

Resumo de Tese / Thesis

Emprego da citometria de fluxo na avaliação do perfil imunofenotípico de pacientes com leucemia linfocítica crônica

Use of flow cytometry to evaluate the immunophenotypic profile of patients with chronic lymphocytic leukemia

Maria Cleide A. Lopes

Orientador: Geraldo B. Cavalcanti Júnior

Resumo

A leucemia linfocítica crônica (LLC-B) é uma proliferação clonal de linfócitos B maduros caracterizada por curso clínico indolente. Biologicamente esta clonalidade é caracterizada pela baixa expressão de imunoglobulina de superfície (sIg) com restrição a uma única cadeia leve de imunoglobulina, associada a alta expressão do antígeno CD5 e positividade a antígenos relacionados a linfócitos B tais como: CD19, CD20 e CD23 e negatividade ao FMC7. O perfil imunológico e a análise morfológica das células linfóides são os principais meios para o diagnóstico diferencial LLC-B de outras doenças linfoproliferativas crônicas. O objetivo deste estudo foi avaliar o padrão de expressão de uma variedade de antígenos de membrana em células leucêmicas procedentes de pacientes com LLC-B. No presente estudo, amostras de sangue periférico de 80 pacientes com LLC-B foram analisados por citometria de fluxo multiparamétrica juntamente com análises hematológicas de rotina, com um painel de anticorpos monoclonais (AcMo): CD45/CD14, CD3/CD19/CD45, CD4/CD8/CD3, CD20/CD5/CD3, CD3/CD16-56/CD45, CD2/CD7, FMC7/CD23, CD103/CD22/CD20, HLADR/CD38, CD10/CD19, CD1a, CD11b além de IgM/gD, e cadeias leves das imunoglobulinas *kappa* e *lambda* visando a detecção sIg e do perfil de restrição clonal das cadeias leves das imunoglobulinas. Os dados hematológicos foram obtidos a partir do analisador hematológico e as análises citomorfológicas em distensão sanguínea coradas pelo Leishmann. As amostras deste estudo foram procedentes de 45 homens e 35 mulheres, com idade variando entre 55 e 84 anos (média de 65 anos). O hemograma revelou contagem total de células branca variando de 10,0-42,0 x 10⁹/L. (média de 50,0 x 10⁹/L) e contagem de linfócitos superior a 5,0 x 10⁹/L em todos os casos. As células neoplásicas demonstraram um fenótipo característico para LLC-

B (CD5+/CD19+/CD20+/HLADR+/CD23+) na maioria dos casos, associados à ausência de expressão para marcadores de células T (CD1a, CD2, CD4, CD3, CD7, CD8), CD103, CD14 e FMC7. As células leucêmicas da maioria dos pacientes expressaram também IgM e IgD de baixa intensidade com restrição clonal da cadeia leve *kappa*, na maioria dos casos (59,7%). A presente observação destaca a importância da imunofenotipagem para correto diagnóstico das síndromes linfoproliferativas crônicas e sendo o painel de AcMo utilizado capaz de estabelecer a confirmação diagnóstica da LLC-B.

Palavras-chave: Leucemia linfocítica crônica; citometria de fluxo; imunofenotipagem.

Abstract

Chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) is a clonal proliferation of mature B lymphocytes characterized by indolent clinical course. Biologically this clonality is characterized by low expression of surface immunoglobulin (sIg) with restriction to a single immunoglobulin light chain associated with high expression of CD5 antigen and positivity to B cell antigens lymphocytes such as CD19, CD20 and CD23 and negativity to FMC7. The immunological profile and morphological analysis of lymphoid cells are the main means for the differential diagnosis of B-CLL from other chronic lymphoproliferative diseases. The aim of this study was to evaluate the expression pattern of a variety of membrane antigens in leukemic cells originating from patients with B-CLL. In this study, peripheral blood samples from 80 patients with B-CLL were analyzed by multiparametric flow cytometry in addition to routine hematologic exams, using a panel of monoclonal antibodies (MoAb): CD45/CD14, CD3/CD19/CD45, CD4/CD8/CD3, CD20/CD5/CD3, CD3/CD16-56/CD45, CD2/CD7, FMC7/CD23, CD103/CD22/CD20, HLADR/CD38, CD10/CD19, CD1a, CD11b and also IgM/gD, *kappa* and *lambda* immunoglobulin light chains for the detection of surface

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PpGCFAR Centro e Ciências da Saúde - CCS Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Correspondência: Geraldo Barroso Cavalcanti Junior
Disciplina de Imunologia Clínica
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas -DACT/CCS/UFRN
Rua General Gustavo Cordeiro de Farias S/N – Petropolis
59010-180 – Natal-RN
E-mail: gbcjunior@hotmail.com

immunoglobulin and clonal restriction for immunoglobulin light chain. The Hematological data were obtained from the hematological analyzer and cytomorphological analysis in blood film stained by Leishmann. The study samples consisted of 45 men and 35 women, ages ranging from 55 to 84 years (mean 65 years). Complete white blood count showed count ranging from 10.0 to 42.0 x 10⁹/L. (mean 50.0 x 10⁹/L) and lymphocytes count greater than 5.0 x 10⁹/l in all cases. The neoplastic cells displayed B-CLL phenotype (CD5+/CD19+/CD20+/HLADR+/CD23+) in the vast majority of the cases, associated to failed to stain for T cell markers (CD1a, CD2, CD4, CD3, CD7, CD8), CD103, CD14 and FMC7. Leukemic cells of most patients also expressed low intensity of IgM and IgD with clonal restricted *kappa* light chain in most cases (59,7%). This observation highlights the importance of immunophenotyping for correct diagnosis of chronic lymphoproliferative syndromes and the panel of MoAb used was sufficient for diagnostic confirmation of B-CLL.

Key words: Chronic lymphocytic leukemia; flow cytometry; immunophenotyping.

Avaliação: A RBHH publica os resumos e abstracts de teses da área apresentados em entidades que tenham programas de pós-graduação reconhecidos pelo MEC/Capes e considera a obtenção do título suficiente para sua publicação na forma como se propõe a seção.

Suporte Financeiro: 1- Fapern (Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Norte); 2- Hemocentro Dalton Barbosa Cunha - Hemonorte; 3- Pro-Reitoria de Pesquisa da UFRN- Propesq.

Recebido: 6/3/2010

Aceito após modificações: 7/5/2010