

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

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

^b Hospital 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, CD45RA, CD45RO, 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 perivasculares 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

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

^b Hospital 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

forte positividade do marcador CD117, expressão de CD203 e autofluorescência, e expressão anômala dos antígenos CD2, CD25 e CD59. Para o diagnóstico é necessária a presença de mastócitos anormais em biópsia tecidual, associados a um critério menor [morfologia atípica no mielograma, CD2 e/ou CD25 positivo na CFM, mutação 816V no C-kit e aumento da triptase sérica], ou três critérios menores. A MS é dividida em MS indolente (MSI) e MS associada a outras doenças hematológicas clonais (MS-DHC). Além dessas subclassificações, há ainda a Leucemia Mielomastocítica Aguda (LMMA), grupo extremamente raro de neoplasias caracterizadas pela presença de blastos com diferenciação mielomastocitária. **Objetivo:** Reportar casos de mastocitose para melhorar o entendimento da fisiopatologia e apresentação clínica deste grupo de doenças. **Métodos:** Análise retrospectiva de 24 casos de MS e 3 LMMA avaliados entre 2018 e 2023 na base de dados do laboratório, e comparação dos achados morfológicos e imunofenotípicos entre os pacientes com os dois tipos de mastocitose (MSI e MS-DHC). MSI (n = 13), idade 64 anos (19-76), sendo 5 com medula hiperplásica/eosinofilia e 8 com medula hipocelular; todas apresentam mastócitos atípicos e granulação aumentada nos granulócitos, aumento de eosinófilos e basófilos. Clinicamente foi reportada anemia ou mielodisplasia prévia em 5 casos, esplenomegalia em 4, e evolução para mastocitose agressiva em 3. MS-DHC (n = 9), idade 62 anos (41-77), sendo 2 LMA t(8;21), 2 LMA relacionadas a mielodisplasia, 2 SMD-EB2, 2 SMD hipoplásicas e uma ARSA, todos com displasia intensa nas três séries hematopoéticas e percentuais variados de blastos e mastócitos anormais. 3 LMMA, idade entre 16 e 58 anos; dois com t(8;21) e uma LMA M4 associada a SMD. **Resultados:** O percentual mediano de mastócitos na MSI foi de 0,15% (0,03 a 2,5%), semelhante ao reportado na literatura em mastocitose e controles normais. Já no grupo MS-DHC a mediana de mastócitos anômalos foi maior (0,7%, variando de 0,4 a 5,6%), com alterações displásicas mais frequentes. O percentual de células precursoras com diferenciação mieloide CD34+ foi 0,6% (0,1% a 0,85%) nas MSI, enquanto em MS-DHC a mediana foi 7,0% (1,5% a 26,4%). Em relação ao imunofenótipo, todos casos de MSI tinham CD25 positivo forte nos mastócitos, e 10 de 13 casos tinham CD2 expresso (CD25++CD2+). No grupo MS-DHC o CD25 foi fortemente expresso em 8 de 9 casos, porém o CD2 foi negativo/fraco em todos os casos (CD25++CD2- ou fraco). Já os casos de LMMA de novo apresentaram uma alta percentagem de mastócitos anormais (entre 4 e 23%), os quais foram considerados como blastos com diferenciação mastocitária (CD117++, CD203+, HLA-DR fraco), porém todos apresentaram CD2 e CD25 negativos/fracos. **Conclusão:** Apesar de não dispormos no serviço dos exames de dosagem da triptase ou mutação do cKit, consideramos que a presença de mastócitos fenotipicamente anormais na CFM associados a morfologia atípica são altamente sugestivos da doença. Assim, a expressão dos marcadores CD2 e CD25, o percentual de mastócitos anômalos e blastos, e história prévia de displasia medular são de grande auxílio no diagnóstico diferencial entre os subtipos de mastocitose sistêmica.

PESQUISA DE HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA EM PACIENTE COM AUSÊNCIA DE EXPRESSÃO DE CD157: RELATO DE CASO

NA Marcondes, MS Vieira, LS Martínez, FB Buttow, DCS Baranzelli, FB Fernandes

Laboratório Zanol, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma desordem hematológica rara causada por uma mutação somática no gene PIG-A. Essa alteração acomete as células-tronco hematopoéticas, causando a deficiência de proteínas ligadas ou ancoradas ao glicosilfosfatidilinositol (GPI) na superfície celular. A imunofenotipagem por citometria de fluxo (ICF) é o método mais apropriado para identificar células deficientes em GPI em paciente com suspeita de HPN, devendo avaliar os neutrófilos e, no mínimo, mais uma linhagem celular. A análise imunofenotípica pode ser realizada com os marcadores glicoforina A, CD45, CD64 e CD15, para identificar as populações celulares avaliadas, e com marcadores ligados ao GPI: aerolisina fluorescente (FLAER), CD157, CD59, CD14, CD16 e CD24. Os marcadores CD157 e FLAER permitem a avaliação simultânea de monócitos e neutrófilos. O diagnóstico de HPN requer a perda de duas estruturas ligadas a GPI nas linhagens de neutrófilos e monócitos. **Objetivos:** Relatar pesquisa de hemoglobinúria paroxística noturna em paciente com ausência de expressão de CD157 por imunofenotipagem por citometria de fluxo. **Relato de caso:** Paciente masculino, 72 anos, apresentando anemia (hemoglobina: 8,6 g/dL), encaminhado para pesquisa de HPN. Foi realizada ICF com os marcadores CD59 e glicoforina A para avaliar a população de hemácias e FLAER, CD157, CD15, CD64 e CD45 para avaliação de monócitos e neutrófilos. Os leucócitos expressavam FLAER, entretanto, a expressão de CD157 (clone SY11B5) foi negativa em todos os leucócitos, sendo confirmada em nova marcação. As hemácias expressavam normalmente CD59, assim como os monócitos possuíam expressão de CD14 e os neutrófilos de CD16 e CD24. Desta forma, a pesquisa de HPN do paciente foi considerada negativa. **Discussão e conclusão:** Raros casos de paciente sem HPN com expressão negativa ou heterogênea de CD157 já foram descritos e, apesar de não haver um entendimento consolidado sobre sua causa, alguns estudos apontam que este fenômeno pode estar associado a diferentes razões, como um polimorfismo na molécula de CD157 não detectado pelo clone de anticorpo SY11B5, com o uso de medicamentos, origem asiática e/ou positividade para o antígeno de superfície da Hepatite B. Tendo isso em vista, o presente relato reforça a necessidade da avaliação de pelo menos dois marcadores em neutrófilos e monócitos para a correta detecção de clones de HPN. Além disso, também sinaliza a possibilidade de ausência de expressão de CD157 pelos leucócitos, que sozinho não implica em diagnóstico de HPN, desde que os demais marcadores testados sejam expressos normalmente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.336>

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.335>