

IMPORTANCE OF FLOW CYTOMETRY IMMUNOPHENOTYPING IN THE DIAGNOSTIC ASSISTANCE OF ACUTE MEGAKARYOBLASTIC LEUKAEMIA

ACP Jesus^{a,b}, ML Dumas^c, FK Marques^a, LAC Teixeira^c, LG Raimundo^{b,c}

^a Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Vespasiano, Brazil

^b Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil

^c Hematologia Especializada, Instituto Hermes Pardini, Vespasiano, Brazil

Acute Megakaryoblastic Leukaemia (AMKL - FAB M7) is a rare hematological neoplasm that affects megakaryocytes. It accounts for 1% to 2% of adult AML cases, with an extremely poor prognosis, resulting in an overall survival of less than one year. While it was classified as AML-M7 by the French-American-British Group in 1985, its diagnosis has become more accurate with the development and application of flow cytometry immunophenotyping. According to the current WHO criteria, the diagnosis is established with the presence of $\geq 20\%$ blasts among nucleated cells in the bone marrow, with $>50\%$ of these being of megakaryocytic lineage, expressing at least one or more of the platelet glycoproteins: CD41 (glycoprotein IIb), CD61 (glycoprotein IIIa), or CD42b (glycoprotein Ib). Between 20% and 30% of patients often present splenomegaly and hepatomegaly, without lymphadenopathy, although superficial lymphadenopathy has been described. Patients exhibit cytopenias, frequently thrombocytopenia, though some develop thrombocytosis. Megakaryoblasts are usually medium to large blasts, with round or slightly irregular or indented nuclei, fine reticular chromatin, and 1 to 3 nucleoli. The cytoplasm is basophilic, often agranular, and may show distinct blebs or pseudopod formation. We report a case of a 22-year-old male patient with fever, prostration, asthenia, dry cough, and abdominal pain radiating to the chest. Physical examination revealed splenomegaly and inguinal lymphadenopathy. The initial suspicion was primary mediastinal lymphoma due to chest imaging abnormalities. The patient had significant alterations in lactate dehydrogenase (LDH) and in complete blood count. The bone marrow was hypercellular, with hypoplasia of the erythroblastic, granulocytic, and megakaryoblastic series, and with the presence of 58.5% medium-sized cells, a high nucleus-to-cytoplasmic (N/C) ratio, euchromatin with presence of, sometimes irregular, nucleoli. Cytogenetic analysis revealed a complex karyotype with various numerical and structural alterations. BCR::ABL1 fusion research was negative. Immunophenotyping analysis showed large and medium-sized blasts with complex cytoplasmic characteristics, expressing myeloid phenotypic markers, and aberrant expression of CD7 and CD56 antigens, as well as CD41 and CD61. The key to diagnosing rare and challenging cases such as adult AMKL lies in correlating patient clinical information with robust laboratory test results that require in-depth knowledge, such as flow cytometry immunophenotyping. Furthermore, in these cases, physicians should have access to these test results as quickly

as possible to make timely and accurate therapeutic decisions.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.332>

LINFOMA T ANGIOIMUNOBLÁSTICO- RELATO DE CASO ÍNDICE E REVISÃO DO PERFIL IMUNOFENOTÍPICO

IS Barbosa, ACB Edir, C Miranda, J Facin, M Castro, MDC Gonçalves, FB Patrício, SK Nabhan, PZ Rebutini, AP Azambuja

Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Objetivo: Descrever um caso raro de linfoma de células T periférico subtipo Angioimunoblástico. **Caso clínico:** Paciente masculino, 83 anos, refere aparecimento de linfonodos em região cervical e axilar bilaterais, associado a episódios febris, perda ponderal (6 kg) além de prurido difuso com pápulas em tronco e membros, há cerca de 5 meses. No estudo radiológico foram encontrados linfonodos em região abdominal, mediastinal, axilares e cervical, sem esplenomegalia. Hemograma apresentava anemia e eosinofilia (Hb 10 g/dL; Leucócitos 9940/uL com eosinofilia (1292/uL) e 299.000 plaquetas). Citometria de fluxo de sangue periférico mostrou 0,8% de células linfóides com fenótipo anormal (menos de 200 células/uL). Realizada avaliação medular, que não apresentava alterações morfológicas, entretanto a análise imunofenotípica mostrou as mesmas células com fenótipo anormal (1,6% de linfócitos com CD3 e CD4 fracos, CD7 e CD8 negativas, porém com CD5, CD2 e CD45RO positivas) A marcação para CD10 também foi negativa. Com a suspeita clínica de neoplasia linfoproliferativa T foi realizada biópsia de linfonodo cervical. A citometria de fluxo do linfonodo mostrou as mesmas células linfóides de baixa complexidade, com fenótipo anormal, porém com positividade para CD2++, CD3++, CD4++, CD5++, CD28++, CD45++, CD45RO++, marcação fraca ou negativa de CD26, CD27, CD28 e positividade para CD259 (PD-1) em parte. A anatomia patológica mostrou proliferação linfóide atípica com proliferando ao redor dos vasos sanguíneos, e a imuno-histoquímica confirmou a suspeita de Linfoma T Angioimunoblástico (CD5 +, CD3+ fraco, CD4 positivo e KI67 superior a 70%). Após tratamento quimioterápico com MiniCHOP percebeu-se melhora significativa nas lesões cutâneas, assim como redução de tamanho de linfonodos palpáveis. **Discussão:** O Linfoma Angioimunoblástico de células T (AITL) é um subtipo de linfoma periférico de células T (PTCL) raro, que apresenta características patológicas e genéticas clínicas únicas, com curso agressivo e alta mortalidade. É responsável por 15-30% dos casos de PTCL e representa cerca de 12% de todos Linfomas não Hodgkin. A patogênese da AITL não é totalmente compreendida, mas suspeita-se que pode estar ligado a infecções virais, como o vírus Epstein-Barr (EBV). Clinicamente, os sintomas mais comuns apresentados são perda de peso não intencional, sudorese noturna, febre e o aparecimento de linfonodomegalias e esplenomegalia; erupções cutâneas observados em 20% a 50% dos pacientes com AITL. O fenótipo da célula do AITL caracteriza-se pela presença de CD3, CD4 e

CD10 positivos, com receptor de células T α - β e perda muitas vezes aberrante de CD5 e/ou CD7. A expressão de CD30 é observada em aproximadamente 20 % dos casos. Histologicamente há alterações morfológicas bastante sugestivas no linfonodo acometido que podem comprovar a suspeita clínica e laboratorial. **Conclusão:** Relatamos um caso raro de Linfoma T Angioimunoblástico em que a células de interesse foram suspeitadas na citometria de fluxo de sangue periférico, e posteriormente confirmadas pelo exame anatomopatológico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.333>

CITOMETRIA DE FLUXO MULTIPARAMÉTRICA DE SANGUE PERIFÉRICO E LINFONODOS COMO AUXILIAR NO DIAGNÓSTICO DE LINFOMA T ANGIOIMUNOBLÁSTICO

AP Azambuja^a, F Gevert^b, DC Oliveira^b, IS Barbosa^a, AP Percicote^b, PZ Rebutini^a, L Costa^b

^aHospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^bHospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR, Brasil

Introdução: O Linfoma de Células T Angioimunoblástico (LTAI) é um linfoma de células T foliculares auxiliares helper (TFH) maduras CD4 positivas, caracterizado por sintomas sistêmicos que podem mimetizar inúmeras outras condições clínicas. O diagnóstico é desafiador e requer uma conjunção de achados clínicos, laboratoriais e histopatológicos. A imuno-histoquímica (IHQ) pode demonstrar os marcadores de células T como CD3, CD2 e CD4, e a frequente perda de marcadores CD5 e/ou CD7. A expressão aberrante de CD10, CD25 e CD279 (PD1) podem auxiliar no diagnóstico diferencial de outros linfomas T. A expressão de CD30 é observada em aproximadamente 20% dos casos. Estes marcadores podem ser detectados pelo exame de imunofenotipagem por citometria de fluxo multiparamétrica (CFM), técnica que permite o encontro de pequenas quantidades de células patológicas. O objetivo deste estudo é descrever uma série de 8 casos de LTAI avaliados por CFM em amostras de biópsias de linfonodos (LN) e sangue periférico (SP). **Métodos:** 273 amostras de LN foram avaliadas entre 2019 e 2023 com o tubo screening LST (CD8, CD56, CD5, CD3, CD38, CD4, CD20, CD45 e cadeias leves kappa e lambda). As amostras com alteração de fenótipo dos linfócitos T eram complementadas por tubos que incluíam os anticorpos monoclonais anti-CD2, CD7, CD10, CD25, CD26, CD27, CD28, CD45RO, CD45R0, CD57, CD94, CD279, receptor TCR gama-delta, e avaliação do receptor do TRCBeta com o clone JOVI1 partir de 2021. **Resultados:** 8 amostras de biópsia de LN apresentaram fenótipo sugestivo de LTAI no período estudado (2,93%). A CFM mostrou percentuais variados de células linfoides anômalas de baixa complexidade, positivas para CD4++, CD3++ e CD2++ em 100% dos casos estudados. O CD7 foi positivo em 6/7 casos, CD5 (5/7 casos), CD28 e CD45RO em 4/7 casos, e marcação fraca ou

negativa de CD26, CD27 e CD45RA em todos os casos. Seis de 7 casos apresentaram positividade de moderada a forte para o antígeno anti-CD279 (PD1) e para CD10, ambos marcadores bastante específicos para o diagnóstico de LTAI. O CD30 foi parcial em 3 casos e o CD25 positivo fraco em todos os casos estudados. Três dos 8 casos foram avaliados pelo TRC Beta e todos eram totalmente negativos (não expressos), portanto clonais. Dos 8 casos estudados, cinco tiveram o SP avaliado previamente ou em conjunto, sendo possível detectar células anômalas em diferentes percentuais (0,2%, 4,0%, 13,0%, 15% e 23%). Todos os casos foram confirmados pelo exame anatomopatológico, com o encontro de infiltrados perivascular e IHQ sugestivos do LTAI. **Discussão:** O LTAI apresenta-se clinicamente com sintomas sistêmicos como linfonodomegalias generalizadas, hepatoesplenomegalia, rash pruriginoso, poliartrite, ascite, anemia e perda de peso. Os pacientes podem apresentar ainda uma disfunção imunológica secundária à neoplasia e hipergamaglobulinemia policlonal. Além do quadro heterogêneo e da dificuldade de suspeição clínica, o diagnóstico histológico também pode ser desafiador, pois os linfonodos perdem sua arquitetura devido ao infiltrado perivascular e neovascularização. Reportamos aqui uma série de 8 casos de LTAI avaliados por citometria de fluxo, sendo que a células de interesse foram documentadas tanto na biópsia de LN quanto no SP. Em pelo menos três dessas amostras de SP coletadas antes da biópsia, o fenótipo encontrado foi decisivo para a definição diagnóstica final. **Conclusão:** A CFM em amostras de sangue periférico e biópsia de linfonodo direcionada para as células linfoides T anormais positivas para CD4, CD10 e CD279 (PD1) pode auxiliar e suportar o diagnóstico do Linfoma T Angioimunoblástico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.334>

USO DOS MARCADORES CD2 E CD25 POR CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO DAS SÍNDROMES DE MASTOCITOSE SISTÊMICA

AP Azambuja^a, F Gevert^b, RO Merhy^b, DC Oliveira^b, Y Schluga^a, L Costa^b, I Menezes^b, R Marchesini^a

^aHospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^bHospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A Mastocitose Sistêmica (MS) é um grupo heterogêneo de doenças caracterizado pela proliferação anormal e acúmulo excessivo de mastócitos em um ou mais órgãos. A pele é mais frequentemente acometida e os sintomas sistêmicos que ocorrem pela liberação de mediadores químicos ou decorrentes de infiltração orgânica. A morfologia da medula óssea mostra mastócitos com morfologia atípica (núcleo ovalado, formato alongado ou disformes, relativamente hipogranulares). A citometria de fluxo multiparamétrica (CFM) identifica e quantifica os mastócitos anormais pela