

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um tipo de leucemia aguda genética e molecularmente bem definida que é curável, mas tem uma mortalidade precoce frequente devido a sangramento. Portanto, há uma necessidade de uma triagem diagnóstica rápida para iniciar a terapia apropriada. A citometria de fluxo multiparamétrica (MFC) geralmente é realizada em todos os tipos de leucemias mieloides agudas (LMA), mas apenas algumas características foram descritas como sendo características da LPA. **Objetivo:** desenvolver um algoritmo de diagnóstico baseado na intensidade de expressão de vários antígenos examinados pelo MFC na LMA que possam discriminar de forma confiável entre a LPA e os outros tipos de LMA. **Material e métodos:** LMAs consecutivamente diagnosticadas e tratadas em nossa instituição nos últimos 2 anos entraram no estudo. A imunofenotipagem foi incluída na investigação diagnóstica. Foi utilizada uma plataforma de 8 cores baseada nas recomendações da Euroflow. A intensidade média de fluorescência (MFI) de cada antígeno testado foi avaliada e as que melhor discriminaram entre LPA e todos os outros tipos de LMA foram obtidas por uma análise discriminante. As características fenotípicas dos mieloblastos normais, extraídas de exames de MFC da medula óssea (BM) realizados para o diagnóstico de citopenias, foram utilizados como controle. **Resultados:** 24 casos de LPA e 56 casos de outra LMA primária entraram no estudo. Idade média: 39 (23–56) e 62 (26–81) anos, respectivamente. Em relação aos grupos de risco da ELN de casos não relacionados a LPA, 13 eram de risco favorável, 26 eram intermediários e 9 eram de risco adverso. Em 8 casos, a avaliação de risco não foi possível realizar devido à ausência de citogenética. Além disso, entre os pacientes com LPA, 7 casos apresentaram uma mutação no FLT3-ITD. Entre os LMA não LPA, 4 tiveram mutação FLT3-ITD, 4 tiveram NPM1 e 10 tiveram mutação FLT3-ITD e NPM1. Em relação à expressão do antígeno, o CD34 foi expresso em apenas 1/24 amostras de APL e em 18/56 amostras de LMA não-LPA. As seguintes características de fluxo foram expressas diferencialmente nos dois grupos: SSC ($p < 0,0001$), CD45 ($p = 0,02$), CD13 ($p = 0,001$), CD64 ($p = 0,004$), HLA-DR ($p < 0,0001$) e CD33 ($p < 0,0001$) (tabela 1). Na análise discriminante, MFI CD34 e MFI HLA-DR foram capazes de classificar com precisão LPA e LMA não-LPA em apenas 62,5%. No entanto, após a adição da razão do SSC entre blastos e linfócitos, esses três parâmetros foram capazes de diferenciar LPA de LMA não-LPA em 91,2% dos casos. **Conclusão:** O MFC foi adequado para uma triagem rápida de LPA na maioria dos casos. A expressão de CD34 não foi muito útil, pois muitas LMAs não expressam esse antígeno, semelhante ao LPA, mas o SSC, juntamente com o HLA-DR, poderia discriminar ambos os tipos de leucemia na maioria dos casos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.748>

747

IMUNOFENOTIPAGEM DE PLASMÓCITOS ANÔMALOS: DISCRIMINAÇÃO PELA INTENSIDADE MÉDIA DE FLUORESCÊNCIA (MFI)

H.V. Araújo^a, M.R. Ioshida^a, A.M.O. Facchinelli^a, I.Y. Takihi^a, E.N. Ferreira^a, C.M. Lopes^a, J.M. Real^b, N.S. Bacal^{a,c}

^a Centro de Hematologia de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^b Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP, Brazil

^c Beneficente Israelita Brasileira Hospital Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil

Objetivo: A citometria de fluxo (CF) é ferramenta importante no diagnóstico e monitoramento de neoplasias de células plasmocitárias. Essa metodologia diferencia plasmocitose reacional de neoplasia, auxilia na avaliação da progressão de Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado (GMSI) para Mieloma Múltiplo (MM), e quantifica doença residual mínima (DRM). Comparada à citomorfologia, a CF apresenta maior sensibilidade, porém observa-se discrepância no número de plasmócitos, com menor porcentagem na CF, explicada em parte pelas características do plasmócitos e por aspectos pré-analíticos. Os plasmócitos normais apresentam fenótipo CD45+, CD38+, CD138+, CD19+, CD56-/fraco, CD81+, CD117-, CD27+, cIg policlonal. É possível observar, especialmente na GMSI e na pesquisa de DRM para MM, a presença de duas populações plasmocitárias diferentes, geralmente uma com fenótipo normal e outra com fenótipo anômalo. Nosso objetivo é avaliar o poder de discriminação dos marcadores CD19, CD27, CD38, CD45, CD56, CD81, CD117 e CD138, pela intensidade média de fluorescência (MFI), comparando duas populações plasmocitárias na mesma amostra, dentre elas uma normal e uma anômala. **Materiais e métodos:** Foram analisados 20 casos com presença de plasmócitos anômalos. O critério para inclusão foi presença de no mínimo 0,1% de células plasmocitárias anômalas, e > 100 eventos em cada população plasmocitária, em amostra de medula óssea detectada por CF. Nos casos avaliados, foi possível distinguir duas populações de plasmócitos, sendo uma delas com fenótipo normal e a outra anômala. Por fim, avaliou-se o MFI de cada marcador nas duas populações plasmocitárias. Todos os casos foram avaliados por CF, utilizando os seguintes anticorpos: cyLambdaFITC, cyKappaPE, CD56ECD, CD138PC5.5, CD27PC7, CD117APC, CD19A700, CD38A750, CD81PB e CD45KO. Os dados foram analisados em citômetro Navios e software Kaluza. Para a análise da distribuição dos dados, utilizou-se o software estatístico R. **Resultados:** Dos 20 casos analisados, 55,6% dos pacientes eram do sexo feminino. A mediana de idade foi de 65,5 anos (37–87). Ao avaliar o MFI dos marcadores por representação gráfica em boxplot, observou-se que no geral houve uma menor dispersão dos dados nas populações plasmocitárias anômalas, enquanto nas populações normais os valores do MFI se apresentam com maior dispersão. Com exceção do CD81, os demais marcadores apresentaram valores sobrepostos entre a população normal e a anômala. O CD56 apresentou baixa dispersão dos dados nas populações



normais, porém maior frequência de outliers nas populações anômalas. O CD81 apresentou maior poder de discriminação de populações anômalas, com menor dispersão dos dados nas duas populações plasmocitárias e sem sobreposição de valores entre população normal e anômala. **Conclusão:** Embora a quantificação de células plasmocitárias por CF possa ser subestimada, os dados obtidos por essa metodologia são de grande importância no diagnóstico e monitoramento de neoplasias de células plasmocitárias. Cada vez mais se discute a importância da detecção da DRM em MM, sendo considerada fator de prognóstico importante para prever recaída. Dessa maneira, a escolha de um painel de anticorpos que seja efetivo na detecção de pequenas populações anômalas residuais, se torna primordial. Concluiu-se que o marcador CD81 tem maior poder de discriminação entre populações plasmocitárias anômalas e normais, sendo útil nos estudos de DRM ou de pequenas populações plasmocitárias anômalas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.749>

748

RELATO DE CASO: IDENTIFICAÇÃO CARACTERÍSTICA DE NEOPLASIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDES BLÁSTICAS



L.V. Corrêa, M.T. Carvalho, T.P. Pissurno, L.C. Barroso, D.M. Terra, E.C.F. Deus, E.M. Fontes

Fundação Pró-Hemorio, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Introdução: A Neoplasia de Células Dendríticas Plasmocitoides Blásticas (NCDPB) é uma doença hematológica rara, classificada em 2016 pela Organização Mundial de saúde como leucemias agudas e neoplasias derivadas de precursores hematopoiéticos mielóides. A forma leucemizada da doença representa menos de 1% das leucemias agudas, além de ser mais frequente em homens maiores de 50 anos. É uma doença clinicamente agressiva, com prognóstico desfavorável e uma sobrevida de menos de 2 anos.¹ **Materiais e métodos:** A imunofenotipagem foi realizada em um citômetro de fluxo multiparamétrica, do modelo FacsCalibur com 4 fluorescências. A amostra de medula óssea foi marcada pelos seguintes anticorpos: CD45, CD3, CD4, CD8, CD10, CD13, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD33, CD34, CD36, CD56, CD64, CD117, CD123, HLADR, IREM2. **Resultado e relato de caso:** Paciente de 23 anos do sexo masculino, com pancitopenia, dor óssea e sem envolvimento cutâneo. A amostra de medula óssea foi coleta em Julho de 2020 para investigação de Leucemia Linfóide Aguda no Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti. O hemograma evidenciou quadro de pancitopenia com valores de hemoglobina: 5.31 g/dL (VR: 12.8–17.8 g/dL), hematócrito: 15.1% (VR: 39%–53%), plaquetas: 80.2 mil/mm³ (VR: 140–360 mil/mm³). LDH: 1246 U/L (VR: 230–460 U/L). A análise por citometria de fluxo medula óssea demonstrou a presença de 68% de precursores neoplásicos. A expressão de CD45 de baixa a média intensidade e expressão dos marcadores CD4+, CD56+, HLADR+, CD123+ (forte) e CD117 (Parcial). Ausência de expressão do marcador CD3, CD8, CD10, CD13, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD33, CD34, CD64, IREM2. A celularidade das outras

populações encontradas foi: Linfócitos T: 16,6% (CD4: 9,5%; CD8: 6,62%), Linfócitos B: 6,8% maduros, Células NK: 5,6%, Neutrófilos: 5,6%, Raros monócitos e eritroblastos. **Discussão:** Para o diagnóstico de NCDPB é indispensável a utilização da técnica de imunofenotipagem. Inicialmente, a doença é caracterizada pela expressão de CD4+ e CD56+, o diagnóstico é confirmado pela coexpressão de CD123 e de HLADR. Os marcadores de NCDPB assemelham se com a marcação de células dendríticas plasmocitoides, porém com a expressão atípica de CD56, o que caracteriza a neoplasia. Por definição, em NCDPB não há marcadores de linhagem específico, contudo, há relatos de expressão de CD33, CD5, CD7, incluindo, CD117.¹ A análise morfológica do aspirado de medula óssea demonstrou hipocelularidade com presença de blastos. Citoplasma sem grânulos com presença de vacúolos e expansões citoplasmáticas em formato de pseudópodes. O paciente apresenta quadro de trombocitopenia e neutropenia. Não há um tratamento satisfatório, já que a doença é resistente à quimioterapias convencionais. Recentemente, imunoterapias dirigidas a anti CD123 e o inibidor de BCL-2 venetoclax mostraram resultados promissores no tratamento.² O caso relatado apresenta Imunofenotipagem sugestiva de Neoplasia de Células Dendríticas Plasmocitoides Blásticas. Para um diagnóstico definitivo seria interessante correlacionar com a citogenética.

Referências:

1. Sales MM, Vasconcelos DDM. Citometria de fluxo: aplicações no laboratório clínico e de pesquisa. SPPPC. 2013.
2. Sapienza MR, Pileri A, Derenzini E, Melle F, Motta G, Fiori S, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: State of the art and prospects. *Cancers*. 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.750>

749

RELATO DE TRÊS CASOS DE LEUCEMIA LINFOCÍTICA DE CÉLULAS T LARGE GRANULAR TCRδ+ (LGLL TCRδ+)



F.V.R. Maciel^a, A.C. Carvalho^a, T.R. Santos^a, D.P.T. Souza^a, L.P. Lima^a, E. Sekiya^b, A.A. Silva^c

^a Techlife Cell Technology Center, Brasil

^b IEP Hemomed - Instituto de Ensino e Pesquisa, São Paulo, SP, Brasil

^c Hemocentro São Lucas, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Objetivo: Relatar três casos de LGLL TCRδ+ recebidos em um Laboratório especializado em diagnósticos em Hematologia e Oncologia ressaltando a importância da imunofenotipagem no diagnóstico e de considerá-la no diagnóstico diferencial de neutropenias a esclarecer. **Pacientes e resultados:** No período de 25/05/19 a 08/05/20 recebemos no Laboratório 3 pacientes do sexo feminino em investigação de neutropenia. Caso 1. UMA, 84a. Queixa de fadiga. Hemograma (HG): Hemoglobina (Hb): 12,1 g/dL, Leucócitos (Leu): 1800 mm³ (Neutrófilos N: 463/Linfócitos Ly: 985) e plaquetas (Pla)