



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

**LETICIA OLOPS MARANI**

**Estabelecimento de um protocolo de doença residual mínima por  
citometria de fluxo multiparamétrica em pacientes com leucemia  
mieloide aguda**

**Feasibility of measurable residual disease protocol by  
multiparametric flow cytometry for patients with acute myeloid  
leukemia**

**RIBEIRÃO PRETO**

**2023**

**LETICIA OLOPS MARANI**

**Estabelecimento de um protocolo de doença residual mínima por citometria de fluxo multiparamétrica em pacientes com leucemia mieloide aguda**

**Feasibility of measurable residual disease protocol by multiparametric flow cytometry for patients with acute myeloid leukemia**

**Versão Simplificada**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Oncologia Clínica, Células-Tronco e Terapia Celular.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Lorena Lobo de Figueiredo-Pontes**

**RIBEIRÃO PRETO**

**2023**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

### Catálogo da Publicação

Serviço de Documentação Médica

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Marani, Leticia Olops

Estabelecimento de um protocolo de doença residual mínima por citometria de fluxo multiparamétrica em pacientes com leucemia mieloide aguda – Ribeirão Preto, 2023.

130p

Tese de doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Programa de Oncologia Clínica, Células-Tronco e Terapia de Ribeirão Preto/USP.

Orientador: Figueiredo-Pontes, Lorena Lobo de

1. Leucemia Mieloide Aguda. 2. Doença Residual Mensurável. 3. Citometria de Fluxo Multiparamétrica

**Leticia Olops Marani**

**Estabelecimento de um protocolo de doença residual mínima por citometria de fluxo multiparamétrica em pacientes com leucemia mieloide aguda**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Oncologia Clínica, Células-Tronco e Terapia Celular.

Área de Concentração: Diferenciação Celular Normal e Neoplásica.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

Ao meu parceiro para todas as horas, **Ronaldo**. Quem me faz pensar e repensar, que me incentiva e me apoia. Aos nos escolhermos para compartilhar um caminho, jogamos um jogo de conexão sadia e voluntária. “**O mais belo estado da vida é a dependência livre e voluntária: e como seria ela possível sem amor?**” (Goethe).

Aos meus filhos, **Otávio** e **Luca**, que insistindo em crescer, me ajudaram a desenvolver e amadurecer durante a construção desse trabalho. Que seus olhos ainda permaneçam ávidos por respostas por muito mais tempo.

Ao Escotismo, que trouxe à minha vida amigos mais do que irmãos (**Arlete, Danilo, Talita e Luciana**), filhos mais do que os que nasceram de mim (**Ana Clara**, minha capivarinha), terapia e apoio.

Aos amigos que fizeram a caminhada mais leve, **Patricia, Kleber e Virgínia**, sem importar qual a distância ou o tempo de afastamento: o importante é estar do lado de dentro (do coração).

Ao meu pai (*in memoriam*), **Luiz Lauro Olops**, exemplo de perseverança e determinação, que me ensinou com sua ausência progressiva o valor do tempo, da palavra não dita, dos gestos adiados. Com o tempo não se negocia e serei eternamente agradecida pelo tempo que dedicou a mim.

*“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis”.*

*Fernando Pessoa*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço às pessoas mais importantes da minha vida: minha família (Ronaldo, Otávio e Luca). Por me apoiarem nos momentos mais densos, por descontraírem nos momentos mais leves. Estar com vocês é razão para muitas escolhas e sinto-me agradecida pela oportunidade de ter escolhido estar com vocês.

Agradeço ao amigo, padrinho e mentor **Kleber Fertrin**. Apesar de tudo ter começado quando as responsabilidades eram mínimas, percebo e valorizo seu apoio em todo esse trajeto. Sua dedicação, paciência e amizade sempre foram e continuarão a ser encorajamento pra mim.

À minha orientadora, **Lorena Lobo de Figueiredo-Pontes**, que depositou em mim confiança para um trabalho grande e de formiguinha, no qual cada curva de aprendizado foi incentivada. Por me permitir conduzir minha forma de trabalho com liberdade, contribuindo com meu desenvolvimento científico, me fazendo pensar e questionar a pesquisa sempre. Nada teria acontecido, senão por você.

Aos professores colaboradores: **Sylvie Freeman**, **Leonardo Palma**, **Fabíola Traina** e **Eduardo Rego**. Discutir as etapas do trabalho e ouvir de vocês os feedbacks foi engrandecedor e não poderia deixar essa menção.

Às melhores partes do meu dia, aqueles que fizeram o caminho mais suave, divertido e prazeroso, meus colegas de laboratório. Pela recepção no laboratório: **Diego Martins**, **César Rojas**, **Thiago Bianco**, **Luciana Yamamoto** e **Talita Perez**, vocês me fizeram querer ficar no grupo! **Amanda**, **Izabela** e **Larissa**, pelas conversas e trocas de experiências que me fizeram amadurecer no pensamento científico. Agradeço à **Camila**, recém-chegada ao grupo, que dedica seu tempo a me ajudar e me acalmar nos momentos mais agudos, e **Mariana**, que também mal chegou e já está fazendo diferença em nosso grupinho. Aos colegas

dos grupos colaboradores: **Natasha, Bruna, Antônio Bruno e Fernando Catto.** Às amigas da Hematologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, acredito seriamente que se não fosse por vocês meu trabalho e sanidade estaria seriamente comprometidos. **Priscila e Josiane,** duas pessoas tão queridas e tão complementares. Sem vocês esse trabalho não seria possível, em qualquer nível. **Karina e Denise** me conquistaram com seu carinho e ensinamentos. **Ana Silvia, Amélia, Adriana, Leila, Claudia, Júlia e Bárbara:** o que eu faria sem vocês para me escutar e aconselhar? Não posso me esquecer da querida **Beth,** que percebeu todas vezes em que precisei de um carinho e estava lá para me acarinhar e escutar.

Muito tempo foi dedicado ao presente trabalho e sem a ajuda dos que se disponibilizaram em cuidar de meus filhos, em especial **Beatriz e Celina.**

Aos meus lobinhos, escoteiros, seniores, pioneiros e chefes escoteiros. A pandemia seria pior sem vocês. A perda do meu pai seria ainda mais difícil sem vocês. Por acreditar que o melhor meio para alcançar a felicidade é contribuir para a felicidade dos outros, vocês me mantiveram **SEMPRE ALERTA** e fazendo meu **MELHOR POSSÍVEL** para **SERVIR.** Espero retribuir a cada um de vocês de acordo com o que nosso idealizador, Baden Powell, nos ensinou: Deixar o mundo um pouco melhor do que o encontrou.

Aos pacientes, que ansiosos pela cura, também se dedicaram a esse trabalho, doando-se.

A todos que contribuíram de alguma forma com o presente trabalho.

À banca examinadora, pelo tempo atribuído à leitura dessa tese.

A Deus por me proporcionar perseverança durante toda a minha vida.

Finalmente, o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – 88887.313021/2019-00, à qual também dedico meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

A Leucemia Mieloide Aguda (LMA) é uma doença clonal na qual a proliferação de blastos da linhagem mieloide é exacerbada, comprometendo funcionalmente a hematopoese. Apesar dos avanços recentes no diagnóstico e tratamento da LMA, a taxa de cura permanece ainda baixa, principalmente em países em desenvolvimento como o Brasil, no qual carências laboratoriais podem impactar no tempo entre diagnóstico e tratamento, bem como na estratificação em grupos de risco para delineamento de conduta terapêutica. Por se tratar de uma doença com alta variabilidade genética e grande heterogeneidade imunofenotípica, a identificação de células neoplásicas remanescentes consiste em um fator prognóstico adicional para recaída e sobrevida. Dessa forma, a detecção de LAIPs (do inglês *Leukemia-Associated Aberrant Immunophenotypes*) para a Doença Residual Mensurável (DRM), realizada por citometria de fluxo multiparamétrica, é uma ferramenta diagnóstica relevante para prever o sucesso terapêutico. A implantação de um protocolo padronizado de determinação da DRM na rotina laboratorial dos centros brasileiros atuantes no tratamento da LMA tem relevância para o fornecimento de dados originais referentes ao perfil da população em estudo, bem como para o estabelecimento de correlações entre a presença de DRM e a estratificação de risco com base em fatores genético-moleculares ao diagnóstico. Ademais, tal conhecimento pode contribuir para o avanço científico na busca por possíveis alvos terapêuticos para erradicação das células leucêmicas resistentes, principalmente quando inserido na realidade de dificuldade no acesso ao diagnóstico e tratamento em um país em desenvolvimento como o Brasil.

**Palavras-chave:** leucemia mieloide aguda, doença residual mínima /mensurável, citometria de fluxo



## **ABSTRACT**

Marani, LO. Feasibility of Measurable Residual Disease protocol by Multiparametric Flow Cytometry for patients with Acute Myeloid Leukemia. Thesis (Ph.D. in Health Science). Ribeirao Preto Medical School, University of Sao Paulo, 2023

Acute Myeloid Leukemia (AML) is a clonal disorder in which an exacerbation of myeloid lineage blasts proliferation functionally compromises hematopoiesis. Despite recent advances in diagnosis and treatment of AML, remission rates are still low, especially in developing countries like Brazil. In such countries, the lack of complete diagnostic tests may delay treatment as well as risk group stratification. Since AML exhibits a high genetic variability and large immunophenotypical heterogeneity, the identification of remaining neoplastic cells consists in an additional prognostic factor for relapse and survival. LAIPs (Leukemia-associated aberrant immunophenotypes) detection for Measurable Residual Disease (MRD) by multiparametric flow cytometry is a relevant diagnostic tool to predict therapeutic success. Establishing a standardized protocol for MRD detection in the Brazilian centers involved in AML treatment has an important value in providing original data from the studied population as well as allowing correlations between the presence of MRD and the risk stratification based on the genetic and molecular profile at diagnosis. In addition, such knowledge may contribute to the scientific advance in the search of possible therapeutic targets to eradicate resistant leukemic cells. This is especially true considering the difficulties in accessing diagnosis and treatment in a developing country such as Brazil.

**Keywords:** acute myeloid leukemia, measurable /minimal residual disease, flow cytometry

