

participantes é pequeno, sendo necessário uma ampliação do número destes para trazer maior robustez aos achados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.760>

PAPEL DAS VESÍCULAS EXTRACELULARES COMO MARCADORES DE INFLAMAÇÃO E DESFECHOS CLÍNICOS ADVERSOS NO TRANSPLANTE ORTOTÓPICO DE FÍGADO

GLTV Mesquita, CO Vaz, APRD Santos, BC Jacintho, JD Oliveira, APH Yokoyama, BMM Fonseca, FLA Orsi

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

As vesículas extracelulares (VEs) estão presentes em todo o organismo, em geral nos fluidos corporais, e são transmissores intracelulares de sinais biológicos em condições fisiológicas e patológicas. São liberadas por células e carregam os mesmos componentes das mesmas. Suas ações patogênicas se dão principalmente em processos inflamatórios, trombose, doenças degenerativas, e câncer. No transplante ortotópico de fígado (TOF) há um estado inflamatório persistente chamado de lesão de isquemia-reperusão, que é determinado por vários parâmetros, como as condições clínicas dos pacientes e condições do órgão transplantado, podendo levar ao óbito. A associação entre VEs e inflamação durante o TOF não foi investigada em estudos clínicos em humanos até o momento. Desta forma, o objetivo desse estudo é avaliar a associação entre o TOF e a formação de VEs em pacientes submetidos a esse tratamento. Para tal, 90 pacientes submetidos a TOF foram incluídos no estudo. Amostras de sangue foram coletadas no pré-transplante (T1), após a reperusão (T2), e na alta hospitalar (T3). Foram quantificados nessas amostras os seguintes marcadores de VEs por citometria de fluxo: CD14 (monócitos), CD41A (plaquetas), CD62P (P-selectina), CD162 (glicoproteína-1 ligante de p-selectina ou PSGL-1), CD31 (adesão celular endotelial-plaquetária), CD9 e CD81 (tetraspâninas presentes em exossomos). Nas análises estatísticas, o nível de significância foi estabelecido em $P < 0.05$. As variações dos níveis de VEs nos 3 tempos de coleta foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas e os seguintes marcadores apresentaram aumento no T2 (fase de reperusão) com significância estatística: CD162 ($P < 0,0001$), CD31 ($P < 0,0001$), CD41A ($P < 0,0001$), CD9 ($P < 0,0001$), e CD81 ($P < 0,0001$). Avaliamos também a associação entre os níveis de VEs ao final do período cirúrgico e a ocorrência de desfechos adversos (infecção, trombose, rejeição do enxerto, retransplante e óbito). Nesses, o óbito foi o desfecho mais recorrente com relação aos marcadores em T2, sendo significativo em CD162 ($P=0,003$), CD31 ($P=0,01$) e CD9 ($P=0,05$). Neste estudo, identificamos o aumento dos níveis de VEs associadas a ativação de plaquetas e células endoteliais, mas não de monócitos, em pacientes durante o TOF. Além disso, a liberação de VEs associadas a ativação de células endoteliais esteve relacionada ao risco de óbito. Estudos prévios sugerem importante papel das VEs na regulação da resposta imune e da atividade de celular. Nossos resultados apontam para a



participação de VEs provenientes de plaquetas e células endoteliais no processo de inflamação e nos desfechos adversos do TOF. Esses achados contribuem não apenas para o entendimento da fisiopatologia das complicações do TOF, mas também podem representar uma alternativa diagnóstica para a identificação precoce do risco de complicações pós-transplante.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.761>

POTENCIALIZANDO O PAPEL DA CITOMETRIA DE FLUXO NA AVALIAÇÃO DE PACIENTES COM LMA NPM1 MUTADO: IDENTIFICAÇÃO DE SUBTIPOS IMUNOFENOTÍPICOS, CORRELAÇÃO COM FLT3 MUTADO E IMPACTO DA PESQUISA DE DOENÇA RESIDUAL MENSURÁVEL

MC Bruno, MV Goncalves, MCA Silva, YH Maekawa, TT Takao, ADSB Perazzio, ML Chauffaille, AF Sandes

Serviço de Hematologia, Grupo Fleury, Brasil

Introdução: LMA com NPM1 mutado corresponde a 30% dos casos de LMA de novo. Este subtipo é frequentemente associado a LMA mielomonocítica e monocítica e tipicamente aparece em adultos com cariótipo normal. Mutação NPM1 também é detectada em casos de LMA com e sem maturação, sendo associada à presença de blastos com invaginação nuclear (cup-like). Cerca de 40% dos casos apresentam, adicionalmente, a mutação do gene FLT3. Casos de NPM1 mutado com cariótipo normal e ausência de FLT3 apresentam prognóstico favorável. Dessa forma, abordagens diagnósticas que permitam o diagnóstico precoce podem contribuir para melhor estratificação prognóstica desses pacientes. **Objetivos:** O presente estudo tem como objetivo caracterizar o perfil imunofenotípico de pacientes com LMA NPM1 mutado e sua relação com diagnóstico e prognóstico. **Metodologia:** Foram avaliados 67 pacientes com LMA NPM1 mutado entre ago/2011 a mar/2021. Citometria de fluxo foi realizada em todos os casos, sendo utilizado painéis de 8 cores a partir de 2013. Dados de evolução clínica e pesquisa de DRM por citometria após indução foram obtidos em 42 casos, com 18 casos apresentando recaída após tratamento. Como grupo controle, analisamos 10 casos de LPA com t(15;17) e 20 casos de LMA monocítica com ausência de NPM1. Para análise estatística foi utilizado o programa SPSS (versão 25). **Resultados:** A idade mediana foi de 59 anos (18-79a), sendo 37 M e 30 H. Mutação FLT3 ITD foi encontrada em 37% dos casos (23/62) e o cariótipo foi normal em 80% (54/61). De acordo com a classificação imunofenotípica, os casos de LMA NPM1 mutado se dividiram em 3 grupos: LMA com diferenciação monocítica ($n = 28/41,85\%$); LPA-símile ($n = 19/28\%$) e LMA não-LPA ($n = 20/30\%$). O antígeno CD7 foi preferencialmente expresso nos casos de LMA não LPA (13/20), com tendência a associação com mutação FLT3 neste subgrupo ($p=0,08$). Os casos de LPA-símile apresentaram forte expressão de MPO, CD33 e CD13, em associação à ausência de CD34, CD117 e CD15, fenótipo idêntico ao da LPA com t(15;17). O cálculo de granularidade (SSC)



pelo escore de Ogata permite distinguir os dois subtipos, sendo de 1,98 (1,2-2,8) para LMA NPM1 e 5,95 (3,1-8,11) para LPA ($p < 0,001$). Nos casos de LMA NPM1 com componente monocítico, observou-se um padrão anômalo de maturação monocítica em 16/25 casos (64%), com aquisição inicial de CD300e ao invés de CD14 e/ou aquisição inicial de CD14 ao invés de CD36. Além disso o antígeno CD16 foi expresso em 44% dos blastos monocíticos (11/25). O padrão de maturação CD300/CD14 invertido também foi observado em 4/10 (40%) casos de LMA NPM1 não LPA. Nenhum caso de LMA monocítica com ausência da mutação NPM1 apresentou maturação anômala (NPM1mut: 64% vs NPM1wt: 0%, $p < 0,001$). Não houve relação do subtipo de classificação imunofenotípica com a taxa de recaída e tempo de sobrevida livre de progressão (SLP). A pesquisa de DRM pós-indução foi positiva em 8 casos sendo associada à maior número de recaída de LMA (DRM+: 7/8 vs. DRM-: 8/32; $p = 0,001$) e menor tempo de SLP em 3 anos (DRM+: 12% vs. DRM-: 58%; $p < 0,001$). A mutação do FLT3 também foi associada a menor tempo de SLP (FLT3mut: 25% vs. FLT3wt: 52%; $p = 0,006$). **Conclusão:** LMA NPM1 mutado apresenta três principais subgrupos com características morfológicas e imunofenotípicas distintas. A detecção do fenótipo LPA-símile e do padrão de maturação monocítica com inversão do CD300/CD14 são altamente preditivos da presença da mutação NPM1 e podem contribuir para o diagnóstico precoce, reforçando a necessidade de pesquisa de mutação NPM1 neste subgrupo de pacientes. A presença de DRM pós-indução por citometria foi associada a menor tempo de sobrevida livre de progressão.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.762>

RELATO DE CASO – INFILTRAÇÃO DE SISTEMA NERVOSO CENTRAL POR LINFOMA T

BL Scarpato, CMR Franzon, AOM Wagner, ACW Lopes

Laboratório Médico Santa Luzia/DASA,
Florianópolis, SC, Brasil

Objetivos: O objetivo do presente trabalho é descrever um caso clínico de paciente adulto com infiltração por Linfoma Anaplásico de Grandes Células em sistema nervoso central (SNC). **Materiais e métodos – relato de caso:** Paciente de 40 anos, sexo feminino, indicação clínica de suspeita de infiltração de linfoma em SNC. A amostra enviada para avaliação imunofenotípica por citometria de fluxo foi de líquido coletada em meio conservante Transfix. Os protocolos de preparação e marcação da amostra, bem como a compensação do equipamento foram realizados de acordo com o protocolo Euroflow. Os anticorpos monoclonais utilizados para a marcação de amostras eram da marca BD e Coulter e a aquisição da amostra foi realizada em equipamento FACS CANTO II em 8 cores. A análise dos dados foi realizada em software Infinicyt. **Resultados:** O estudo imunofenotípico da amostra de líquido revelou 87% células de grande tamanho por características de dispersão de luz e alta complexidade nuclear, apresentando o seguinte fenótipo: expressão positiva de CD45, CD5, CD43, forte expressão de CD30 e CD25, ainda

ausência de marcadores CD3, CD3citoplasma, CD4, CD8, CD7, CD2. A análise morfológica evidenciou células de aspecto pleomórfico, citoplasma basofílico vacuolizado, núcleo oval, com cromatina moderadamente condensada, heterogênea e nucléolos evidentes. A conclusão do laudo de imunofenotipagem foi sugestivo de Linfoma Anaplásico T de Grandes Células. **Discussão:** O Linfoma Anaplásico T de Grandes Células é caracterizado pela forte expressão de CD30 e em sua grande maioria expressam um ou mais antígenos de células T. No presente caso, além da forte expressão de CD30, o único marcador de linfócitos T expresso foi o CD5. A análise morfológica demonstrando células de grande tamanho aberrantes também foi um fator determinante para a investigação do caso. Embora não seja incomum o envolvimento em sítios extranodais, sua incidência no SNC é muito rara. Este é um linfoma agressivo, mas com o diagnóstico precoce e administração de quimioterapia adequada, a remissão completa pode ser alcançada. **Conclusão:** No presente caso estudado, a análise imunofenotípica foi fundamental para o diagnóstico e classificação da doença. O antígeno CD30 mostrou ser um marcador efetivo para identificação, demonstrando a importância da padronização dos painéis imunofenotípicos no diagnóstico por citometria de fluxo em Linfoma Não Hodgkin T.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.763>

RELATO DE CASO DE LINFOMA NÃO HODGKIN B “DOUBLE HIT” SEM EXPRESSÃO DE CD45 NA CITOMETRIA DE FLUXO E NA IMUNO-HISTOQUÍMICA

LC Bento, MS Passaro, FA Sousa, NM Millan, AC Vaz, AAR Villarinho, PC Myiamoto, BG Nogueira, EX Souto, NS Bacal

Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Descrever um caso de Linfoma de células B de alto grau “double hit” com CD45 negativo. **Materiais e métodos:** Homem, 78 anos, apresentando queixa de lombalgia, há pelo menos 3 meses e sudorese noturna, apresentava linfonodomegalia axilar esquerda e edema do membro superior ipsilateral. O PET-CT revelou massa cava axilar esquerda, focos ósseos, linfonodo mesentérico e formação expansiva intramedular causando estenose do canal vertebral. Hemograma: Hb 14,3 g/dL; Ht 39,7%; Leucócitos 7.500/mm³ (linfócitos = 24,1% - 1808/mm³); Plaquetas 238.000/mm³. O linfonodo axilar foi encaminhado para estudo anatomopatológico (AP), imunohistoquímico (IHQ), imunofenotipagem e FISH. **Resultados:** O estudo imunofenotípico por citometria de fluxo do linfonodo, revelou expressão dos seguintes marcadores: CD5, CD10, CD20, CD22, CD38, CD79a, CD103, CD200, FMC-7, ROR-1, IgG e Kappa. O marcador CD45 foi negativo nesta análise. Os resultados do AP: proliferação de células de núcleos de médio a grande tamanho, com aumento da relação núcleo/citoplasma, cromatina aberta, por vezes com núcleos convolutos e alguns nucléolos evidentes e crescimento expansivo de padrão difuso. A IHQ foi positiva para

