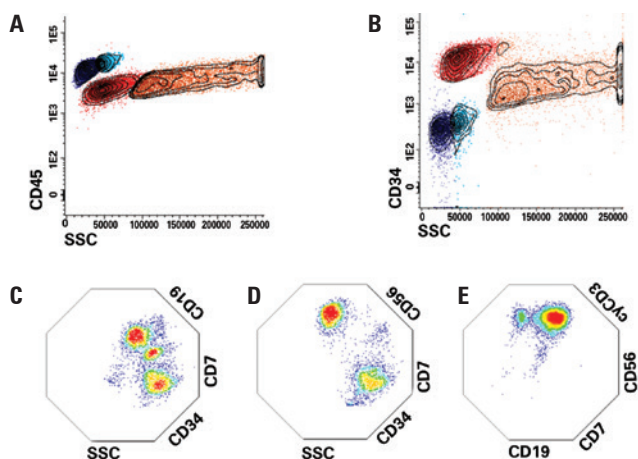


# Evolução imunofenotípica de populações de blastos na leucemia mieloide aguda pediátrica

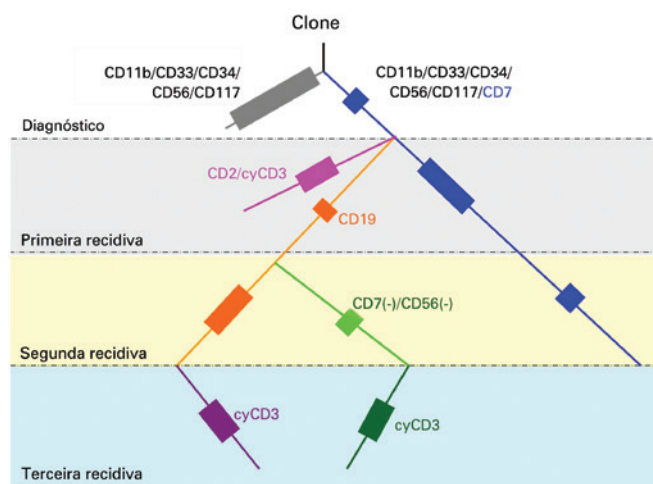
Immunophenotypic evolution of blast populations in pediatric acute myeloid leukemia

Welbert Oliveira Pereira<sup>1</sup>, Rodolfo Patussi Correia<sup>1</sup>, Nelson Hamerschlak<sup>1</sup>,  
Nydia Strachman Bacal<sup>1</sup>, Paulo Vidal Campregher<sup>1</sup>



**Figura 1.** Imunofenótipo de citometria de fluxo multiparamétrica, revelando a diversidade de subpopulação de blastos em leucemia mieloide aguda. (A e B) Células blastos foram separadas, de acordo com a baixa expressão de CD45 e a alta expressão de CD34 (população vermelha). Os linfócitos (população azul), monócitos (população aqua) e granulócitos (população laranja) também foram separados. (C) Citometria de fluxo multiparamétrica mostrou presença de três diferentes subpopulações de blastos CD-7 positivo na primeira recidiva: um CD19-negativo e dois CD19-positivos distintos. (D) Detecção de duas subpopulações de blastos na segunda recidiva: CD7+/CD56+ e CD7-/CD56-. (E) Citometria de fluxo multiparamétrica mostrando presença somente de blastos CD19+/CD7+/CD56+/CD3+. A análise foi realizada utilizando o *software* Infinicyt (Cytognos, Salamanca, Espanha)

A leucemia mieloide aguda (LMA) origina-se a partir do acúmulo de blastos anormais na medula óssea, interferindo na hematopoiese.<sup>(1)</sup> A citometria de fluxo multiparamétrica é uma ferramenta importante e muito conhecida para o diagnóstico de LMA e para o monitoramento de doenças residuais mínimas.<sup>(2)</sup> Porém, essa técnica ainda é pouco explorada para elucidar a evolução clonal da leucemia. Apresentamos observações la-



**Figura 2.** Esquema da evolução clonal e relação entre as populações na leucemia mieloide aguda inferidas a partir de dados de imunofenotipagem. Os pacientes foram diagnosticados com duas populações de blastos (cinza e azul), que se acreditou derivar de clone comum. Na primeira recidiva, foram detectadas três subpopulações diferentes de blastos. Além da população persistente, que expandiu na frequência (azul), as outras duas populações apresentaram CD19, e a maioria provavelmente originou-se da população azul, considerando a expressão de CD7. Na segunda recidiva, a população CD19 positiva (laranja) persistiu e derivou novo subclone, com ausência de CD7 e CD56. As abordagens de tratamento parecem ser eficientes para extinguir as populações azul e rosa. Na última recidiva, observaram-se duas subpopulações de blastos. De acordo com os níveis de expressão de CD19, e presença de CD7 e CD56, esses clones derivaram de alto CD19 persistente e alto CD19; populações previamente observadas. As cores das linhas e caixas ilustram a diferença de subclones identificadas no curso da doença. O tamanho das caixas indica a frequência dessas populações em cada estágio. Os novos marcadores (adição ou ausência), que caracterizaram a próxima geração de clones de leucemia, são destacados com a mesma cor da linha da população. A linha tracejada indica a presença hipotética da população. O fim das linhas indica a extinção de tal população na história da doença

boratoriais de um caso de LMA em paciente pediátrico, em que os dados da citometria de fluxo multiparamétrica

<sup>1</sup> Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: Welbert Oliveira Pereira – Avenida Albert Einstein, 627/701 – Morumbi – CEP: 05652-900 – São Paulo, SP, Brasil – Tel.: (11) 2151-3512 – E-mail: welbert.pereira@einstein.br

Data de submissão: 8/9/2015 – Data de aceite: 4/11/2015

DOI: 10.1590/S1679-45082016A13516

evidenciaram histórico clonal de leucemia a partir do diagnóstico por meio de episódios de recidiva.

Criança de 7 anos de idade, diagnosticada como LMA com maturação com cariótipo complexo, FLT3 selvagem, negativo para 11q23, inv(16), t(9;22), e para t(8;21). A análise citométrica mostrou duas subpopulações distintas de blastos CD34(+) em medula óssea com 72,5% de expressão de blastos CD34/CD33/CD117/CD11b/CD56, e 16,1% expressando o mesmo marcador com CD7 adicional. Após tratamento, a doença residual mínima foi monitorada até atingir remissão imunofenotípica. Após 6 meses do início da terapia, o paciente apresentou recidiva com 75,1% de blastos em medula óssea, dividida em três subpopulações distintas: 42% de expressão de CD34/CD117/CD11b/CD56/CD7 (essa população persistiu a partir do diagnóstico), 22,5% de expressão de altos níveis de marcador CD19 de célula, e um terceiro expressando níveis menores de CD19 (10,5% das células). Diferente do perfil diagnóstico, todos os clones foram CD7(+) (Figura 1A a 1C). O tratamento reduziu a carga da leucemia para 0,04% e o transplante de doadores não aparentados foi realizado. Três meses após o transplante de medula óssea, o paciente teve recidiva, com 62,9% de blastos na medula óssea, todas elas expressões de CD19, apresentando, porém, duas populações imunofenotípicas diferentes: CD34/CD33/CD117/CD11b/CD19/CD56/CD7 (40%) e outra ausência de CD56 e CD7 (22,9%) (Figura 1D).

Após quimioterapia adicional, o paciente persistiu com a doença. Na última avaliação, foram encontrados 39,7% de blastos na expressão CD7/CD56/CD19 da medula óssea e citoplásmico CD3. Uma pequena fração (5%) dessas células apresentou baixos níveis de CD19, sugestivo de uma subpopulação distinta (Figura 1E). Curiosamente, ambas as populações apresentaram ausência de expressão mieloperoxidase, porém mantiveram os marcadores mieloides originais (CD33/CD117/CD11b). O monitoramento de imunofenótipos de blastos durante a progressão da LMA permitiu presumir o histórico de clone da doença, que revelou a complexidade do caso (Figura 2). Na quimioterapia, observou-se desaparecimento completo de algumas populações de blastos, enquanto outras persistiram e originaram novas subpopulações na recidiva subsequente.

Apesar do padrão-ouro de estudos para clonalidade incluir análise molecular, o que não estava disponível neste caso, a citometria de fluxo multiparamétrica disponibiliza informações relevantes em relação à plasticidade dos blastos e à evolução dos clones de LMA.

## REFERÊNCIAS

1. Estey EH. Acute myeloid leukemia: 2013 update on risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2013;88(4):318-27. Review.
2. Buccisano F, Maurillo L, Del Principe MI, Del Poeta G, Sconocchia G, Lo-Coco F, et al. Prognostic and therapeutic implications of minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia. *Blood.* 2012;119(2):332-41. Review.