

através de um amplo painel de marcadores e do sistema de pontuação proposto diagnosticá-los fenotipicamente. A triagem foi realizada com o protocolo Euroflow - tubo 1 para Síndrome Mielodisplásica / Leucemia Mieloide Aguda (LMA) e *Acute Leukemia Orientation Tube* (ALOT). Nos casos 1 e 3 (blastos com expressão fraca ou negativa de HLA-DR e fraca expressão de CD13, CD117), o painel foi estendido para LLA-T. Nos casos 2 e 4 (blastos HLA-DR, CD13 e CD117 positivos), o painel foi estendido para LMA. **Conclusão:** Mesmo marcados com diferentes painéis, os 4 casos foram inequivocamente classificados como ETP-LLA com auxílio do sistema de pontuação, sendo utilizados 45 a 48 marcadores por paciente. Demonstra-se portanto que é possível, e necessário, pela gravidade e pior evolução, diagnosticar as ETP-LLA com os painéis já utilizados habitualmente na rotina dos laboratórios de citometria de fluxo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.319>

ESTUDO RETROSPECTIVO DO FENÓTIPO DAS LEUCEMIAS AGUDAS COM SWITCH DE LINHAGEM NO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE SANTA CATARINA (HEMOSC)

AOM Wagner, MDH Périco, AO Ferri, FC Delagnello, LC Bortoluzzi, RS Kalfeltz, PGB Prim

Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC), Florianópolis, SC, Brasil

Objetivos: Descrição de 2 casos de leucemias com Switch de linhagem, diagnosticados no HEMOSC. **Resultados:** Caso 1: 1a5m, amostra de sangue periférico (SP) com 86% de células imaturas (CD45+dim) com sinais de diferenciação a monócitos (CD64+ CD4+ CD36+ CD11b-/+) e aberrância fenotípica (NG2+ CD19-/ CD123+) - diagnóstico Leucemia Aguda de Linhagem Monocítica. Estudos citogenético e molecular não realizados (indisponíveis no serviço SUS onde a paciente foi tratada). Iniciado protocolo St Jude 2002 – 1 indução e 3 consolidações – doença residual mensurável (DRM) por citometria, de controle após esses ciclos abaixo de 0,1%; 6m após apresentou recidiva isolada em sistema nervoso central (SNC) com 99% de blastos linfoides B (CD45+dim CD19+ CD10-/ CD22+) e avaliação de medula óssea (MO) negativa. Tratamento substituído por BFM; após 4m 2ª recidiva em SNC, agora associada à recidiva medular com blastos de Leucemia Linfoblástica Aguda B (LLA-B). Protocolo modificado para R3; manteve MO com blastos linfoides B, e SNC variando entre positivo e negativo. Após 1a6m do diagnóstico apresentou troca de linhagem em amostra de MO com 18% de blastos (CD45+dim CD64+ CD15++ CD33++ CD19+dim CD22(-) NG2+), novamente com derivação à linhagem mieloide, e liquor com 70% de blastos linfoides B. Reiniciado protocolo R3 associado a Bortezomib. Após 3m do protocolo seguia com LLA-B em SNC e MO. Óbito por sepse durante nova tentativa de indução. Caso 2: 9m, SP com 82% de células imaturas (CD45-/ +dim) linfoides B (cyCD79A+ CD19+) com alterações de fenótipo (CD73+ CD304-/ + NG2-/ +) - diagnóstico de LLA-B. Cariótipo 46XY [20];

BioMol rearranjo MLL; avaliação SNC: 76% de blastos linfoides B. Iniciado protocolo Interfant - após bloco MARMA DRM 0,02%. Iniciou Blinatumumab com resposta; submetido a TMO Alogênico não aparentado; 4m após recidiva da doença sem resposta a 2 ciclos de Blinatumumab - iniciado protocolo R3+Bortezomib; nesse momento apresentou switch de linhagem com blastos derivando à linhagem monocítica (CD45+dim CD64+ CD15+ CD33+ NG2+) - trocado tratamento para azacitidina e Venetoclax 2 cursos, seguido de terapia com CAR-T cell. Apresentou uma 4ª recidiva com óbito. **Discussão:** Leucemias com switch de linhagem ao longo do tratamento são extremamente raras, mais frequentes na infância e normalmente associadas à presença do rearranjo do KMT2-A. A transdiferenciação é uma forma de reprogramação dos progenitores hematopoiéticos, que passam a apresentar diferenciação a uma linhagem distinta, sendo mais observada a mudança de precursor linfóide B para precursor mieloide. Nos casos apresentados tivemos mudança de linhagem mieloide para linfóide B, primeiramente em SNC e após medular, e no segundo caso switch Linfóide B para Mieloide em MO. **Conclusão:** Apesar da complexidade dos casos descritos, sabe-se que a presença do rearranjo KMT2A está ligada à transdiferenciação das células progenitoras, e pode ser associada à expressão de NG2 nos blastos, marcador detectado por citometria de fluxo. Sendo assim, o estudo molecular das leucemias NG2+ é primordial para a estratificação de gravidade destes pacientes e programação de terapia.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.320>

LINFOMA T/NK – RELATO DE CASO

MDH Périco, RF Cardoso, AOM Wagner, AO Ferri, FC Delagnello, LC Bortoluzzi, RS Kalfeltz, PGB Prim

Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC), Florianópolis, SC, Brasil

Objetivo: descrever caso de paciente jovem com diagnóstico de Linfoma T/NK. **Resultados:** Masc., 42a, inicia com linfonomegalia cervical e inguinal. Submetido a PET-CT em 28/04/23: linfonomegalias nas regiões inguinais, ilíacas, pericavais, paraaórtica esquerda, retrocraurais, em hilos pulmonares e diversos compartimentos do mediastino, axilares e cervicais, além de hipermetabolismo difuso na medula óssea e esplenomegalia. Realiza biópsia de linfonodo inguinal em 05/05/23 – Imunohistoquímica liberada em 21/05/23 – Células patológicas positivas para BCL2 CD10 CD4 CD5 CD7 CD8 Tdt, KI67+100%, CD3+ difuso, padrão citoplasmático. Evoluiu com piora progressiva do quadro clínico e pancitopenia. Coletado aspirado de medula óssea em 26/05/23 para Imunofenotipagem, apresentando: - 15% de células linfoides T (CD3++) MADURAS (CD45++) POLICLONAIS: . 3,8% CD4+ TCR ALFA/BETA+ (TCRCBETA1+ 50% - REF NORMAL 15 A 85%); . 8,8% CD8 + TCR ALFA/BETA+ (TCRCBETA1+ 20%); . 0,5% CD8+ TCR GAMA/DELTA+; . 1,3% CD4+CD8+ TCR ALFA/BETA+ (TCRCBETA1+ 30%); . 0,6% duplo-negativos: 0,1% TCR ALFA/BETA+ E 0,5% TCR GAMA/DELTA+ - 4,1% de células NK CD56+ CD3(-) CD8-/ + CD4(-); - 11,3% de células linfoides maduras

(CD45++) CD8+, com expressão parcial de CD4 e de CD3 de superfície, expressão de CD3 citoplasmático (CADEIA EPSILON), de marcadores T (CD2 CD5 CD7) e de antígenos citotóxicos / NK (CD56+ CD16-/+ CD94+ PERFORIN+ - PERFIL NK ESTÁGIO 4 - CD56++ COM CD16-/+ E CD57 NEGATIVO), fenótipo de células T efectoras (CCR7 negativo CD27-/+ CD28-/+ CD45RA+ homogêneo), sem expressão de TCRS (TCR ALFA/BETA, CBETA1 e GAMA/DELTA negativos). Antígenos negativos: CD25 CD57 CCR7 CD11C CD45RO CD1A CD117 CD30 HLADR TDT CD10 (estes 2 últimos foram positivos na Imunohistoquímica). Nesse momento apresentava lesões de pele em face e tronco, com necrose de extremidades (asa do nariz), teve piora do quadro clínico e foi submetido à intubação orotraqueal. Amostra de líquido também infiltrada por células T/NK. Os achados fenotípicos associados ao quadro clínico levaram à conclusão diagnóstica de Linfoma de Células T/NK. Paciente não apresentou melhora clínica, evoluiu com Mucormicose e foi a óbito. **Discussão:** As doenças linfoproliferativas crônicas de linfócitos T e de células NK representam menos de 10% das doenças linfoproliferativas. Além da sua raridade, os maiores obstáculos à sua identificação e caracterização têm sido a diversidade e complexidade fenotípica destas células. Os linfomas de células T/NK extranodais são mais comuns em homens adultos (média de idade 44-54 anos), originam-se de células NK (ou em alguns casos de linfócitos T citotóxicos), e causam extenso dano vascular com necrose proeminente. Têm forte associação com infecção por Vírus Epstein-Baer (EBV), e envolvem trato aerodigestivo superior (principalmente cavidade nasal), pele e linfonodos. É um linfoma altamente agressivo, com baixas taxas de sobrevida e resposta pobre ao tratamento. **Conclusão:** A citometria de fluxo foi indispensável na elucidação diagnóstica, na separação das subpopulações T e NK normais e patológicas da amostra, e na rápida definição de linfoma com curso clínico grave e agressivo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.321>

IMMUNOPHENOTYPING PANEL REPOSITIONING: NEW WAYS TO ANALYZE ACUTE MYELOID LEUKEMIA BIOMARKERS AND THEIR RELEVANCE

CK Dias^a, HC Alves^a, MFGM Fernandes^b,
AN Sant'ana^a, MG Farias^b, AP Alegretti^b,
PP Silva^b, LE Daudt^b, AA Paz^b,
MB Michalowski^b, F Figueiró^{a,c}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas: Bioquímica, Universidade Federal do Rio
Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

^b Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto
Alegre, Brazil

^c Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências
Básicas da Saúde (ICBS), Universidade Federal do
Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

One of the greatest obstacles in the treatment of Acute Myeloid Leukemia (AML) is relapse, occurring in 40-50% of

younger patients and most elderly patients. The Leukemia Stem Cells (LSCs) model suggests that only a small population of cancer cells is responsible for treatment resistance and recurrence. This phenotype is characterized by cells capable of persevering through treatment and reconstituting the different neoplastic populations. Over the years many have suggested that only CD34+CD38- leukemia cells could be LSCs, however, there has been controversy in the field and some have suggested that CD34+CD38+ could also present these characteristics. In a more recent time frame, CD123 is another marker that has been consistently associated with LSCs in AML. Currently, the immunophenotyping panels available for diagnosis and MRD (recently updated as measurable residual disease) detection focus solely on the detection or not of blasts (abnormal/neoplastic cells in the bone marrow). These strategies do not take into account valuable information regarding the biomarkers expression profile of each patient. In this context, we propose a new set of AML blast cells analyses format by repositioning the already world-widely used Euroflow panel for AML diagnosis and MRD detection. We performed a retrospective study with 262 patients diagnosed with AML (primarily) in the Hospital de Clínicas de Porto Alegre since 2015 (GPPG 2021-0512 and CAAE 53043421700005327) when the Euroflow panel was implemented. The immunophenotyping "FCS" files were reanalyzed in order to identify CD34+, CD123+, CD34+CD123+, CD34+CD38-, CD34+CD38+, CD34-CD38+ and CD34-CD38- blast subtypes. The blasts were identified as SSClowCD45-/dim and all other cell populations were excluded by CD45/CD117/HLADR/CD38 markers, mainly. Considering the hierarchical panel proposed by the Euroflow, some analyses could be done with more patients than others. That is the case for the CD34+ blasts detection, it was possible to perform this analysis for the grand majority of patients at diagnosis, first MRD (approximately 28 days after diagnosis/start of treatment) and second MRD (when available). Following, the CD34CD38 analysis could be performed with approximately half of the patients, especially the most recent ones (as the panel suffered some improvements throughout the years). The CD123+ and CD34+CD123+ subtypes were identifiable in a much smaller number of patients, due to the tube containing CD123 in the panel being the last one, meaning it is rarely needed to close the diagnosis. Also due to that, this subtype was mostly identifiable in diagnosis and not in MRDs. We will associate the presence or absence, and percentage, of each subtype to clinical outcomes such as MRD positivity and overall survival. We will also evaluate if any of the subtype's presence correlates with other known alterations in AML that define worse or better prognosis. With this work, we expect to answer which LSC-suggested phenotypes actually impact patients clinically. This approach could be beneficial for many patients, especially those living in low-income countries, that do not have access to top-of-the-line diagnosis and MRD detection methods (such as NGS) as its application can be extremely easy in places that already use Euroflow immunophenotyping protocols.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.322>