitos da droga serão tratados como na situação convencional e não lhe trará custo adicional algum.

A sua participação neste estudo é voluntária. O seu atendimento médico não será prejudicado caso você decida não participar ou sair do estudo já iniciado. O seu médico pode também decidir interromper a sua participação a qualquer momento, se julgar conveniente para seu bem.

Participando do estudo você terá que seguir rigorosamente as instruções do seu médico, como também ocorre no tratamento convencional. Também deve relatar todas as reações que você apresentar durante o tratamento.

Você pode e deve fazer todas as perguntas que julgar necessárias antes de concordar em participar do estudo, assim como a qualquer momento durante o tratamento. O seu médico poderá oferecer todas as informações necessárias relacionadas à sua saúde, aos seus direitos, e a eventuais riscos e benefícios relacionados à sua participação neste estudo. Sempre que achar necessário você poderá entrar em contato com seu médico no setor do Serviço de Hematologia do Hospital São Lucas da PUCRS ou através do telefone _____.

A sua identificação será mantida como informação confidencial. Os resultados do estudo serão publicados sem revelar a sua identidade. Os seus registros médicos, entretanto, estarão disponíveis para consulta pela equipe envolvida no estudo, pelo Comitê de Ética e pelas autoridades de saúde.

Eu, _____, abaixo assinado, concordo em participar voluntariamente deste estudo clínico. Declaro que li e entendi todas as informações referentes a este estudo e que todas as minhas perguntas foram adequadamente respondidas pela equipe médica.

Nome do participante:

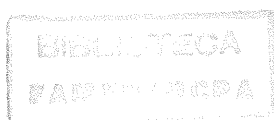
Assinatura:

Data:/...../.....

Nome do médico:

Assinatura:

Data:/...../.....



Anexo 2

ESCALA DE PERFORMANCE CLÍNICA (ECOG- OMS)

<u>STATUS</u>		<u>ESCALAS</u>		<u>STATUS</u>	
KARNOFSKY		ZUBROD-ECOG-WHO			
Normal, sem queixas	100	0	Atividade normal		
Capaz de realizar as atividades normais Sinais e Sintomas leves da doença	90	1	Sintomas, mas quase ambulatorial		
Atividade normal com esforço	80				
Necessita cuidado. Incapaz para atividade normal ou para trabalho ativo	70	2	Algum tempo acamado, mas está na cama menos do que 50% do dia normal.		
Requer ocasional assistência, mas é capaz de cuidar-se para as suas necessidades	60				
Requer considerável assistência e frequente cuidado médico	50	3	Necessita estar na cama mais do que 50% do dia normal.		
Incapacitado. Requer cuidado e assistência especial	40				
Severamente incapacitado. Hospitalização indicada apesar de morte não iminente	30	4	Incapaz de sair da cama		
Muito doente. Hospitalização necessária. Ativo tratamento suportivo necessário	20				
Moribundo	10				
Morte	0				

Anexo 3

COMMON TOXICITY CRITERIA (CTC)

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
BLOOD/BONE MARROW					
Bone marrow cellularity	normal for age	mildly hypocellular or 25% reduction from normal cellularity for age	moderately hypocellular or >25 - ≤ 50% reduction from normal cellularity for age or >2 but <4 weeks to recovery of normal bone marrow cellularity	severely hypocellular or >50 - ≤ 75% reduction in cellularity for age or 4 - 6 weeks to recovery of normal bone marrow cellularity	aplasia or >6 weeks to recovery of normal bone marrow cellularity
Normal ranges: children (≤ 18years)	90% cellularity average				
younger adults (19-59)	60-70% cellularity average				
older adults (≥ 60 years)	50% cellularity average				
Note: Grade Bone marrow cellularity only for changes related to treatment not disease.					
CD4 count	WNL	< LLN - 500/mm ³	200 - < 500/mm ³	50 - < 200/mm ³	< 50/mm ³
Haptoglobin	normal	decreased	-	absent	-
Hemoglobin (Hgb)	WNL	< LLN - 10.0g/dl < LLN-100g/L 6.2 mmol/L	8.0 - < 10.0 g/dl 80 - < 100 g/L 4.9 - < 6.2 mmol/L	6.5 - < 8.0 g/dl 65 - 80 g/L 4.0 - < 4.9 mmol/L	< 6.5 g/dl < 65 g/L < 4.0 mmol/L
Note: The following criteria may be used for leukemia studies or bone marrow infiltrative/myelophthitic process if the protocol so specifies.					
For leukemia studies or bone marrow infiltrative/myelophthitic processes	WNL	10 - <25% decrease from pretreatment	25 - <50% decrease from pretreatment	50 - <75% decrease from pretreatment	≥75% decrease from pretreatment
Hemolysis (e.g., immune hemolytic anemia, drug-related hemolysis, other)	none	only laboratory evidence of hemolysis [e.g., direct antiglobulin test (DAT, Coombs') schistocytes]	evidence of red cell destruction and ≥ 2gm decrease in hemoglobin, no transfusion	requiring transfusion and/or medical intervention (e.g., steroids)	catastrophic consequences of hemolysis (e.g., renal failure, hypotension, bronchospasm, emergency splenectomy)
Also consider Haptoglobin, Hgb.					
Leukocytes (total WBC)	WNL	< LLN - 3.0 x 10 ⁹ /L < LLN - 3000/mm ³	≥2.0 - < 3.0 x 10 ⁹ /L ≥2000 - < 3000/mm ³	≥1.0 - < 2.0 x 10 ⁹ /L ≥1000 - <2000/mm ³	< 1.0 x 10 ⁹ /L < 1000/mm ³
For BMT studies:	WNL	≥2.0 - <3.0 X 10 ⁹ /L ≥2000 - <3000/mm ³	≥1.0 - <2.0 x 10 ⁹ /L ≥1000 - <2000/mm ³	≥0.5 - <1.0 x 10 ⁹ /L ≥500 - <1000/mm ³	<0.5 x 10 ⁹ /L <500/mm ³
Note: The following criteria using age, race and sex normal values may be used for pediatric studies if the protocol so specifies.					
Lymphopenia	WNL	<LLN - 1.0 x 10 ⁹ /L <LLN - 1000/mm ³	≥0.5 - <1.0 x 10 ⁹ /L ≥500 - <1000/mm ³	<0.5 x 10 ⁹ /L <500/mm ³	-
Note: The following criteria using age, race, and sex normal values may be used for pediatric studies if the protocol so specifies.					
Neutrophils/granulocytes (ANC/AGC)	WNL	≥1.5 - <2.0 x 10 ⁹ /L ≥1500 - <2000/mm ³	≥1.0 - <1.5 x 10 ⁹ /L ≥1000 - <1500/mm ³	≥0.5 - <1.0 x 10 ⁹ /L ≥500 - <1000/mm ³	< 0.5 x 10 ⁹ /L < 500/mm ³
For BMT:	WNL	≥1.0 - <1.5 x 10 ⁹ /L ≥1000 - <1500/mm ³	≥0.5 - <1.0 x 10 ⁹ /L ≥500 - <1000/mm ³	≥0.1 - <0.5 x 10 ⁹ /L ≥100 - <500/mm ³	<0.1 x 10 ⁹ /L <100/mm ³
Note: The following criteria may be used for leukemia studies or bone marrow infiltrative/myelophthitic process if the protocol so specifies.					
For leukemia studies or bone marrow infiltrative/myelophthitic process	WNL	10 - <25% decrease from baseline	25 - <50% decrease from baseline	50 - <75% decrease from baseline	≥75% decrease from baseline
Platelets	WNL	< LLN-<75.0x10 ⁹ /L < LLN - 75000/mm ³	≥50.0-<75.0x10 ⁹ /L ≥50000-<75000/mm ³	≥10.0-<50.0x10 ⁹ /L ≥10000-<50000/mm ³	< 10.0 x 10 ⁹ /L < 10000/mm ³

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Platelets	WNL	< LLN-<75.0x10 ⁹ /L < LLN - 75000/mm ³	≥50.0-<75.0x10 ⁹ /L ≥50000-<75000/mm ³	≥10.0-<50.0x10 ⁹ /L ≥10000-<50000/mm ³	< 10.0 x 10 ⁹ /L < 10000/mm ³
For BMT:	WNL	≥50.0 - <75.0 x 10 ⁹ /L ≥50000 - <75000/mm ³	≥20.0-<50.0x10 ⁹ /L ≥20000 - <50000/mm ³	≥10.0-<20.0x10 ⁹ /L ≥10000 - <20000/mm ³	<10.0 x 10 ⁹ /L <10000/mm ³
Note: The following criteria may be used for leukemia studies or bone marrow infiltrative/myelophthitic process if the protocol so specifies.					
For leukemia studies or bone marrow infiltrative/myelophthitic process	WNL	10 - <25% decrease from baseline	25 - <50% decrease from baseline	50 - <75% decrease from baseline	≥75% decrease from baseline
Transfusion: Platelets	none	-	-	yes	platelet transfusions and other measures required to improve platelet increment; platelet transfusion refractoriness associated with life-threatening bleeding. (e.g., HLA or cross matched platelet transfusions)
For BMT:	none	1 platelet transfusion in 24 hours	2 platelet transfusions in 24 hours	≥3 platelet transfusions in 24 hours	platelet transfusions and other measures required to improve platelet increment; platelet transfusion refractoriness associated with life-threatening bleeding. (e.g., HLA or cross matched platelet transfusions)
Also consider Platelets.					
Transfusion: pRBCs	none	-	-	Yes	-
For BMT:	none	≤2 u pRBC (≤15cc/kg) in 24 hours elective or planned	3 u pRBC (>15 ≤30cc/kg) in 24 hours elective or planned	≥4 u pRBC (>30cc/kg) in 24 hours	hemorrhage or hemolysis associated with life-threatening anemia; medical intervention required to improve hemoglobin
Also consider Hemoglobin.					
Blood/Bone Marrow-Other(Specify)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
COAGULATION					
Note: See the HEMORRHAGE category for grading the severity of bleeding events.					
DIC (disseminated intravascular coagulation)	absent	-	-	laboratory findings present with <u>no</u> bleeding	laboratory findings <u>and</u> bleeding
Also grade Platelets.					
Note: Must have increased fibrin split products or D-dimer in order to grade as DIC.					
Fibrinogen	WNL	≥0.75 - <1.0 x LLN	≥0.5 - <0.75 x LLN	≥0.25 - <0.5 x LLN	<0.25 x LLN
Note: The following criteria may be used for leukemia studies or bone marrow infiltrative/myelophthitic process if the protocol so specifies.					
For leukemia studies:	WNL	<20% decrease from pretreatment value or LLN	≥20 - <40% decrease from pretreatment value or LLN	≥40 - <70% decrease from pretreatment value or LLN	<50 mg%
Partial thromboplastin time (PTT)	WNL	> ULN - ≤ 1.5 x ULN	> 1.5 - ≤ 2 x ULN	>2 x ULN	-
Phelbitis is graded in the CARDIOVASCULAR (GENERAL) category.					
Prothrombin time (PT)	WNL	> ULN - ≤ 1.5 x ULN	> 1.5 - ≤ 2 x ULN	>2 x ULN	-
Thrombosis/embolism is graded in the CARDIOVASCULAR (GENERAL) category.					

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Thrombotic microangiopathy (e.g., thrombotic thrombocytopenic purpura/TTP or hemolytic uremic syndrome/HUS)	absent	-	-	laboratory findings present without clinical consequences	laboratory findings and clinical consequences, (e.g., CNS hemorrhage/bleeding or thrombosis/embolism or renal failure) requiring therapeutic intervention
For BMT:	-	evidence of RBC destruction (schistocytosis) without clinical consequences	evidence of RBC destruction with elevated creatinine (≤ 3 x ULN)	evidence of RBC destruction with creatinine (>3 x ULN) not requiring dialysis	evidence of RBC destruction with renal failure requiring dialysis and/or encephalopathy
Also consider Hemoglobin (Hgb), Platelets, Creatinine. Note: Must have microangiopathic changes on blood smear (e.g., schistocytes, helmet cells, red cell fragments).					
Coagulation-Other(Specify)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
CONSTITUTIONAL SYMPTOMS					
Fatigue (lethargy, malaise, asthenia)	none	increased fatigue over baseline, but not altering normal activities	moderate (e.g., decrease in performance status by 1 ECOG level or 20% Karnofsky or Lansky) or causing difficulty performing some activities	severe (e.g., decrease in performance status by ≥ 2 ECOG levels or 40% Karnofsky or Lansky) or loss of ability to perform some activities	bedridden or disabling
Note: See Appendix III for performance status scales.					
Fever (in the absence of neutropenia, where neutropenia is defined as AGC $< 1.0 \times 10^9/L$)	none	38.0 - 39.0°C (100.4 - 102.2°F)	39.1 - 40.0°C (102.3 - 104.0°F)	$> 40.0^\circ\text{C}$ ($>104.0^\circ\text{F}$) for < 24 hrs	$> 40.0^\circ\text{C}$ ($>104.0^\circ\text{F}$) for > 24 hrs
Also consider Allergic reaction/hypersensitivity. Note: The temperature measurements listed above are oral or tympanic.					
Hot flashes/flushes are graded in the ENDOCRINE category.					
Rigors, chills	none	mild, requiring symptomatic treatment (e.g., blanket) or non-narcotic medication	severe and/or prolonged, requiring narcotic medication	not responsive to narcotic medication	-
Sweating (diaphoresis)	normal	mild and occasional	frequent or drenching	-	-
Weight gain	$< 5\%$	5 - $<10\%$	10 - $<20\%$	$\geq 20\%$	-
Also consider Ascites, Edema, Pleural effusion.					
Weight gain - veno-occlusive disease (VOD)	Note: The following criteria is to be used ONLY for weight gain associated with Venous Occlusive Disease.				
	$<2\%$	≥ 2 - $<5\%$	≥ 5 - $<10\%$	$\geq 10\%$ or as ascities	$\geq 10\%$ or fluid retention resulting in pulmonary failure
Weight loss	$< 5\%$	5 - $<10\%$	10 - $<20\%$	$\geq 20\%$	-
Also consider Vomiting, Dehydration, Diarrhea.					
Constitutional Symptoms-Other(Specify)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
DERMATOLOGY/SKIN					
Alopecia	normal	mild hair loss	pronounced hair loss	-	-
Bruising (in absence of grade 3 or 4 thrombocytopenia)	none	localized or in dependent area	generalized	-	-
Note: Bruising resulting from grade 3 or 4 thrombocytopenia is graded as Petechiae/purpura and Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia in the HEMORRHAGE category, not in the DERMATOLOGY/SKIN category.					

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Dermatitis, focal (associated with high-dose chemotherapy and bone marrow transplant)	none	faint erythema or dry desquamation	moderate to brisk erythema or a patchy moist desquamation, mostly confined to skin folds and creases; moderate edema	confluent moist desquamation, ≥ 1.5 cm diameter, not confined to skin folds; pitting edema	skin necrosis or ulceration of full thickness dermis; may include spontaneous bleeding not induced by minor trauma or abrasion
Dry skin	normal	controlled with emollients	not controlled with emollients	-	-
Erythema multiforme (e.g., Stevens-Johnson syndrome, toxic epidermal necrolysis)	absent	-	scattered, but not generalized eruption	severe or requiring IV fluids (e.g., generalized rash or painful stomatitis)	life-threatening (e.g., exfoliative or ulcerating dermatitis or requiring enteral or parenteral nutritional support)
Flushing	absent	present	-	-	-
Hand-foot skin reaction	none	skin changes or dermatitis without pain (e.g., erythema, peeling)	skin changes with pain, not interfering with function	skin changes with pain, interfering with function	-
Injection site reaction	none	pain or itching or erythema	pain or swelling, with inflammation or phlebitis	ulceration or necrosis that is severe or prolonged, or requiring surgery	-
Nail changes	normal	discoloration or ridging (koilonychia) or pitting	partial or complete loss of nail(s) or pain in nailbeds	-	-
Petechiae is graded in the HEMORRHAGE category.					
Photosensitivity	none	painless erythema	painful erythema	erythema with desquamation	-
Pigmentation changes (e.g., vitiligo)	none	localized pigmentation changes	generalized pigmentation changes	-	-
Pruritus	none	mild or localized, relieved spontaneously or by local measures	intense or widespread, relieved spontaneously or by systemic measures	intense or widespread and poorly controlled despite treatment	-
Purpura is graded in the HEMORRHAGE category.					
Radiation dermatitis	none	faint erythema or dry desquamation	moderate to brisk erythema or a patchy moist desquamation, mostly confined to skin folds and creases; moderate edema	confluent moist desquamation, ≥ 1.5 cm diameter, not confined to skin folds; pitting edema	skin necrosis or ulceration of full thickness dermis; may include bleeding not induced by minor trauma or abrasion
Note: Pain associated with radiation dermatitis is graded separately in the PAIN category as Pain due to radiation.					
Radiation recall reaction (reaction following chemotherapy in the absence of additional radiation therapy that occurs in a previous radiation port)	none	faint erythema or dry desquamation	moderate to brisk erythema or a patchy moist desquamation, mostly confined to skin folds and creases; moderate edema	confluent moist desquamation, ≥ 1.5 cm diameter, not confined to skin folds; pitting edema	skin necrosis or ulceration of full thickness dermis; may include bleeding not induced by minor trauma or abrasion

Grade					
Toxicity	0	1	2	3	4
Rash/desquamation	none	macular or papular eruption or erythema without associated symptoms	macular or papular eruption or erythema with pruritus or other associated symptoms covering <50% of body surface or localized desquamation or other lesions covering <50% of body surface area	symptomatic generalized erythroderma or macular, papular or vesicular eruption or desquamation covering ≥50% of body surface area	generalized exfoliative dermatitis or ulcerative dermatitis
For BMT:	none	macular or papular eruption or erythema covering <25% of body surface area without associated symptoms	macular or papular eruption or erythema with pruritus or other associated symptoms covering ≥25 - <50% of body surface or localized desquamation or other lesions covering ≥25 - <50% of body surface area	symptomatic generalized erythroderma or symptomatic macular, papular or vesicular eruption, with bullous formation, or desquamation covering ≥50% of body surface area	generalized exfoliative dermatitis or ulcerative dermatitis or bullous formation
Also consider Allergic reaction/hypersensitivity. Note: Erythema multiforme (Stevens-Johnson syndrome) is graded separately as Erythema multiforme.					
Urticaria (hives, welts, wheals)	none	requiring no medication	requiring PO or topical treatment or IV medication or steroids for <24 hours	requiring IV medication or steroids for ≥24 hours	-
Wound- infectious	none	cellulitis	superficial infection	infection requiring IV antibiotics	necrotizing fasciitis
Wound- non-infectious	none	incisional separation	incisional hernia	fascial disruption without evisceration	fascial disruption with evisceration
Dermatology/Skin-Other(Specify)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
GASTROINTESTINAL					
Amylase is graded in the METABOLIC/LABORATORY category.					
Anorexia	none	loss of appetite	oral intake significantly decreased	requiring IV fluids	requiring feeding tube or parenteral nutrition
Ascites (non-malignant)	none	asymptomatic	symptomatic, requiring diuretics	symptomatic, requiring therapeutic paracentesis	life-threatening physiologic consequences
Colitis	none	-	abdominal pain with mucus and/or blood in stool	abdominal pain, fever, change in bowel habits with ileus or peritoneal signs, and radiographic or biopsy documentation	perforation or requiring surgery or toxic megacolon
Also consider Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia, Hemorrhage/bleeding without grade 3 or 4 thrombocytopenia, Melena/GI bleeding, Rectal bleeding/hematochezia, Hypotension.					
Constipation	none	requiring stool softener or dietary modification	requiring laxatives	obstipation requiring manual evacuation or enema	obstruction or toxic megacolon
Dehydration	none	dry mucous membranes and/or diminished skin turgor	requiring IV fluid replacement (brief)	requiring IV fluid replacement (sustained)	physiologic consequences requiring intensive care; hemodynamic collapse
Also consider Hypotension, Diarrhea, Vomiting, Stomatitis/pharyngitis (oral/pharyngeal mucositis).					

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Patients with a colostomy:	none	mild increase in loose, watery colostomy output compared with pretreatment	moderate increase in loose, watery colostomy output compared with pretreatment, but not interfering with normal activity	severe increase in loose, watery colostomy output compared with pretreatment, interfering with normal activity	physiologic consequences, requiring intensive care; or hemodynamic collapse
For BMT	none	>500 - ≤1000ml of diarrhea/day	>1000 - ≤1500ml of diarrhea/day	>1500ml of diarrhea/day	severe abdominal pain with or without ileus
For Pediatric BMT:		>5 - ≤10 ml/kg of diarrhea/day	>10 - ≤15 ml/kg of diarrhea/day	>15 ml/kg of diarrhea/day	-
Also consider Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia, Hemorrhage/bleeding without grade 3 or 4 thrombocytopenia, Pain, Dehydration, Hypotension.					
Duodenal ulcer (requires radiographic or endoscopic documentation)	none	-	requiring medical management or non-surgical treatment	uncontrolled by outpatient medical management; requiring hospitalization	perforation or bleeding, requiring emergency surgery
Dyspepsia/heartburn	none	mild	moderate	severe	-
Dysphagia, esophagitis, odynophagia (painful swallowing)	none	mild dysphagia, but can eat regular diet	dysphagia, requiring predominantly pureed, soft, or liquid diet	dysphagia, requiring IV hydration	complete obstruction (cannot swallow saliva) requiring enteral or parenteral nutritional support, or perforation
Note: If toxicity is radiation-related, grade <u>either</u> under Dysphagia- esophageal related to radiation or <u>or</u> Dysphagia- pharyngeal related to radiation.					
Dysphagia- esophageal related to radiation	none	mild dysphagia, but can eat regular diet	dysphagia, requiring predominantly liquid, pureed or soft diet	dysphagia requiring feeding tube, IV hydration or hyperalimentation	complete obstruction (cannot swallow saliva); ulceration with bleeding not induced by minor trauma or abrasion or perforation
Also consider Pain due to radiation, Mucositis due to radiation. Note: Fistula is graded separately as Fistula- esophageal.					
Dysphagia - pharyngeal related to radiation	none	mild dysphagia, but can eat regular diet	dysphagia, requiring predominantly pureed, soft, or liquid diet	dysphagia, requiring feeding tube, IV hydration or hyperalimentation	complete obstruction (cannot swallow saliva); ulceration with bleeding not induced by minor trauma or abrasion or perforation
Also consider Pain due to radiation, Mucositis due to radiation. Note: Fistula is graded separately as Fistula- pharyngeal.					
Fistula- esophageal	none	-	-	present	requiring surgery
Fistula- intestinal	none	-	-	present	requiring surgery
Fistula- pharyngeal	none	-	-	present	requiring surgery
Fistula- rectal/anal	none	-	-	present	requiring surgery
Flatulence	none	mild	moderate	-	-
Gastric ulcer (requires radiographic or endoscopic documentation)	none	-	requiring medical management or non-surgical treatment	bleeding without perforation, uncontrolled by outpatient medical management; requiring hospitalization or surgery	perforation or bleeding, requiring emergency surgery
Also consider Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia, Hemorrhage/bleeding without grade 3 or 4 thrombocytopenia.					
Gastritis	none	-	requiring medical management or non-surgical treatment	uncontrolled by outpatient medical management; requiring hospitalization or surgery	life-threatening bleeding, requiring emergency surgery
Also consider Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia, Hemorrhage/bleeding without grade 3 or 4 thrombocytopenia.					

Grade					
Toxicity	0	1	2	3	4
Gastritis	none	-	requiring medical management or non-surgical treatment	uncontrolled by out-patient medical management; requiring hospitalization or surgery	life-threatening bleeding, requiring emergency surgery
Also consider Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia, Hemorrhage/bleeding without grade 3 or 4 thrombocytopenia.					
Hematemesis is graded in the HEMORRHAGE category.					
Hematochezia is graded in the HEMORRHAGE category as Rectal bleeding/hematochezia.					
Ileus (or neuroconstipation)	none	-	intermittent, not requiring intervention	requiring non-surgical intervention	requiring surgery
Mouth dryness	normal	mild	moderate	-	-
Mucositis Note: Mucositis <u>not due to radiation</u> is graded in the GASTROINTESTINAL category for specific sites: Colitis, Esophagitis, Gastritis, Stomatitis/pharyngitis (oral/pharyngeal mucositis), and Typhlitis; or the RENAL/GENITOURINARY category for Vaginitis. Radiation-related mucositis is graded as Mucositis due to radiation.					
Mucositis due to radiation	none	erythema of the mucosa	patchy pseudomembranous reaction (patches generally ≤ 1.5 cm in diameter and non-contiguous)	confluent pseudomembranous reaction (contiguous patches generally > 1.5 cm in diameter)	necrosis or deep ulceration; may include bleeding not induced by minor trauma or abrasion
Also consider Pain due to radiation. Note: Grade radiation mucositis of the larynx here. Dysphagia related to radiation is also graded as <u>either</u> Dysphagia- esophageal related to radiation <u>or</u> Dysphagia- pharyngeal related to radiation, depending on the site of treatment.					
Nausea	none	able to eat	oral intake significantly decreased	no significant intake, requiring IV fluids	-
Pancreatitis	none	-	-	abdominal pain with pancreatic enzyme elevation	complicated by shock (acute circulatory failure)
Also consider Hypotension. Note: Asymptomatic amylase and Amylase are graded in the METABOLIC/LABORATORY category.					
Pharyngitis is graded in the GASTROINTESTINAL category as Stomatitis/pharyngitis (oral/pharyngeal mucositis).					
Proctitis	none	increased stool frequency, occasional blood-streaked stools, or rectal discomfort (including hemorrhoids), not requiring medication	increased stool frequency, bleeding, mucus discharge, or rectal discomfort requiring medication; anal fissure	increased stool frequency/diarrhea, requiring parenteral support; rectal bleeding, requiring transfusion; or persistent mucus discharge, necessitating pads	perforation, bleeding or necrosis or other life-threatening complication requiring surgical intervention (e.g., colostomy)
Also consider Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia, Hemorrhage/bleeding without grade 3 or 4 thrombocytopenia, and Pain due to radiation. Note: Fistula is graded separately as Fistula- rectal/anal. Proctitis occurring more than 90 days after the start of radiation therapy is graded in the RTOG/EORTC Late Radiation Morbidity Scoring Scheme. (See Appendix IV)					
Salivary gland changes	none	slightly thickened saliva/may have slightly altered taste (e.g., metallic); additional fluids may be required	thick, ropy, sticky saliva; markedly altered taste; alteration in diet required	-	acute salivary gland necrosis
Sense of smell	normal	slightly altered	markedly altered	-	-
Stomatitis/pharyngitis (oral/pharyngeal mucositis)	none	painless ulcers, erythema, or mild soreness in the absence of lesions	painful erythema, edema, or ulcers, but can eat or swallow	painful erythema, edema, or ulcers requiring IV hydration	severe ulceration or requires parenteral or enteral nutritional support or prophylactic intubation
For BMT:	none	painless ulcers, erythema, or mild soreness in the absence of lesions	painful erythema, edema or ulcers but can swallow	painful erythema, edema, or ulcers preventing swallowing or requiring hydration or parenteral (or enteral) nutritional support	severe ulceration requiring prophylactic intubation or resulting in documented aspiration pneumonia
Note: Radiation-related mucositis is graded as Mucositis due to radiation.					

Grade					
Toxicity	0	1	2	3	4
Taste disturbance (dysgeusia)	normal	slightly altered	markedly altered	-	-
Typhlitis (inflammation of the cecum)	none	-	-	abdominal pain, diarrhea, fever, or radiographic documentation	perforation, bleeding or necrosis or other life-threatening complication requiring surgical intervention (e.g., colostomy)
Also consider Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia, Hemorrhage/bleeding without grade 3 or 4 thrombocytopenia, Hypotension, Febrile/neutropenia.					
Vomiting	none	1 episode in 24 hours over pretreatment	2-5 episodes in 24 hours over pretreatment	≥6 episodes in 24 hours over pretreatment; or need for IV fluids	Requiring parenteral nutrition; or physiologic consequences requiring intensive care; hemodynamic collapse
Also consider Dehydration.					
Weight gain is graded in the CONSTITUTIONAL SYMPTOMS category.					
Weight loss is graded in the CONSTITUTIONAL SYMPTOMS category.					
Gastrointestinal- Other (Specify)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
HEMORRHAGE					
<p>Note: Transfusion in this section refers to pRBC infusion.</p> <p>For <u>any</u> bleeding with grade 3 or 4 platelets (< 50,000), <u>always</u> grade Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia. Also consider platelets, transfusion- pRBCs, and transfusion-platelets in addition to the grade that incorporates the site or type of bleeding.</p> <p>If the site or type of hemorrhage/bleeding is listed, also use the grading that incorporates the site of bleeding: CNS hemorrhage/bleeding, Hematuria, Hematemesis, Hemoptysis, Hemorrhage/bleeding with surgery, Melena/lower GI bleeding, Petechiae/purpura (Hemorrhage/bleeding into skin), Rectal bleeding/hematochezia, Vaginal bleeding.</p> <p>If the platelet count is ≥50,000 and the site or type of bleeding is listed, grade the specific site. If the site or type is <u>not</u> listed and the platelet count is ≥50,000, grade Hemorrhage/bleeding without grade 3 or 4 thrombocytopenia and specify the site or type in the OTHER category.</p>					
Hemorrhage/bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia	none	mild without transfusion		requiring transfusion	catastrophic bleeding, requiring major non-elective intervention
Also consider Platelets, Hemoglobin, Transfusion-platelet, Transfusion-pRBCs.					
Note: This toxicity must be graded for any bleeding with grade 3 or 4 thrombocytopenia. Also grade the site or type of hemorrhage/bleeding. If the site is not listed, grade as Other in the HEMORRHAGE category.					
Hemorrhage/bleeding without grade 3 or 4 thrombocytopenia	none	mild without transfusion		requiring transfusion	catastrophic bleeding requiring major non-elective intervention
Also consider Platelets, Hemoglobin, Transfusion-platelet, Transfusion-pRBCs.					
Note: Bleeding in the absence of grade 3 or 4 thrombocytopenia is graded here only if the specific site or type of bleeding is not listed elsewhere in the HEMORRHAGE category. Also grade as Other in the HEMORRHAGE category.					
CNS hemorrhage/bleeding	none	-	-	bleeding noted on CT or other scan with no clinical consequences	hemorrhagic stroke or hemorrhagic vascular event (CVA) with neurologic signs and symptoms
Epistaxis	none	mild without transfusion	-	requiring transfusion	catastrophic bleeding, requiring major non-elective intervention
Hematemesis	none	mild without transfusion	-	requiring transfusion	catastrophic bleeding, requiring major non-elective intervention

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Note: Expected blood loss at the time of surgery is not graded as a toxicity.					
Melena/GI bleeding	none	mild without transfusion	-	requiring transfusion	catastrophic bleeding, requiring major non-elective intervention
Petechiae/purpura (hemorrhage/bleeding into skin or mucosa)	none	rare petechiae of skin	petechiae or purpura in dependent areas of skin	generalized petechiae or purpura of skin or petechiae of any mucosal site	-
Rectal bleeding/hematochezia	none	mild without transfusion or medication	persistent, requiring medication (e.g., steroid suppositories) and/or break from radiation treatment	requiring transfusion	catastrophic bleeding, requiring major non-elective intervention
Vaginal bleeding	none	spotting, requiring < 2 pads per day	requiring ≥ 2 pads per day, but not requiring transfusion	requiring transfusion	catastrophic bleeding, requiring major non-elective intervention
Hemorrhage-Other (Specify site, _____)	none	mild without transfusion	-	requiring transfusion	catastrophic bleeding, requiring major non-elective intervention
HEPATIC					
Alkaline phosphatase	WNL	> ULN - 2.5 x ULN	> 2.5 - 5.0 x ULN	> 5.0 - 20.0 x ULN	> 20.0 x ULN
Bilirubin	WNL	> ULN - 1.5xULN	> 1.5 - 3.0 x ULN	> 3.0 - 10.0 x ULN	> 10.0 x ULN
Bilirubin- graft versus host disease (GVHD) Note: The following criteria are used only for bilirubin associated with graft versus host disease.					
	normal	≥2 - <3 mg/100 ml	≥3 - <6 mg/100 ml	≥6 - <15 mg/100 ml	≥15 mg/100 ml
GGT (γ - Glutamyl transpeptidase)	WNL	> ULN - 2.5 x ULN	> 2.5 - 5.0 x ULN	> 5.0 - 20.0 x ULN	> 20.0 x ULN
Hepatic enlargement	absent	-	-	present	-
Note: Grade Hepatic enlargement only for changes related to VOD or other treatment related toxicity.					
Hypoalbuminemia	WNL	<LLN - 3 g/dl	≥2 - <3 g/dl	<2 g/dl	-
Liver dysfunction/failure (clinical)	normal	-	-	asterixis	encephalopathy or coma
Note: Documented viral hepatitis is graded in the INFECTION category.					
Portal vein flow	normal	-	decreased portal vein flow	reversal/retrograde portal vein flow	-
SGOT (AST) (serum glutamic oxaloacetic transaminase)	WNL	> ULN - 2.5 x ULN	> 2.5 - 5.0 x ULN	> 5.0 - 20.0 x ULN	> 20.0 x ULN
SGPT (ALT) (serum glutamic pyruvic transaminase)	WNL	> ULN - 2.5 x ULN	> 2.5 - 5.0 x ULN	> 5.0 - 20.0 x ULN	> 20.0 x ULN
Hepatic-Other (Specify, _____)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
INFECTION/FEBRILE NEUTROPENIA					
Catheter-related infection	none	mild, no active treatment	moderate, localized infection, requiring local or oral treatment	severe, systemic infection, requiring IV antibiotic or antifungal treatment or hospitalization	life-threatening sepsis (e.g., septic shock)

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Febrile neutropenia (fever of unknown origin without clinically or microbiologically documented infection) (ANC < 1.0 x 10 ⁹ /L, fever ≥38.5°C) Note: Hypothermia instead of fever may be associated with neutropenia and is graded here.	none	-	-	Present	Life-threatening sepsis (e.g., septic shock)
Infection (documented clinically or microbiologically) with grade 3 or 4 neutropenia (ANC < 1.0 x 10 ⁹ /L) Note: Hypothermia instead of fever may be associated with neutropenia and is graded here. In the absence of documented infection with grade 3 or 4 neutropenia, grade as Febrile neutropenia.	none	-	-	present	life-threatening sepsis (e.g., septic shock)
Infection with unknown ANC Note: This toxicity criterion is used in the rare case when ANC is unknown.	none	-	-	present	life-threatening sepsis (e.g., septic shock)
Infection without neutropenia	none	mild, no active treatment	moderate, localized infection, requiring local or oral treatment	severe, systemic infection, requiring IV antibiotic or antifungal treatment, or hospitalization	life-threatening sepsis (e.g., septic shock)
Infection/Febrile Neutropenia-Other (Specify, _____)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
Wound-infectious is graded in the DERMATOLOGY/SKIN category.					
LYMPHATICS					
Lymphatics	normal	mild lymphedema	moderate lymphedema requiring compression; lymphocyst	severe lymphedema limiting function; lymphocyst requiring surgery	severe lymphedema limiting function with ulceration
Lymphatics-Other (Specify, _____)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
METABOLIC/LABORATORY					
Acidosis (metabolic or respiratory)	normal	pH < normal, but ≥7.3	-	pH < 7.3	pH < 7.3 with life-threatening physiologic consequences
Alkalosis (metabolic or respiratory)	normal	pH > normal, but ≤7.5	-	pH > 7.5	pH > 7.5 with life-threatening physiologic consequences
Amylase	WNL	> ULN - 1.5 x ULN	> 1.5 - 2.0 x ULN	> 2.0 - 5.0 x ULN	>5.0 x ULN
Bicarbonate	WNL	< LLN - 16 mEq/dl	11 - 15 mEq/dl	8 - 10 mEq/dl	< 8 mEq/dl
CPK(creatine phosphokinase)	WNL	> ULN - 2.5 x ULN	> 2.5 - 5 x ULN	> 5 - 10 x ULN	> 10 x ULN
Hypercalcemia	WNL	> ULN - 11.5 mg/dl > ULN - 2.9 mmol/L	>11.5 - 12.5 mg/dl > 2.9 - 3.1 mmol/L	>12.5 - 13.5 mg/dl > 3.1 - 3.4 mmol/L	> 13.5 mg/dl > 3.4 mmol/L
Hypercholesterolemia	WNL	> ULN - 300 mg/dl > ULN-7.75mmol/L	> 300 - 400 mg/dl > 7.75-10.34mmol/L	> 400 - 500 mg/dl >10.34 - 12.92 mmol/L	> 500 mg/dl > 12.92 mmol/L
Hyperglycemia	WNL	> ULN - 160 mg/dl > ULN - 8.9 mmol/L	> 160 - 250 mg/dl > 8.9 - 13.9 mmol/L	> 250 - 500 mg/dl > 13.9 - 27.8 mmol/L	> 500 mg/dl > 27.8 mmol/L or ketoacidosis
Hyperkalemia	WNL	> ULN - 5.5 mmol/L	> 5.5 - 6.0 mmol/L	> 6.0 - 7.0 mmol/L	> 7.0 mmol/L
Hypermagnesemia	WNL	>ULN - 3.0 mg/dl >ULN - 1.23mmol/L	-	>3.0 - 8.0 mg/dl >1.23 - 3.30 mmol/L	> 8.0 mg/dl > 3.30 mmol/L
Hypernatremia	WNL	>ULN - 150 mmol/L	>150 - 155 mmol/L	>155 - 160 mmol/L	>160 mmol/L
Hypertriglyceridemia	WNL	> ULN - 2.5 x ULN	> 2.5 - 5.0 x ULN	> 5.0 - 10 x ULN	> 10 x ULN

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Hyperuricemia	WNL	> ULN - ≤ 10 mg/dl ≤ 0.59 mmol/L without physiologic consequences	-	> ULN - ≤ 10 mg/dl ≤ 0.59 mmol/L with physiologic consequences	> 10 mg/dl > 0.59 mmol/L
Also consider Tumor lysis syndrome, Renal failure, Creatinine, Potassium.					
Hypocalcemia	WNL	<LLN - 8.0 mg/dl <LLN - 2.0 mmol/L	7.0 - < 8.0 mg/dl 1.75 - < 2.0 mmol/L	6.0 - < 7.0 mg/dl 1.5 - < 1.75 mmol/L	<6.0 mg/dl < 1.5 mmol/L
Hypoglycemia	WNL	<LLN - 55 mg/dl <LLN - 3.0 mmol/L	40 - < 55 mg/dl 2.2 - < 3.0 mmol/L	30 - < 40 mg/dl 1.7 - < 2.2 mmol/L	< 30 mg/dl < 1.7 mmol/L
Hypokalemia	WNL	<LLN - 3.0 mmol/L	-	2.5 - <3.0 mmol/L	<2.5 mmol/L
Hypomagnesemia	WNL	<LLN - 1.2 mg/dl <LLN - 0.5 mmol/L	0.9 - <1.2 mg/dl 0.4 - < 0.5 mmol/L	0.7 - < 0.9 mg/dl 0.3 - < 0.4 mmol/L	< 0.7 mg/dl < 0.3 mmol/L
Hypонатremia	WNL	<LLN - 130 mmol/L	-	120 - <130 mmol/L	<120 mmol/L
Hypophosphatemia	WNL	<LLN -2.5 mg/dl <LLN - 0.8 mmol/L	≥2.0 - <2.5 mg/dl ≥0.6 - <0.8 mmol/L	≥1.0 - <2.0 mg/dl ≥0.3 - <0.6 mmol/L	< 1.0 mg/dl <0.3 mmol/L
Hypothyroidism is graded in the ENDOCRINE category.					
Lipase	WNL	> ULN - 1.5 x ULN	> 1.5 - 2.0 x ULN	> 2.0 - 5.0 x ULN	> 5.0 x ULN
Metabolic/Laboratory-Other (Specify)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
PAIN					
Abdominal pain or cramping	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Arthralgia (joint pain)	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Arthritis (joint pain with clinical signs of inflammation) is graded in the MUSCULOSKELETAL category.					
Bone pain	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Chest pain (non-cardiac and non-pleuritic)	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Dysmenorrhea	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Dyspareunia	none	mild pain not interfering with function	moderate pain interfering with sexual activity	severe pain preventing sexual activity	-
Dysuria is graded in the RENAL/GENITOURINARY category.					
Earache (otalgia)	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Headache	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Hepatic pain	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Myalgia (muscle pain)	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Neuropathic pain (e.g., jaw pain, neurologic pain, phantom limb pain, post-infectious neuralgia, or painful neuropathies)	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Pain due to radiation	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Pelvic pain	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Pleuritic pain	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Rectal or perirectal pain (proctalgia)	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Tumor pain (onset or exacerbation of tumor pain due to treatment)	none	mild pain not interfering with function	moderate pain: pain or analgesics interfering with function, but not interfering with activities of daily living	severe pain: pain or analgesics severely interfering with activities of daily living	disabling
Tumor flair is graded in the SYNDROME category.					
Pain-Other(Specify)	none	mild	moderate	severe	disabling
RENAL/GENITOURINARY					
Bladder spasms	absent	mild symptoms, not requiring intervention	symptoms requiring antispasmodic	severe symptoms requiring narcotic	-
Creatinine	WNL	> ULN - 1.5 x ULN	> 1.5 - 3.0 x ULN	> 3.0 - 6.0 x ULN	> 6.0 x ULN
<i>Note: Adjust to age-appropriate levels for pediatric patients.</i>					
Dysuria (painful urination)	none	mild symptoms requiring no intervention	symptoms relieved with therapy	symptoms not relieved despite therapy	-
Fistula or GU fistula (e.g., vaginal, vesicovaginal)	none	-	-	requiring intervention	requiring surgery
Hemoglobinuria	-	present	-	-	-
Hematuria (in the absence of vaginal bleeding) is graded in the HEMORRHAGE category.					
Incontinence	none	with coughing, sneezing, etc.	spontaneous, some control	no control (in the absence of fistula)	-
Operative injury to bladder and/or ureter	none	-	injury of bladder with primary repair	sepsis, fistula, or obstruction requiring secondary surgery; loss of one kidney; injury requiring anastomosis or re-implantation	septic obstruction of both kidneys or vesicovaginal fistula requiring diversion

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Proteinuria	normal or < 0.15 g/24 hours	1+ or 0.15 - 1.0 g/24 hours	2+ to 3+ or 1.0 - 3.5 g/24 hours	4+ or > 3.5 g/24 hours	nephrotic syndrome
Note: If there is an inconsistency between absolute value and uristix reading, use the absolute value for grading.					
Renal failure	none	-	-	requiring dialysis, but reversible	requiring dialysis and irreversible
Ureteral obstruction	none	unilateral, not requiring surgery	-	bilateral, not requiring surgery	stent, nephrostomy tube, or surgery
Urinary electrolyte wasting (e.g., Fanconi's syndrome, renal tubular acidosis)	none	asymptomatic, not requiring treatment	mild, reversible and manageable with oral replacement	reversible but requiring IV replacement	irreversible, requiring continued replacement
Also consider Acidosis, Bicarbonate, Hypocalcemia, Hypophosphatemia.					
Urinary frequency/urgency	normal	increase in frequency or nocturia up to 2 x normal	increase > 2 x normal but < hourly	hourly or more with urgency, or requiring catheter	-
Urinary retention	normal	hesitancy or dribbling, but no significant residual urine; retention occurring during the immediate postoperative period.	hesitancy requiring medication or occasional in/out catheterization (<4 x per week), or operative bladder atony requiring indwelling catheter beyond immediate postoperative period but for < 6 weeks	requiring frequent in/out catheterization (≥ 4 x per week) or urological intervention (e.g., TURP, suprapubic tube, urethrotomy)	bladder rupture
Urine color change (not related to other dietary or physiologic cause e.g., bilirubin, concentrated urine, hematuria)	normal	asymptomatic, change in urine color	-	-	-
Vaginal bleeding is graded in the HEMORRHAGE category.					
Vaginitis (not due to infection)	none	mild, not requiring treatment	moderate, relieved with treatment	severe, not relieved with treatment, or ulceration not requiring surgery	ulceration requiring surgery
Renal/Genitourinary -Other (Specify, _____)	none	mild	moderate	severe	life-threatening or disabling
SECONDARY MALIGNANCY					
Secondary Malignancy-Other (Specify type, _____) excludes metastatic tumors	none	-	-	-	present

Anexo 4

Aprovações pelos comitês de ética em pesquisa



PARECER Nº 199/97

Processo: 25000.012063/97-17

Projeto de Pesquisa: "Decitabine (5-AZA-2' Deoxycytidine) mais Daunorrubicine como primeira linha de tratamento em pacientes com leucemia mielóide aguda"

Pesquisador responsável: Dr. Mário Sérgio Fernandes

Instituição: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Ao se proceder a análise do projeto acima cabem as seguintes considerações:

a - As informações recebidas atendem às exigências fundamentais da Res. CNS 196/96 sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos.

b --O projeto foi aprovado pelo CEP-PUCRS, instituição onde se realizará o estudo clínico.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, conforme atribuições definidas na Res. CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto proposto, com a seguinte recomendação:

1 - Que no termo de consentimento livre e esclarecido conste o nome, endereço e telefone do pesquisador e emergência do hospital para contatos em caso de necessidade clínica.

Brasília, 15 de outubro de 1997.

WILLIAM SAAD HOSSNE
Coordenador da Comissão
Nacional de Ética em Pesquisa/MS



Ofício nº 001/94-CEPAS

Porto Alegre, 05 de janeiro de 1994.

Prezado Senhor

Venho por meio desta, informar a V.S^a que o Comitê de Ética em Pesquisa na Área da Saúde da PUCRS, apreciou e aprovou o seu Projeto de Pesquisa intitulado:

-DECITABINE (5-AZA-2'-DEOXYCYTIDINE) MAIS DAUNORRUBICINE COMO PRIMEIRA LINHA DE TRATAMENTO EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA.

Sem mais para o momento,

Atenciosamente.

Prof^o Dr. Carlos Cezar Fritscher
Presidente do Comitê

Ilmo. Sr.
Prof^o Dr. Mário Sérgio Fernandes



HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

RESOLUÇÃO

O Coordenador do GPPG, no uso de suas atribuições, analisou, após terem sido feitas as devidas modificações sugeridas quando do reencaminhamento aos autores do projeto:

Número: 96143

Título: "Decitabine (5-AZA-2-deoxycytidine) mais daunorubicin como primeira linha de tratamento em pacientes com leucemia mielóide aguda".

Autores: Gilberto Schwartzmann, Luciane Kalakun, Luiza Maria Gerhardt, Betina Loitezenbauer, Luciane Pons Di Leone.

Que este projeto está em condições de ser aprovado "**Ad referendum**", estando adequado metodológica e eticamente, de acordo com as Normas de Pesquisa em Saúde (resolução 01/88 do Conselho Nacional de Saúde).

Porto Alegre, 19 de agosto de 1996.


/ Prof. Jorge Pinto Ribeiro
Coordenador do GPPG

Anexo 5

Formulários de registros

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM

ON STUDY REGISTRATION

TREATMENT PROTOCOL: DAC+DAUNORUBICINE for AHL PROTOCOL #: 09101	INSTITUTION: PUC	PATIENT ID:
SEX: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	DATE OF BIRTH (m/d/y):	AGE (yrs):
BODY WEIGHT (kg):	HEIGHT (cm):	SURFACE AREA (m ²):
PRIMARY SITE:	STAGE OF DISEASE:	GRADE:
HISTOLOGY:		PS (WHO/ECOG):
DATE OF DX (m/d/y):	DATE ON STUDY (m/d/y):	INSTITUTION PROTOCOL ID:

ELIGIBILITY CHECKLIST	YES	NO	NK
1. Leukemia no longer amenable to established forms of treatment	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Diagnosis confirmed microscopically	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Age: 14 - 70 years	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Performance status: ≤ 2 (WHO)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Life expectancy: ≥ 1 month	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Written informed consent	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. No previous chemo-, immuno- or radio-therapy	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Bilirubin < 25 μmol/L [1.5 mg/dL]	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Other liver function tests < 2 x Upper Normal Limit unless related to liver metastasis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Adequate ECG functions	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. Serum creatinine < 130 μmol/L [1.4 mg/dL]	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. No active lung dysfunction	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13. Not receiving drugs exhibiting liver, kidney, heart and lung toxicity	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14. If female, not pregnant nor breast feeding	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15. No history of alcoholism, drug addiction or psychotic disorders	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16. No evidence of infection (abscess, fistulae)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17. No other non-malignant disease, incompatible with the protocol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18. No clinical signs of brain involvement or leptomeningeal disease	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ELIGIBILITY: Patient fully eligible.
 Cause: patient not formally eligible, but admitted to study
 REASON:

INVESTIGATOR'S SIGNATURE: DATE: .../.../.... (d/m/y)
 PHOTOCOPIES FORM ALTERED:/...../..... (d/m/y)

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM

PHYSICAL / TRANSFUSIONS / HEMATOLOGY FLOW SHEET

SOAD PROTOCOL #: 09101	INSTITUTION: PUC	PATIENT ID:
------------------------	------------------	-------------

COURSE #	NORMAL RANGE	UNITS	[INITIAL] LAB DATES				
			m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y
PHYSICAL EXAM							
*Performance status	0 - 4						
*Weight		cm					
*Temperature		°C					
Pulse		/min					
*Systolic BP		mmHg					
*Diastolic BP		mmHg					
TRANSFUSIONS			/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Whole blood		Units					
Packed RBC		Units					
Platelets		Units					
HEMATOLOGY			/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
* Hemoglobin M F							
* Hematocrit M F							
* WBC		$\times 10^9/L$					
* Neutrophils							
Lymphocytes							
Basophils							
Monocytes							
Eosinophils							
Bands							
* Platelets		$\times 10^9/L$					
ESR		mm/hr					
PT		INR					
PTT		sec					

PLEASE ENTER NORMAL RANGE AND UNITS IF NOT ALREADY ENTERED

* Highlighted items are protocol minimum requirements

Prior to on study, prior to each course, weekly, and the end of the study

INVESTIGATOR'S SIGNATURE: Date:/...../..... (d/m/y)

DATES FORM ALTERED:/...../...../...../...../...../..... (d/m/y)

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM

=====

URINALYSIS FLOW SHEET

SOAD PROTOCOL #:09101

INSTITUTION: PUC

PATIENT ID:

COURSE #:	NORMAL RANGE	UNITS	[INITIAL] LAB VALUES						
			m/ d /y	m/ d /y	m/ d /y	m/ d /y	m/ d /y	m/ d /y	
			/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	
Creatinine clearance		ml/min							
Acidity		pH							
Specific Gravity		ratio							
WBC	0-4								
RBC	0-4								
Glucose	0-4								
Protein	0-4								
Ketones	0-4								
Bile	0-4								
Urinary creatinine									
Volume		ml							
Collection period		hrs							

PLEASE ENTER NORMAL RANGE & UNITS IF NOT ALREADY ENTERED

Do urinalysis prior to on study, prior to each course, weekly and at end of Sudy

INVESTIGATOR'S SIGNATURE: Date:/...../..... (d/m/y)

DATES FORM ALTERED:/...../...../...../...../...../..... (d/m/y)

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM

PHYSICAL / TRANFUSIONS / HEMATOLOGY FLOW SHEET

SOAD PROTOCOL #: 09101	INSTITUTION: PUC	PATIENT ID:
------------------------	------------------	-------------

COURSE #	NORMAL RANGE	UNITS	[INITIAL] L A B D A T E S				
			m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y
PHYSICAL EXAM							
*Performance status	0 - 4						
*Weight		cm					
*Temperature		°C					
Pulse		/min					
*Systolic BP		mmHg					
*Diastolic BP		mmHg					
TRANSFUSIONS			/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Whole blood		Units					
Packed RBC		Units					
Platelets		Units					
HEMATOLOGY			/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
* Hemoglobin M F							
* Hematocrit M F							
* WBC		x10 ⁹ /L					
* Neutrophils							
Lymphocytes							
Basophils							
Monocytes							
Eosinophils							
Bands							
* Platelets		x10 ⁹ /L					
ESR		mm/hr					
PT		INR					
PTT		sec					

PLEASE ENTER NORMAL RANGE AND UNITS IF NOT ALREADY ENTERED

* Highlighted items are protocol minimum requirements

Prior to on study, prior to each course, weekly, and the end of the study

INVESTIGATOR'S SIGNATURE:..... Date: (d/m/y)

DATES FORM ALTERED: (d/m/y)

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM
 =====
 URINALYSIS FLOW SHEET

SOAD PROTOCOL #:09101	INSTITUTION: PUC	PATIENT ID:
-----------------------	------------------	-------------

COURSE #:	NORMAL RANGE	UNITS	[INITIAL] L A B V A L U E S					
			m/ d /y	m/ d /y	m/ d /y	m/ d /y	m/ d /y	m/ d /y
			/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Creatinine clearance		ml/min						
Acidity		pH						
Specific Gravity		ratio						
WBC	0-4							
RBC	0-4							
Glucose	0-4							
Protein	0-4							
Ketones	0-4							
Bile	0-4							
Urinary creatinine								
Volume		ml						
Collection period		hrs						

PLEASE ENTER NORMAL RANGE & UNITS IF NOT ALREADY ENTERED

Do urinalysis prior to on study, prior to each course, weekly and
at end of Sudy

INVESTIGATOR'S SIGNATURE: Date:/...../..... (d/m/y)

DATES FORM ALTERED:/...../..... /...../..... /...../..... (d/m/y)

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM

BLOOD CHEMISTRIES FLOW SHEET

SOAD PROTOCOL #: 09101

INSTITUTION: PUC

PATIENT ID:

COURSE #	NORMAL RANGE	UNITS	INITIAL LAB DATES					
			m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y
Ureum								
Creatinine (m) (f)								
Sodium								
Potassium								
Chloride								
Magnesium								
Bicarbonate								
Uric acid (m) (f)								
Bilirubin								
Alkaline Phosphatase								
SGOT / ASAT								
SGPT / ALAT								
SGGT (m) (f)								
LDH								
Total Protein								
Albumen								
Globulin								
Calcium								
Inorganic phosphorous								
Glucose - fasting								
Glucose - non fasting								
Cholesterol								
Amylase								
5-Nucleotidase								

PLEASE ENTER NORMAL UNITS IF NOT ALREADY ENTERED

* Highlighted items are protocol minimal requirements

Tests to be done prior to on study, prior to each course, weekly, at end of study

INVESTIGATOR'S SIGNATURE: Date:/...../..... (d/m/y)

DATES FORM ALTERED: / / / / / / (d/m/y)

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM

=====

BONE MARROW SHEET

SOAD PROTOCOL #:09101

INSTITUTION: PUC

PATIENT ID:

COURSE #	NORMAL RANGE	UNITS	[INITIAL]	L A B			D A T E S	
			m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	m /d/ y	
Myeloblasts		%						
Promyelocytes		%						
Myelocytes:Neutros		%						
Eosinos		%						
Basos		%						
Metamyelocytes		%						
Polymorphs:Neutros		%						
Eosinos		%						
Basos		%						
Lymphocytes		%						
Plasma Cells		%						
Monocytes		%						
Reticulum Cells		%						
Megakaryocytes		%						
Pronormoblasts		%						
Normoblasts		%						
Cellularity		%						
M Rating								

* Highlighted items are protocol minimum requirements for parameters of extent of disease

Prior to on study, prior to each course, and the end of the study

INVESTIGATOR'S SIGNATURE:..... Date:/...../..... (d/m/y)

DATES FORM ALTERED:/...../...../...../...../...../..... (d/m/y)

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM
 =====
 ADDITIONAL INVESTIGATIONS FLOW SHEET

SOAD PROTOCOL #: 09101	INSTITUTION: PUC	PATIENT ID:
------------------------	------------------	-------------

COURSE #:		[INITIAL] INVESTIGATION RESULT **					
		m / d / y	m / d / y	m / d / y	m / d / y	m / d / y	m / d / y
CARDIAC		/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Pre ejection period						
LV ejection time						
LV ejection fraction						
ECG						
Holter monitor						
X-RAYS		/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Chest X-ray						
Arteriogram						
Bronchogram						
Cystogram						
Upper GI series						
Lower GI series						
Myelogram						
Pyelogram						
Skeletal survey						
SCANS		/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Catscan: CRANIUM						
THORAX						
ABDOMEN						
Bone scan						
Other						
EEG						
						

* Protocol required investigations; for frequency see table

. Please enter "NORMAL" or "ABNORMAL" where an actual value is NOT applicable

. Please comment in the "Physician's Notes" (CRF 14) regarding "ABNORMAL" findings

INVESTIGATOR'S SIGNATURE:.....Date:...../...../..... (d/m/y)

DATES FORM ALTERED:/...../...../...../...../...../.....(d/m/y)

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM
 =====
COURSE ASSESSMENT & ADVERSE EVENTS

SOAD PROTOCOL #: 09101 DAC + Dauno for AML	INSTITUTION: PUC	PATIENT ID:
---	------------------	-------------

START DATE of COURSE mo / DAY / year / /	RESPONSE ASSESSMENT [] complete [] partial [] MR / IMP [] stable [] progression [] not evaluable, because:	RESPONSE: [] yes [] no DATE (if yes):	PROGRESSION? [] yes [] no DATE (if yes)
---	---	--	--

COURSE #:	Drug administration per protocol? [] yes [] no	Evaluable course? [] yes [] no	Follow-up per protocol? [] yes [] no
-----------	---	-------------------------------------	---

TOXICITY? If none MARK box → <input type="checkbox"/> or LIST BELOW ↓	USE THESE CODES → TO DESCRIBE TEST DRUG RELATIONSHIP TO EVENT & OUTCOME	RELATIONSHIP 1= unrelated 2= unlikely 3= possible 4= probable 5= definite	ACTION REQUIRED 1= none 2= dose reduced 3= regimen interrupted 4= vigorous supportive	THERAPY REQUIRED 1=none 2=symptomatic 3=supportive 4=died	OUTCOME RECHALLENGE 1=recovered1= not reintroduced 2=still on treatment2= reintroduced, NO recurrence 3=alive with sequelae3= reintroduced, WITH recurrence
---	--	--	---	---	--

ADVERSE EVENT TYPE*	C.T.C. GRADE**	SEVERITY ***	ONSET DATE MO/day/year	RESOLVED MO/day/year	APEX nadir	RELATION 1 - 5	ACTION 1 - 4	THERAPY 1 - 4	OUTCOME 1 - 4	RECHALLENGE 1 - 3
			/ /	/ /						
			/ /	/ /						
			/ /	/ /						
			/ /	/ /						
			/ /	/ /						
			/ /	/ /						
			/ /	/ /						

* If more toxicities are to be reported, use additional sheets
 ** USE "9" for PREEEXISTING SYMPTOMS, worsening at least one grade while on study
 ***1 = mild 2 = moderate 3 = severe 4 = life threatening (use these grades where no Common Toxicity Criteria grading exists)

INVESTIGATOR'S SIGNATURE: _____ DATE: ____/____/____

DATES FORM ALTERED:/...../...../...../...../...../..... (d/m/y)

NCI / EORTC / SOAD CASE REPORT FORM

OFF STUDY SUMMARY

SOAD PROTOCOL #: 09101 DAC + Dauno for AHL	INSTITUTION: PUC	PATIENT ID:
Date OFF study / / (mo/dy/yr)	Best Response to treatment:	
REASON:	Complete Response [] CR Partial Response [] PR Marginal Response [] MR Stable Disease [] SD Progression [] PD New Lesion [] NL Not Evaluable [] NE mo / dy / yr	
Study Completed [] C Lost to Follow-up [] L Refused further Treatment [] R Toxicity [] T Disease Progression [] P Protocol Violation [] V Death [] D Other: _____ [] O	Date Onset of Response: ___/___/___ Date of Relapse: ___/___/___ Date of Progression: ___/___/___	
SURVIVAL MO / dy / yr	AUTOPSY: YES [] NO [] Unknown []	
Alive [] Date of last contact: ___/___/___ Dead [] Date of death: ___/___/___	Cause of death at Autopsy:	
CAUSE OF DEATH:	Malignant Disease [] M Toxicity from Treatment [] T Infection: [] I Other: _____ [] O	
Malignant Disease [] M Toxicity from Treatment [] T Infection: [] I Other: _____ [] O	Sites of Disease at Autopsy:	
INVESTIGATOR'S SIGNATURE:	1. _____ 2. _____ 3. _____ 4. _____ 5. _____ 6. _____ 7. _____ 8. _____ 9. _____	
DATE:		

NCI / EORTC / SOAD CASE RECORD FORM

=====

PHYSICIAN NOTES

SOAD PROTOCOL #: 09101		INSTITUTION: PUC		COURSE #:	PATIENT ID:
DATE OF NOTE mo / dy / yr		TYPE of NOTE*	NOTE		
1	/ /				
2	/ /				
3	/ /				
4	/ /				
5	/ /				
6	/ /				
7	/ /				
8	/ /				

* TYPE codes: USE these codes to link notes to relevant form:

TX = toxicity / adverse event XT = extent of disease HP = history / physical Blank = others

INVESTIGATOR'S SIGNATURE: Date:/...../..... (d/m/y)

DATES FORM ALTERED:/...../..... /...../..... /...../..... (d/m/y)