







Presencia de clones de hemoglobinuria paroxística nocturna en portadores de leucemia aguda del estado de Pará, Amazonía, Brasil

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with acute leukemia in Pará State, Brazilian Amazon

Lacy Cardoso de Brito Júnior¹ , Fábio Rodrigues de Oliveira^{2,3} , Debora Alves Cardoso² , Bruno Marcel Silva de Melo^{2,4} , Murilo Chermont Azevedo^{5,6}, Matheus Holanda Nascimento⁶, Debora Monteiro Carneiro⁶ , Ana Paula Silveira Paixão⁶ 

¹ Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Patologia Geral, Imunopatologia e Citologia, Belém, Pará, Brasil

² Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Curso de Especialização em Hematologia e Imunologia, Belém, Pará, Brasil

³ Universidade Federal do Amapá, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Controle de Qualidade e Bromatologia, Macapá, Amapá, Brasil

⁴ Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Laboratório de Inflamação e Dor, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

⁵ Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Belém, Pará, Brasil

⁶ Laboratório de Patologia Clínica Dr. Paulo C. Azevedo, Belém, Pará, Brasil

RESUMEN

OBJETIVO: Descubrir la mejor estrategia para elegir anticuerpos para caracterizar la presencia de clones de hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) en pacientes sometidos a investigación diagnóstica de leucemias agudas o en acompañamiento terapéutico. **MATERIALES Y MÉTODOS:** de febrero a julio de 2015, se analizaron 41 muestras de sangre periférica y médula ósea de pacientes con leucemia aguda que se sometieron a una investigación diagnóstica o a acompañamiento terapéutico, en dos hospitales oncológicos y públicos de Belém. **RESULTADOS:** del total de muestras, 58.5% eran hombres, 41.5% tenían entre 0 y 10 años, 56.1% estaban en investigación diagnóstica y 43.9% en acompañamiento terapéutico. De los casos en diagnóstico, 43.5% (10/23) era de leucemia linfoblástica aguda de células B común y 26.1% (6/23) de leucemia mieloide aguda. La presencia de clones de HPN se verificó en 9.8% (4/41) del total investigado, con 3/4 observados en la investigación de diagnóstico y 1/4 en un paciente sometido a acompañamiento terapéutico, sin recaída. La combinación de anticuerpos FLAER/CD59PE/CD45Per-Cy5 en blastos y linfocitos, FLAER/CD15PE/CD45Per-Cy5/CD24APC en granulocitos y FLAER/CD14PE/CD45Per-Cy5/CD64APC en monocitos demostró ser la mejor estrategia para caracterizar la presencia de clones de HPN en estos pacientes, independientemente del tipo de muestra. **CONCLUSIÓN:** La presencia de clones de HPN en pacientes con leucemia aguda no dependió de la ontogenia celular o la etapa del paciente (diagnóstico o seguimiento terapéutico). La mejor estrategia de anticuerpos para la identificación de clones de HPN en blastos leucémicos, independientemente de su ontogenia, fue a través de la combinación de FLAER con CD45.

Palavras-clave: Hemoglobinuria Paroxística; Leucemia; Citometría de Flujo.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To highlight the best antibody selection strategy to characterize the presence of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) clones in patients undergoing diagnostic investigation of acute leukemia or in therapeutic follow-up. **MATERIALS AND METHODS:** Forty-one peripheral blood and bone marrow samples from patients with acute leukemia who underwent diagnostic investigation or therapeutic follow-up at two oncological and public hospitals in Belém, Pará State, Brazil, from February to July 2015, were analyzed. **RESULTS:** A total of 58.5% were male, 41.5% were 0–10 years old, 56.1% were under diagnostic investigation, and 43.9% were under therapeutic follow-up. Among cases under diagnostic investigation, 43.5% (10/23) were B-cell acute lymphoblastic leukemia and 26.1% (6/23) acute myeloid leukemia. The presence of PNH clones was observed in 9.8% (4/41) of cases, being 3/4 under diagnostic investigation and 1/4 under therapeutic follow-up, without relapse. The combination of FLAER/CD59PE/CD45Per-Cy5 antibodies in blasts and lymphocytes, FLAER/CD15PE/CD45Per-Cy5/CD24APC in granulocytes, and FLAER/CD14PE/CD45Per-Cy5/CD64APC in monocytes proved to be the best strategy to characterize the presence of PNH clones in these patients, regardless of sample type. **CONCLUSION:** The presence of PNH clones in patients with acute leukemia did not depend on cell ontogeny or patient stage (diagnosis or therapeutic follow-up). The best antibody strategy for the identification of PNH clones in leukemic blasts, regardless of their ontogeny, was by combining FLAER with CD45.

Keywords: Paroxysmal Hemoglobinuria; Leukemia; Flow Cytometry.

Correspondencia / Correspondence:

Lacy Cardoso de Brito Junior
Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Patologia Geral, Imunopatologia e Citologia
Av. Augusto Corrêa, 01. Bairro: Guamá. CEP: 66075-900 – Belém, Pará, Brasil – Tel.: +55 (91) 3201-7102
E-mail: E-mail: lcdbrito@ufpa.br / lcdbrito@bol.com.br

INTRODUCCIÓN

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es un trastorno clonal raro de las células madre hematopoyéticas, que surge principalmente de la mutación somática del gen de glicosofosfatidilinositol (GPI) clase A (PIGA) y resulta en el bloqueo precoz de la síntesis del ancla GPI, responsable por mantener adheridas a la membrana plasmática decenas de proteínas con funciones específicas^{1,2,3}. La deficiencia de GPI conduce a la falta de unión de las proteínas normalmente ancladas en ella, como el inhibidor de la lisis reactiva de la membrana (CD59) y el factor acelerador del decaimiento (CD55), que regulan la actividad lítica del complemento^{3,4}, generando cambios clínicos asociados a la hemólisis intravascular crónica, a la insuficiencia medular y a la trombosis^{4,5,6}.

Estos cambios también se han asociado con la aparición de un cierto grado de inestabilidad en el ADN de las células comprometidas y a la génesis de varias enfermedades hematológicas, como la anemia aplásica, los síndromes mielodisplásicos y algunos tipos de leucemias agudas^{1,2,4,5,6,7}.

Estudios recientes han proporcionado nuevas perspectivas sobre el mecanismo patogénico de la expansión clonal en pacientes con HPN. Dichos estudios han demostrado que, en estos pacientes, además de la mutación del gen PIGA, también se observan mutaciones somáticas en otros genes que a menudo se asocian al crecimiento, a la diferenciación celular y a la regulación del proceso de apoptosis, de manera similar a lo que se observa en la génesis de las neoplasias hematológicas. Estos resultados sugieren que estas mutaciones asociadas con HPN podrían estar involucradas en la manutención, expansión y evolución del clon HPN y, posiblemente en la transformación maligna de leucemias^{4,6,7,8,9}.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue el de evidenciar la presencia de clones de HPN en pacientes sometidos a diagnóstico de leucemia aguda y/o en acompañamiento terapéutico, después del inicio del tratamiento, incluso sin señales de hemólisis, trombosis o cualquier otra alteración asociada con la presencia de clones de HPN, buscando establecer la mejor estrategia de anticuerpos para caracterizar la presencia de estos clones en pacientes con leucemia aguda.

MATERIALES Y MÉTODOS

CASUÍSTICA

Estudio prospectivo de serie de casos con 41 pacientes, de ambos sexos, atendidos en el Hospital Ophir Loyola y en el Hospital Oncológico Infantil Dr. Octávio Lobo, en Belém, estado de Pará, Brasil, entre febrero y julio de 2015, para el diagnóstico de leucemia aguda o en seguimiento terapéutico. Para estos pacientes, incluso sin signos de hemólisis, trombosis o cualquier otra alteración asociada con la HPN, se realizó una búsqueda de clones de HPN en muestras de médula ósea y sangre periférica, que se enviaron a un laboratorio privado en Belém.

Este estudio recibió la aprobación del Comité de Ética en Investigación de la Fundación Pública del Estado Hospital de Clínica Gaspar Vianna, parecer No. 732,668, el 22 de mayo de 2014.

INMUNOFENOTIPADO

Se realizaron frotis para el análisis morfológico y el procesamiento posterior de las muestras para el diagnóstico de leucemia mediante la adición de 100 µl de muestra en tubos cónicos, acrecido de 7 µl de diferentes combinaciones de anticuerpos monoclonales comerciales: pan-hematopoyético: CD34, CD45, HLA-DR; Linfocitos B: CD19, CD10, CD20, CD22, CD79a, TdT, IgG1, IgG1, IgM, anti-kappa y anti-lambda; linfocitos T y NK: CD5, CD7, CD2, CD1a, CD3, CD4, CD8, CD56; o mieloides: CD13, CD33, CD117, CD61, CD14, CD64, CD11b, glicoforina A, CD42a, MPO – marcados con FITC, PE, Percp y APC, más lisis y /o permeabilización, incubación en oscuridad, centrifugaciones y lavados, con adquisición y análisis de 10,000 eventos en el citómetro de flujo BD FACSCalibur™, con el software BD CellQuest™ Pro (BD, San José, CA, EE. UU.), para cuatro colores.

Para la investigación de clones de HPN en pacientes en la fase de investigación diagnóstica, se utilizó la población de blastos leucémicos y hematíes; para los pacientes en seguimiento terapéutico, se estudiaron las poblaciones de blastos leucémicos y hematíes o granulocitos, monocitos, linfocitos y eritrocitos en el caso de pacientes libres de enfermedad. El procesamiento de las muestras siguió el mismo protocolo en ambos casos. Inicialmente, los anticuerpos CD55FITC/CD59PE/CD45Per-Cy5 (leucocitos) y CD235FITC/CD59PE/CD45Per-Cy5 (hematíes) se combinaron para los primeros 10 pacientes. En vista de los resultados obtenidos, los autores modificaron el panel para la combinación FLAER/CD59PE/CD45Per-Cy5 (blastos), más los paneles propuestos por Borowitz et al.¹⁰, FLAER/CD15PE/CD45Per-Cy5/CD24APC (granulocitos), FLAER/CD14PE/CD45Per-Cy5/CD64APC (monocitos) y CD235FITC/D59PE/CD45Per-Cy5 (hematíes), con la adquisición y análisis de 250.000 eventos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico, se aplicaron métodos descriptivos de frecuencia, por medio del software BioEstat v5.0.

RESULTADOS

Del total analizado, 23/41 (56,1%) pacientes estaban en fase de investigación diagnóstica para leucemia aguda y se sometieron a investigación de HPN, y 18/41 (43,9%) pacientes ya estaban en seguimiento terapéutico, cuando se sometieron a la investigación de HPN.

Las características más prevalentes en la población estudiada fueron: el género masculino fue el más frecuente (24/41; 58.5%); la mayoría de los individuos tenía entre 0 y 10 años (17/41; 41.5%) y más de 25 años (13/41; 31.7%).

Entre los pacientes en la fase de diagnóstico (23/41; 56.1%), las enfermedades con el mayor número de casos fueron leucemia linfoblástica aguda (LLA) de células pre-pre-B (B común) (10/23; 43.5%) y leucemia mieloide aguda (LMA) (6/23; 26.1%). Con respecto a los pacientes en acompañamiento terapéutico (18/41; 43,9%), la mayoría, 12/18 (66,7%), estaba en remisión para la enfermedad de base (Tabla 1).

Con relación a los pacientes que tenían clones de HPN en blastos leucémicos, se observó que 3/41 (7,4%) estaba en la fase de investigación de diagnóstico para leucemias agudas. De estos, 2/3 (66.7%) tenía LMA y 1/3 (33.3%) tenían LLA pre-T. Para los pacientes en seguimiento terapéutico sin recaída, se observó la presencia de clones de PNH, en granulocitos y monocitos, en solo 1/41 (2,4%) de pacientes con LLA pre-pre-B (B común).

En cuanto al análisis de la estrategia de combinación de anticuerpos, para caracterizar la presencia de clones de HPN en blastos y linfocitos de pacientes en la fase de diagnóstico, la combinación de los anticuerpos FLAER/CD59PE/CD45Per-Cy5 fue mejor para caracterizar estos clones (3/41; 7.3%), en comparación con la combinación CD55FITC/CD59PE/CD45Per-Cy5, donde no se observó ningún caso positivo para la

presencia de estos clones cuando esta combinación se probó en 10 pacientes.

También para los pacientes en seguimiento terapéutico, sin la presencia de blastos en la muestra, la combinación de anticuerpos FLAER/CD15PE/CD45Per-Cy5/CD24APC para granulocitos y FLAER/CD14PE/CD45Per-Cy5/CD64APC para monocitos mostró mejores resultados para caracterizar la presencia de clones de HPN en estos grupos celulares (1/41; 2.4%) que la combinación CD55FITC/CD59PE/CD45Per-Cy5, para los cuales no se observó la presencia de estos clones de HPN cuando esta combinación se probó en 10 pacientes. La investigación de clones de HPN en hematíes, usando la combinación de anticuerpos CD235FITC/CD59PE/CD45Per-Cy5, no fue efectiva en ninguna de las situaciones investigadas.

DISCUSIÓN

Varios estudios han asociado el desorden clonal de células tronco-hematopoyéticas a la presencia de mutación del gen *PIGA*^{1,2,3}. Además, sugieren el apareamiento de cierto grado de inestabilidad del ADN en células comprometidas en la HPN con la génesis de varias enfermedades hematológicas, como forma de evolución rara de la HPN para leucemia aguda^{1,2,4,5,6,7,11}.

Tabla 1 – Caracterización epidemiológica de los pacientes sometidos a la investigación diagnóstica para leucemia aguda o en acompañamiento terapéutico y que fueron estudiados en relación a la presencia de clones de HPN, en el período de febrero a julio de 2015

Caracterización epidemiológica	Investigación diagnóstica		En acompañamiento terapéutico		Total (N = 41)	
	N	%	N	%	N	%
Grupo de edad (años)						
0–10	11	64,7	6	35,3	17	41,5
11–17	4	44,4	5	55,6	9	21,9
18–25	1	50,0	1	50,0	2	4,9
> 25	7	53,8	6	46,2	13	31,7
Género						
Masculino	14	58,3	10	41,7	24	58,5
Femenino	9	52,9	8	47,1	17	41,5
Investigación de HPN						
Normal	20	54,1	17	45,9	37	90,2
Deficiente	3	75,0	1	25,0	4	9,8
Tipo de leucemia aguda						
LLA pre-pre-B	10	71,4	4	28,6	14	34,2
LMA	6	85,7	1	14,3	7	17,1
LLA pre-T	2	100,0	–	–	2	4,9
LLA pro-T	–	–	1	100,0	1	2,4
LLA T cortical	1	100,0	–	–	1	2,4
Bilinaje B y T	2	100,0	–	–	2	4,9
Bilinaje B y mieloide	1	100,0	–	–	1	2,4
Ausencia de blastos en la muestra	1	7,7	12	92,3	13	31,7

Fuente: Laboratorio de Patología Clínica Dr. Paulo C. Azevedo.

N: valores absolutos; %: valores relativos; LLA: leucemia linfoblástica aguda; LMA: leucemia mieloide aguda; HPN: hemoglobinuria paroxística nocturna. Señal convencional utilizada: – Dato numérico igual a cero, no resultante de redondeo.

Para Araten y Luzzatto¹² y Araten et al.¹³, la presencia de mutación en el gen *PIGA* genera clones de HPN en células madre hematopoyéticas; sin embargo, esto no garantiza la ventaja de la replicación o expansión clonal a estas células, en comparación con las células normales, de manera diferente de lo que se creía. Sin embargo, según los mismos autores, cuando se observa expansión clonal en células que han sufrido mutaciones en el gen *PIGA*, se produce extrínsecamente a la mutación en ese gen, es decir, a menudo se asocia con mutaciones adicionales en uno o más genes en la misma población celular. Como ya informado por Inoue et al.¹⁴, las mutaciones en el gen *PIGA* están asociadas con mutaciones en otros genes, como *HMGA2*, *JAK2V617F* y *N-RAS*¹⁵, y, más recientemente, se demostró que estarían asociadas al *BCR-GLA*¹⁶.

Para Traulsen et al.¹⁷ y Dingli et al.¹⁸, esta segunda mutación en una célula madre hematopoyética en el gen *PIGA* proporcionaría una ventaja de adecuación necesaria para la expansión clonal; sin embargo, la aparición de este fenómeno parece ser la excepción y no la regla. Sin embargo, estudios recientes han sugerido que estas mutaciones adicionales se ven típicamente en el síndrome mielodisplásico o en la leucemia¹⁹.

Mon Pèrre et al.²⁰ presentaron un modelo estocástico de dinámica de células madre hematopoyéticas en relación a las mutaciones en el gen *PIGA* y a la probabilidad de conducir las al fenotipo HPN. Esos resultados permitieron estimar la incidencia de la enfermedad en una población, el tamaño promedio del clon y la probabilidad de extinción del mismo, con resultados semejantes a los observados en la práctica clínica. En ese mismo estudio, los autores mostraron, matemáticamente, que el tamaño del clon aumenta no solamente la probabilidad de expansión clonal para las células que sufrieron mutación, sino que también es determinante para la presentación clínica de la enfermedad, esto es, formas de HPN clínica, subclínica o probabilidad de extinción del clon.

Los resultados del presente estudio muestran, aún preliminarmente, que los pacientes con leucemias agudas pueden presentar clones de HPN "silenciosa", sin que sea posible, por el momento, caracterizar el papel de estos clones de HPN en estos pacientes, e incluso si estos clones mantienen su actividad después que la quimioterapia ha comenzado. Sin embargo, en un estudio aún en progreso (datos no publicados), ya es posible decir que algunos pacientes que presentan clones de HPN en el diagnóstico, en blastos, mantienen la actividad de estos clones en granulocitos y monocitos, incluso después de iniciada la quimioterapia, lo que demuestra que, en el futuro, será necesario definir si, para estos pacientes, además de la quimioterapia tradicional, también será necesario introducir un tratamiento específico para el clon HPN.

Para Lanza et al.¹¹, en su informe de caso de un paciente masculino, de 62 años, inicialmente diagnosticado con síndrome mielodisplásico, que durante el curso de la enfermedad presentó un gran clon de HPN y progresó a un neoplásico raro (linfoma difuso de grandes células B), los autores revelaron que fue obligatorio tratar a

este paciente con Eculizumab en combinación con la quimioterapia para el linfoma, a fin de evitar los riesgos de trombosis y mejorar la calidad de vida del paciente.

La hipótesis de la presencia de un clon de HPN "silencioso" en pacientes con leucemias agudas puede ser respaldada por las perspectivas proporcionadas sobre el mecanismo patológico de expansión clonal de pacientes con HPN. En estos pacientes, además de la mutación del gen *PIGA*, también se observan mutaciones somáticas en otros genes que a menudo se asocian al crecimiento, a la diferenciación celular y a la regulación de la apoptosis, de forma similar a lo que se observa en la génesis de leucemias, como ya se mencionó. Por lo tanto, estas mutaciones vinculadas a la HPN podrían estar asociadas con la transformación leucémica en estos pacientes^{6,7,8,9}.

Con respecto a la mejor combinación de anticuerpos para la identificación de clones de HPN, tanto en blastos leucémicos, independientemente de su ontogenia, como en granulocitos, monocitos, linfocitos y hematíes, se observó que los anticuerpos CD55 y CD59 no eran buenos marcadores para mostrar la presencia de clones de HPN. En relación al tipo de célula a investigar, estaba claro, a través de los paneles probados, que la presencia de clones de HPN se muestra con mayor precisión en granulocitos y monocitos¹⁰; sin embargo, también es posible evidenciar la presencia de estos clones en blastos leucémicos con la misma precisión, aunque las hematíes puedan no ser células adecuadas para caracterizar la presencia de estos clones.

CONCLUSIÓN

En este estudio, fue posible mostrar, aunque preliminarmente, a presencia de clones de HPN en pacientes portadores de leucemias agudas (LMA, LLA pre-T y LLA de células B comunes), independientemente de la ontogenia celular, en el diagnóstico o en acompañamiento terapéutico. La mejor estrategia de elección de anticuerpos para la identificación de clones HPN en blastos leucémicos, independiente de su ontogenia, fue la combinación de los anticuerpos FLAER y CD45. Las hematíes no se mostraron adecuadas para caracterizar la presencia de esos clones en los pacientes analizados.

APOYO FINANCIERO

Fundación Amazonia de Amparo a Estudios e Investigaciones.

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no haber tenido cualquier tipo de conflictos de interés durante la realización del estudio.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores contribuyeron a la ideación del estudio, al análisis y a la interpretación de los datos y la redacción manuscrito, aprobando la versión final publicada. Se declaran responsables por el contenido integral del artículo, garantizando su precisión e integridad.



REFERENCIAS

- 1 Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: stem cells and clonality. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2008 Jan;2008(1):111-5.
- 2 Madkaikar M, Gupta M, Jijina F, Ghosh K. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: diagnostic tests, advantages, & limitations. *Eur J Haematol*. 2009 Dec;83(6):503-11.
- 3 Mortazavi Y, Merk B, McIntosh J, Marsh JCW, Schrezenmeier H, Rutherford TR. The spectrum of *PIG-A* gene mutations in aplastic anemia/paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (AA/PNH): a high incidence of multiple mutations and evidence of a mutational hot spot. *Blood*. 2003 Apr;101(7):2833-41.
- 4 Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2014 Oct;124(18):2804-11.
- 5 Devallet B, Mullier F, Chatelain B, Dogné JM, Chatelain C. Pathophysiology, diagnosis, and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a review. *Eur J Haematol*. 2015 Sep;95(3):190-8.
- 6 Araten DJ, Sanders KJ, Anscher D, Zamechek L, Hunger SP, Ibrahim S. Leukemic blasts with the paroxysmal nocturnal hemoglobinuria phenotype in children with acute lymphoblastic leukemia. *Am J Pathol*. 2012 Nov;181(5):1862-9.
- 7 Shen W, Clemente MJ, Hosono N, Yoshida K, Przychodzen B, Yoshizato T, et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest*. 2014 Oct;124(10):4529-38.
- 8 Schubert J, Roth A. Update on paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: on the long way to understand the principles of the disease. *Eur J Haematol*. 2015 Jun;94(6):464-73.
- 9 Lee SC, Abdel-Wahab O. The mutational landscape of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria revealed: new insights into clonal dominance. *J Clin Invest*. 2014 Oct;124(10):4227-30.
- 10 Borowitz MJ, Craig FE, Digiuseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR, et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010 Jul;78(4):211-30.
- 11 Lanza F, Lazzari MC, Brambilla P, Di Martino G, Spedini P. An unusual association of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, myelodysplastic syndrome, and diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma in a Caucasian man. *Ann Hematol*. 2016 Sep;95(9):1555-7.
- 12 Araten DJ, Luzzatto L. The mutation rate in *PIG-A* is normal in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood*. 2006 Jul;108(2):734-6.
- 13 Araten DJ, Bessler M, McKenzie S, Castro-Malaspina H, Childs BH, Boulad F, et al. Dynamics of hematopoiesis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): no evidence for intrinsic growth advantage of PNH clones. *Leukemia*. 2002 Nov;16(11):2243-8.
- 14 Inoue N, Izui-Sarumaru T, Murakami Y, Endo Y, Nishimura J, Kurokawa K, et al. Molecular basis of clonal expansion of hematopoiesis in 2 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood*. 2006 Dec;108(13):4232-6.
- 15 Mortazavi Y, Tooze JA, Gordon-Smith EC, Rutherford TR. N-RAS gene mutation in patients with aplastic anemia and aplastic anemia/ paroxysmal nocturnal hemoglobinuria during evolution to clonal disease. *Blood*. 2000 Jan;95(2):646-50.
- 16 Katagiri T, Tominaga R, Kataoka K, Maeda A, Gomyo H, Mizuno I, et al. A cure for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using molecular targeted therapy specific to a driver mutation. *Blood*. 2015;126(23):1215a.
- 17 Traulsen A, Pacheco JM, Dingli D. On the origin of multiple mutant clones in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Stem Cells*. 2007 Dec;25(12):3081-4.
- 18 Dingli D, Pacheco JM, Traulsen A. Multiple mutant clones in blood rarely coexist. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*. 2008 Feb;77(2 Pt 1):021915.
- 19 Shen W, Clemente MJ, Hosono N, Yoshida K, Przychodzen B, Yoshizato T, et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest*. 2014 Oct;124(10):4529-38.
- 20 Mon Père N, Lenaerts T, Pacheco JM, Dingli D. Evolutionary dynamics of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *PLoS Comput Biol*. 2018 Jun;14(6):e1006133.

Recibido en / Received: 12/3/2018
Aceptado en / Accepted: 19/2/2019

Se refiere al doi: 10.5123/S2176-6223201900021, publicado originalmente en portugués.

Traducido por: Lota Moncada

Cómo citar este artículo / How to cite this article:

Brito Júnior LC, Oliveira FR, Cardoso DA, Melo BMS, Nascimento MH, Carneiro DM, et al. Presencia de clones de hemoglobinuria paroxística nocturna en portadores de leucemia aguda del estado de Pará, Amazonia, Brasil. *Rev Pan Amaz Saude*. 2019;10:e201900021. Doi: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-6223201900021>