

as células T patológicas de células reacionais e também pela limitação dos testes de clonalidade atualmente disponíveis. O TCRB1 trata-se de um anticorpo monoclonal específico para a região 1 da constante da cadeia Beta do receptor de células T TCR, detectando populações clonais de células T TCRab positivas. O objetivo do presente trabalho é relatar a experiência de dois casos de análise imunofenotípica com doenças linfoproliferativas de células T TCRab+ com a inclusão do anticorpo TCRB1 no painel linfoproliferativo T. **Materiais e métodos:** O painel linfoproliferativo T utilizado na rotina baseado no protocolo Euroflow teve a incorporação de um tubo adicional com o objetivo de melhorar a sensibilidade do teste. O tubo teve a inclusão do anticorpo TCRB1 na cor PE associado com os marcadores âncora CD45V500, CD3PerCpcy5, CD4V450 e CD8APCH7. **Relato dos casos-caso 1:** Paciente de 61 anos, sexo feminino, indicação clínica de linfocitose em hemograma com predomínio de linfócitos granulares. A amostra enviada para avaliação imunofenotípica foi de sangue periférico. **Caso 2:** Paciente de 55 anos, sexo masculino, indicação clínica de linfonodomegalia e suspeita de linfoma. A amostra enviada para avaliação imunofenotípica foi biópsia de linfonodo. **Resultados** **Caso 1:** Amostra de sangue periférico apresentava 60% de células de linhagem T, expressando fortemente marcador CD3 no citoplasma, expressão positiva de CD4, CD2 e marcadores NK: CD56, CD16 e Perforin citoplasma, fraca expressão de CD3 na membrana, CD8, CD5, TCR alfa/beta e expressão parcial de CD7. Observado também expressão positiva restritiva de TCRB1, indicativo de clonalidade do receptor TCR. A conclusão do laudo foi de Leucemia de Células T Grandes e Granulares. **Caso 2:** Amostra de biópsia de linfonodo apresentava 22% de células de linhagem T com fraca expressão de CD3 de membrana, CD4, CD5 e TCR alfa/beta, expressão positiva de CD2 e PD1 e ausência de CD7 e CD8. Observado também expressão positiva restritiva de TCRB1, indicativo de clonalidade do receptor TCR. A conclusão do laudo foi Síndrome Linfoproliferativa Crônica de Células T. **Discussão:** O TCRB1 detecta populações clonais de células T TCRab positivas, nos casos em que sua expressão é monotípica, ou seja, sua aplicação e similar a restrição de cadeia leve para imunoglobulina na detecção de linfoproliferações de células B. Nas células normais T CD3+ TCRab+, a expressão desse marcador é polipéptica, ou seja, cerca de 50% da população normal tem expressão positiva para esse marcador e a população negativa (que expressão a região 2 da constata da cadeia beta) aproximadamente com o mesmo percentual. Estudo recentes, demonstraram alta especificidade desse teste para clonalidade, desde que associado com um painel linfoproliferativo ampliado e padronizado. Os presentes casos, demonstraram boa correlação para amostras em sangue periférico e biópsia de linfonodo. **Conclusão:** As doenças linfoproliferativas T persistem como um desafio diagnóstico, devido a dificuldade de um teste simples para avaliação de clonalidade. No presente caso, a inclusão do anticorpo TCRB1 ao painel linfoproliferativo padronizado baseado no protocolo Euroflow aumentou a especificidade do teste para diagnóstico de doenças linfoproliferativas T, sendo um método de rápida execução e com um custo compatível a rotina laboratorial.

## REFERÊNCIA

1. Horna P, Shi M, Olteanu H, Johansson U, et al. Emerging role of cell receptor constant/chain-1 expression in the flow cytometric diagnosis of t-cell malignancies. *Int J Mol Sci.* 2021;22:1817.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.759>

## NEUTRÓFILOS DE BAIXA DENSIDADE (LDNS) EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME



BC Leal <sup>a,b</sup>, E Moritz <sup>a</sup>, MS Figueiredo <sup>a</sup>,  
AF Sandes <sup>a,b</sup>, JO Bordin <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup> Grupo Fleury, Brasil

**Introdução:** Os neutrófilos são células efectoras importantes do sistema imune inato e correspondem às células mais frequentes do sangue humano. De acordo com o gradiente de densidade, os neutrófilos podem ser classificados em duas subpopulações: neutrófilos de alta densidade (HDNs) e neutrófilos de baixa densidade (LDNs). Estudos mostram que, em condições inflamatórias, ocorre um aumento de neutrófilos LDNs e que estes apresentam uma maior capacidade promover inflamação. **Objetivos:** Analisar quantitativamente as subpopulações de neutrófilos de pacientes com Doença Falciforme em comparação aos indivíduos saudáveis. **Materiais e métodos:** Foram coletadas amostras de sangue periférico de 17 pacientes com doença falciforme e 8 indivíduos saudáveis. As amostras obtidas foram utilizadas para a dosagem de hemograma e separação das subpopulações em duas camadas por gradiente de densidade em protocolo com Ficoll. As subpopulações leucocitárias foram avaliadas nos dois gradientes de densidade por citometria de fluxo de oito cores, utilizando os anticorpos CD13, CD11b, CD16, CD45 e CD177. A análise estatística foi realizada pelo programa SPSS. **Resultados:** Na camada de baixa densidade, pacientes com Doença Falciforme apresentaram maior número de LDNs em comparação com o Grupo Controle (3,85% vs. 0,18%; p=0,001). De acordo com a maturação neutrofilica, o compartimento de LDNs na Doença Falciforme é composto por um maior número de LDNs maduros (CD13+/CD16+/CD11b+) em comparação ao Grupo Controle (69% vs. 6,28%; p=0,011), enquanto o número de neutrófilos imaturos está reduzido (30,1 vs. 93,7%; p=0,011). O número de monócitos na camada de baixa densidade também foi superior na Doença Falciforme (35,9% vs. 26,8%). **Discussão:** Nossos resultados mostram um aumento de neutrófilos de baixa densidade nos pacientes com Doença Falciforme. Estudos recentes associam o aumento do número de LDNs em doenças inflamatórias, como o de Li et al (2019) em pacientes com Síndrome Trombocitopênica associada a Febre Elevada e Ramanathan et al (2017) em pacientes com Artrite Idiopática Juvenil. **Conclusão:** Os achados preliminares neste estudo sugerem que a elevação da subpopulação de neutrófilos LDN na Doença Falciforme pode estar associada ao modelo inflamatório proposto por Jablonska et al em 2017. Entretanto, o número de

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 à 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)

