

Caracterização do perfil de fatores de crescimento celular em aspirados de medula óssea de pacientes pediátricos com Leucemia Linfoblástica Aguda de células B

Julia Goes de Souza Ghedini; Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM); jgoesdesouza23@email.com;
Júlia dos Santos Moraes; Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas (UFAM);
Izabela Cabral de Freitas; Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade Estadual do Amazonas (UEA);
Andréa Teixeira-Carvalho; Grupo Integrado de Pesquisas em Biomarcadores (GIPB), Instituto René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz (IRR-FIOCRUZ);
Olindo Assis Martins-Filho; Grupo Integrado de Pesquisas em Biomarcadores (GIPB), Instituto René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz (IRR-FIOCRUZ);
Fábio Magalhães-Gama; Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz (IRR-FIOCRUZ);
Allyson Guimarães da Costa; Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas (UFAM);
Nilberto Dias de Araújo; Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM);

1. Introdução

A Leucemia Linfoblástica Aguda de células B (LLA-B) caracteriza-se pelo aumento significativo no número de linfoblastos leucêmicos no microambiente medular, comprometendo a produção de células sanguíneas, podendo infiltrar-se na circulação e tecidos extramedulares^{1,2}. O tratamento padronizado para pacientes pediátricos com LLA-B demonstra ser altamente eficaz. Apesar disso, a quimioterapia exibe efeitos citotóxicos agudos, atingindo não somente os linfoblastos leucêmicos, mas também comprometendo toda a produção hematopoiética normal³. Assim, pacientes que receberam dosagens recorrentes de tratamento podem apresentar danos crônicos irreversíveis na medula óssea (MO), resultando em efeitos secundários tardios⁴.

Dessa forma, a reconstituição das células do nicho medular é um fator importante para o sucesso terapêutico desses pacientes. Entretanto, a reconstituição celular não é um processo uniforme e depende de diversos fatores, como a idade do paciente e fatores de crescimento celular (FCs) associados⁵. Os FCs correspondem a um grupo de moléculas proteicas que estimulam o crescimento de linhagens celulares específicas. No contexto do tratamento pós-quimioterápico, os FCs são essenciais para o repovoamento da MO. Nesse sentido, a avaliação e o acompanhamento do crescimento das linhagens celulares são importantes para garantir que o paciente esteja respondendo ao tratamento quimioterápico, com o reestabelecimento das funções hematopoiéticas normais⁶.

Assim, a busca por parâmetros que contribuam para a avaliação do prognóstico clínico e, conseqüentemente, um melhor monitoramento durante o tratamento é necessária. Além disso, por seu papel no repovoamento celular nos nichos da MO, os FCs apresentam-se como potenciais biomarcadores para avaliação da recuperação medular e remissão dos pacientes, diminuindo a exposição a terapias ineficazes e potencialmente tóxicas, tornando o tratamento mais assertivo. Dessa forma, o presente estudo buscou caracterizar o perfil de FCs em aspirados de medula óssea de pacientes pediátricos com LLA-B.

2. Material e Métodos

O estudo, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação HEMOAM (parecer nº 4.982.395), é observacional, longitudinal e prospectivo. Incluiu pacientes recém-diagnosticados com LLA-B, atendidos no Serviço de Hematologia Pediátrica entre agosto de 2021 e julho de 2025. Amostras de medula óssea foram coletadas por punção aspirativa da crista ilíaca no diagnóstico (D0) e em três tempos da quimioterapia de remissão: dia 15 (D15), dia 35 (D35) e dia 84 (D84).

Foram quantificadas, por meio da técnica de Luminex, com o kit *Bio-Plex Pro Human Cytokine Screening 48-Plex Panel (Bio-Rad Laboratories)*, as concentrações dos seguintes fatores de crescimento (FCs): FGF Basic, HGF, PDGF-BB, VEGF, BETA-NGF, SCF, G-CSF, M-CSF, GM-CSF, IL-7, MIF e LIF. As análises foram realizadas no Sistema Luminex 200™, com o software *Bioplex Manager*. Dados demográficos, clínicos e hematológicos foram coletados dos registros laboratoriais e prontuários médicos. O banco de dados foi elaborado no Microsoft Excel e as análises estatísticas feitas no GraphPad Prism v.8.0.2. Redes biológicas para demonstrar as interações entre os FCs foram construídas no software Cytoscape v.3.0.3.

3. Resultados e Discussão

Foram incluídos no estudo 36 pacientes pediátricos com LLA-B, dos quais 25 finalizaram a quimioterapia de remissão e 11 foram a óbito durante a terapia de indução, sendo classificados em dois grupos como LLA-B QR e LLA-B OB, respectivamente. A mediana de idade do grupo LLA-B QR foi de 5 anos (IQR 3-9), com predominância do sexo masculino, 13/25 (52%), enquanto no grupo LLA-B OB, a idade mediana foi de 3 anos (IQR 1-7), com pacientes majoritariamente do sexo feminino, 7/11 (64%).

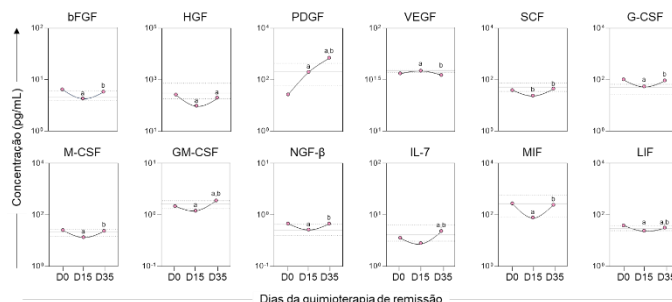


Figura 1. Avaliação cinética entre os tempos da quimioterapia do grupo LLA-B QR na medula óssea. LLA-B, leucemia linfoblástica aguda de células B; QR, quimioterapia de remissão concluída.

A cinética durante a quimioterapia (Figura 1) demonstra uma variação heterogênea dos FCs estudados ao longo do tratamento, a qual pode estar sendo influenciada pela complexidade do microambiente medular, levando ao desequilíbrio imunológico. Também é necessário levar em consideração as funções distintas dos FCs, uma vez que estão presentes na MO em altas concentrações necessárias para a hematopoiese, já que a quimioterapia elimina todas as células presentes. Por outro lado, também se torna uma zona permissiva para a sobrevivência dos blastos e o aumento da resistência ao tratamento⁷.

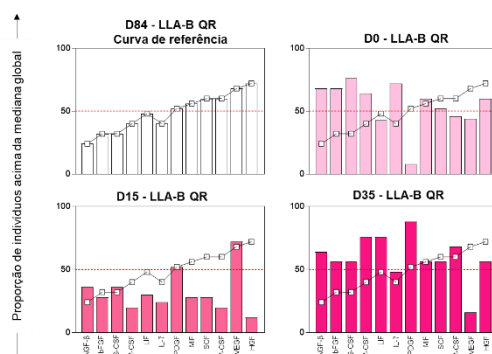


Figura 2. Assinatura ascendente de fatores de crescimento na medula óssea no grupo LLA-B QR. LLA-B, leucemia linfoblástica aguda de células B; QR, quimioterapia de remissão concluída.

Além disso, a utilização do final da quimioterapia de consolidação à remissão (D84) como parâmetro pode demonstrar uma tentativa de retornar à homeostasia e às concentrações basais após o tratamento quimioterápico. Da mesma forma, na Figura 2, a assinatura ascendente demonstra que, ao D15, a MO demonstra-se em estado de aplasia decorrente da quimioterapia, com subsequente aumento ao D35, podendo indicar uma superprodução dos FCs para o repovoamento das células da MO após o tratamento.

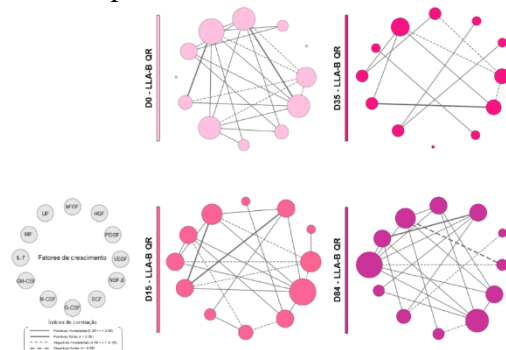


Figura 3. Redes biológicas integrativas referentes à cinética do grupo QR na medula óssea. LLA-B, leucemia linfoblástica aguda de células B; QR, quimioterapia de remissão concluída.

Em relação a comparação de acordo com o desfecho clínico (Figura 4), os FCs HGF e PDGF demonstraram-se aumentados no grupo de pacientes que evoluiu para o óbito. Esse dado concorda com achados anteriores na literatura, nos quais as concentrações de HGF estão associados à leucemia mieloide aguda (LMA) e à leucemia mieloide crônica (LMC), sugerindo um papel na leucemogênese e na progressão da doença. Ademais, concentrações elevadas de HGF na LMA correlacionam-se com a agressividade da doença e prognóstico desfavorável, tornando-se um potencial marcador prognóstico e alvo terapêutico⁸.

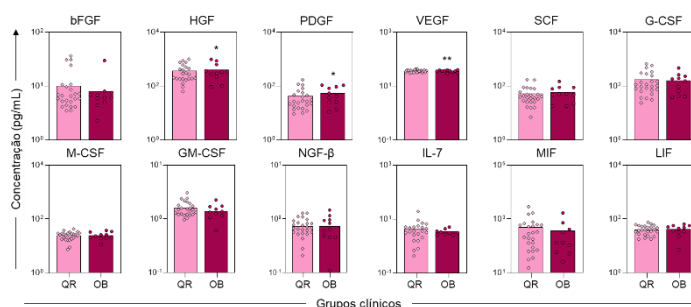


Figura 4. Perfil de fatores de crescimento em pacientes com LLA-B QR x LLA OB na medula óssea ao D0. QR, quimioterapia de remissão concluída; OB, óbito.

Simultâneo a isso, PDGF inicialmente pode ser identificado nas plaquetas e regula o desenvolvimento e a patologia dos vasos sanguíneos, sendo um fator importante na angiogênese durante os processos neoplásicos. Um dos membros mais importantes da família do fator de crescimento derivado de plaquetas é VEGF, fator fisiologicamente essencial na sobrevivência celular, proliferação e integridade estrutural⁹.

Além disso, VEGF também demonstra-se ser o FC mais potente na estimulação da angiogênese, uma vez que as células leucêmicas o secretam para produção de outros FCs, como G-CSF, que por sua vez atua sobre as células leucêmicas aumentando sua proliferação e resistência à medicamentos. Na LMA, concentrações elevadas de VEGF correlacionam-se com mau prognóstico, aumento da angiogênese e agressividade da doença, destacando seu papel como marcador prognóstico e alvo terapêutico¹⁰.

Em nosso estudo, contrariamente à achados da literatura, VEGF estava em concentrações aumentadas no grupo QR (Figura 4), ou seja, associou-se à sobrevivência dos pacientes e ao sucesso terapêutico, além de realizar correlações negativas em todos os tempos da quimioterapia de remissão (Figura 3). A hipótese mais provável seria a regulação dos outros FCs, por seu papel no desenvolvimento de células-tronco hematopoiéticas, na remodelação da matriz celular e na regeneração de citocinas inflamatórias¹¹.

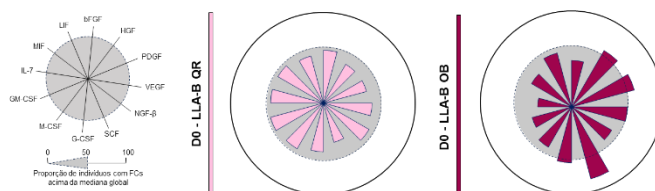


Figura 5. Assinatura em radar de fatores de crescimento na medula óssea.

LLA-B, leucemia linfoblástica aguda de células B; QR, quimioterapia de remissão concluída; OB, óbito.

Na Figura 5, SCF destacou-se pela alta produção em pacientes do grupo OB, estando associado à um desfecho desfavorável nesses pacientes. No contexto leucêmico, esse FC é associado na literatura com a progressão da doença, redução da apoptose induzida por medicamentos quimioterápicos e associação com agressividade da doença, através da regulação por estresse oxidativo. Além disso, SCF também pode atuar em sinergia com outros FCs, como os responsáveis pelo crescimento de colônias, potencializando a proliferação de células leucêmicas¹².

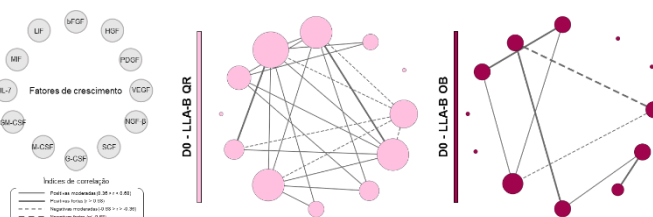


Figura 6. Redes biológicas integrativas entre LLA-B QR x LLA OB na medula óssea ao D0.

LLA-B, leucemia linfoblástica aguda de células B; QR, quimioterapia de remissão concluída; OB, óbito.

Em relação as redes de interação biológicas por desfecho (Figura 6), a ausência de interações no grupo OB em comparação ao grupo QR demonstra um microambiente em desequilíbrio, modulado pela leucemia e que perdeu a capacidade de realizar interações fisiológicas. Dessa forma, a ausência de correlações ao diagnóstico também pode demonstrar o desfecho, uma vez que o equilíbrio dos FCs na MO resulta de interações complexas entre as células, moléculas e o microambiente, tornando-se um fator chave para o desenvolvimento e progressão da doença.

4. Conclusões

Nossos dados demonstraram um desequilíbrio nas concentrações de fatores de crescimento no compartimento da MO, além de um perfil diferenciado entre os grupos clínicos estudados. Finalmente, HGF e PDGF foram associadas à progressão para óbito durante o tratamento. Através das análises foi possível descrever o perfil de FCs na população de estudo, porém mais estudos são necessários utilizando diferentes populações e abordagens para elucidar o impacto desses mediadores em pacientes leucêmicos.

Palavras-Chave: leucemia infantil; microambiente tumoral; fatores de crescimento; prognóstico; biomarcadores.

Divulgação

Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, o Congresso Pan-Amazônico de Oncologia detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação deste resumo, por meio eletrônico.

5. Referências

1. Leite EP, Muniz MTC, De Azevedo ADCAC, Souto FR, Maia ÂCL, Gondim CMDf, et al. Fatores prognósticos em crianças e adolescentes com Leucemia Linfóide Aguda. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil* [Internet]. outubro de 2007 [citado 28 de fevereiro de 2024];7(4):413–21. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbsmi/a/gBkT8wqGjXfZxpnr7mmCLmq/abstract/?lang=pt>
2. Farias MG, Castro SM de. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. *J Bras Patol Med Lab* [Internet]. abril de 2004 [citado 28 de fevereiro de 2024];40(2):91–8. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpml/a/hqbmPwpLN5tLzxRX3kdnSpg/>
3. Wiegering V, Frank J, Freudenberg S, Morbach H, Schlegel PG, Eyrych M, et al. Impaired B-cell reconstitution in children after chemotherapy for standard or medium risk acute precursor B-lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* [Internet]. 2014 [citado 28 de fevereiro de 2024];55(4):870–5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23786458/>
4. Pui CH, Yang JJ, Hunger SP, Pieters R, Schrappe M, Biondi A, et al. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Progress Through Collaboration. *J Clin Oncol* [Internet]. 20 de setembro de 2015 [citado 28 de fevereiro de 2024];33(27):2938–48. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26304874/>
5. Crawford J, Dale DC, Lyman GH. Chemotherapy-induced neutropenia: risks, consequences, and new directions for its management. *Cancer* [Internet]. 15 de janeiro de 2004 [citado 28 de fevereiro de 2024];100(2):228–37. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14716755/>
6. Quasthoff S, Hartung HP. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol* [Internet]. 2002 [citado 28 de fevereiro de 2024];249(1):9–17. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11954874/>
7. Wang Y, Probin V, Zhou D. Cancer therapy-induced residual bone marrow injury-Mechanisms of induction and implication for therapy. *Curr Cancer Ther Rev* [Internet]. 24 de julho de 2006 [citado 28 de fevereiro de 2024];2(3):271–9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19936034/>
8. Essig S, Li Q, Chen Y, Hitzler J, Leisenring W, Greenberg M, et al. Risk of late effects of treatment in children newly diagnosed with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia: A report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol* [Internet]. 1o de julho de 2014 [citado 28 de fevereiro de 2024];15(8):841–51. Disponível em: <http://www.thelancet.com/article/S1470204514702657/fulltext>
9. Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR, Andrich MP, Chen CC, Feuerstein IM, et al. Age, thymopoiesis, and CD4+ T-lymphocyte regeneration after intensive chemotherapy. *N Engl J Med* [Internet]. 19 de janeiro de 1995 [citado 28 de fevereiro de 2024];332(3):143–9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7800006/>
10. Wee P, Wang Z. Cell cycle synchronization of hela cells to assay EGFR pathway activation. *Methods in Molecular Biology* [Internet]. 2017 [citado 28 de fevereiro de 2024];1652:167–81. Disponível em: https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-4939-7219-7_13
11. Jones SM, Kazlauskas A. Connecting signaling and cell cycle progression in growth factor-stimulated cells. *Oncogene* [Internet]. 20 de novembro de 2000 [citado 28 de fevereiro de 2024];19(49):5558–67. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11114735/>
12. Bernard J, Weil M, Jacquillat C. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 [citado 28 de fevereiro de 2024];354(2):1–11. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16407512/>