



II SIMPÓSIO BRASILEIRO DE CITOMETRIA DE FLUXO - GBCFLUX 2023

AUMENTO DE CÉLULAS ESTROMAIS ENDOTELIAIS EM PACIENTE COM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE PRECURSOR B DE MAU PROGNÓSTICO

Leonardo M.R. Oliveira ^{a,b}, Elen Oliveira ^{a,b},
Patrícia F.R. Siqueira ^b, Fabiana V. Mello ^b,
Rafael C. Torres ^b, Marcelo G.P. Land ^{a,b},
Elaine S. Costa ^{a,b}

^a Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Serviço de Citometria, Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

A detecção de doença residual mínima (DRM) é um dos fatores prognósticos independentes mais importantes na leucemia linfoblástica aguda de precursor B (LLA-pB). Entretanto, o papel do microambiente medular (em especial das células estromais mesenquimais e endoteliais) e sua relação com a DRM e a sobrevida livre de doença durante o tratamento ainda é pouco explorada na literatura. Uma menina de 2 anos foi admitida no Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG-UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil em 05/03/2015. Na investigação clínica ela apresentava hepatoesplenomegalia, leucometria total de $28 \times 10^9/L$, hemoglobina de 9.2g/L, contagem de plaquetas de $34 \times 10^9/L$, 49% de blastos compatíveis com LLA-pB por imunofetipagem de sangue periférico e exames moleculares negativos para BCR-ABL, ETV6-RUNX1 e rearranjo do gene MLL. AIEOP- Foi tratada de acordo com o protocolo BFM ALL 2009, com boa resposta a prednisona, final de indução com DRM positiva de 0.05% e D+78 com níveis indetectáveis de DRM. Em todos os pontos de avaliação de DRM (D+15, D+33 e D+78) a paciente apresentava níveis elevados de células estromais endoteliais (52%, 38% e 40%) – dentro do compartimento de células estromais totais, comparados com valores controles (mediana de 20%, 4%–29%). Quatorze meses após o diagnóstico (10/05/2016) recaí com 85% de

blastos na medula óssea (MO), momento esse em que se realiza a troca para o protocolo terapêutico AIEOP-BFM-REZ 2002. Cinco meses após o início deste protocolo (14/10/2016) alcança níveis indetectáveis de DRM quando em 10/03/2017 a doença volta a progredir, observando-se a presença de 7,5% de blastos na MO. Na sequência, foi encaminhada para transplante realizado em 24/04/2017, após DRM indetectável pré-TMO realizada em 19/04/2017. Quatro meses depois (25/08/2017) ela voltava a apresentar 8,2% de blastos na MO quando foi encaminhada para o serviço de origem para reinfusão seriada de linfócitos do doador. A partir de 16/10/2018 não são observados blastos circulantes na MO até o dia 30/05/2019 quando recaí isoladamente em sistema nervoso central, vindo à óbito por progressão de doença refratária em 06/06/2019. O papel do microambiente medular, particularmente das células estromais mesenquimais e endoteliais na determinação da resposta à terapia ainda é pouco investigada. Em estudo recente nosso grupo avaliou a distribuição dessas células em pacientes com LLA-pB e sua relação com o status de DRM e desfecho do paciente demonstrando que a presença de elevados percentuais de endoteliais (>32%), especialmente no D+78 está associada com menor sobrevida livre de doença, independente do status da DRM, emergindo portanto como um fator prognóstico adverso. Baseado nessas informações, neste estudo de caso, a pior evolução clínica da paciente observada ao longo do tratamento pode estar também associada ao enriquecimento de células endoteliais observadas. Esse impacto prognóstico desfavorável pode ser sugestivo do papel das células endoteliais no suporte à sobrevivência das células leucêmicas, uma vez que a ativação de células endoteliais promove sua adesão às células leucêmicas, condição que também confere vantagem proliferativa, diminuição da suscetibilidade à quimioterapia e conseqüentemente progressão da doença. Investigações adicionais são necessárias para entender melhor os mecanismos envolvidos na patogênese da doença.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.002>

EVOLUÇÃO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B PH+ COM t(9;22;17)(Q34;Q11.2;P13): RELATO DE CASO

Fernanda Vaz^{a,b}, Roberia M. de Pontes^b, Felipe Magalhães Furtado^b, Shélida V. Braz^b, Anna Carolina Silva Dias^b, Larissa Lemos^b, Ana Letícia Dias de Oliveira^b, José Córdoba Martins^c, Raquel Toscano^c, Isis Quezado Magalhães^c, Ricardo Camargo^b

^a Faculdade de Saúde, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

^b Laboratório de Pesquisa Translacional, Hospital da Criança de Brasília José Alencar, Brasília, DF, Brasil

^c Serviço de Oncohematologia, Hospital da Criança de Brasília José Alencar, Brasília, DF, Brasil

Março de 2017, paciente sexo feminino, 9 anos de idade foi atendida no ambulatório de oncohematologia pediátrica com quadro de dor abdominal e leucocitose. Hemograma evidenciava Hb 13,7 g/dL; HTC 38,9%; Leucócitos 52.100 mm³, segmentados 17%, linfócitos 36% e blastos 47%; plaquetas 147.000 mm³; LDH 825 U/L. A imunofenotipagem de medula óssea detectou 48,3% de blastos linfóides com expressão de CD45/cCD79a/CD19/CD34/CD10/CD22/CD58/nuTdT(fraco)/CD38, sem a expressão de marcadores mielóides, sendo compatível com LLA B comum. Foi detectada a fusão BCR/ABL1 (p190) e dupla deleção no gene IKZF1 pelas técnicas moleculares RT-PCR qualitativa e MLPA, respectivamente. A citogenética convencionou detectou a translocação t(9;22)(q34;q11.2;p13) e a adição de um braço longo no cromossomo 17 em 13 das 18 metafases estudadas. A paciente realizou o tratamento quimioterápico de acordo com o protocolo LLA BFM 95 adaptado, adicionado ao uso de inibidor de tirosina quinase (Imatinib). Após um mês do tratamento quimioterápico a paciente apresentou Diabetes Mellitus secundário ao corticoide e intolerância ao inibidor de tirosina quinase utilizado, sendo necessário modificá-lo para o Dasatinib. As pesquisas de doença residual mínima (DRM) foram negativas durante o tratamento e ao término. A paciente permaneceu em remissão clínica completa e medular por 23 meses, quando retornou para avaliação devido a evidência de hepatomegalia e hiperleucocitose com presença de blastos em sangue periférico, associado à plaquetopenia. Realizado os exames de diagnósticos. O Mielograma evidenciou 27,5% de células blásticas com polimorfismo celular. A imunofenotipagem revelou 40,02% de blastos com complexidade intermediária a alta, correspondendo a três populações que expressam CD19/CD45(fraco)/CD66c/CD13(fraco), destas 21,81% apresentavam expressão de CD10, CD19, CD33(fraco)/CD34/CD38(fraco)/CD79a/CD81(fraco)/HLA-DR; 15,31% expressando CD33(fraco)/CD34(fraco)/CD38(fraco)/CD79a; 2,91% expressando CD33(forte)/CD34/CD36(parcial)/CD38(forte)/cCD79a(parcial), CD81(fraco), CD117, CD123, HLA-DR e MPO. O estudo imunofenotípico foi compatível com Leucemia Aguda de Fenótipo Ambíguo Linfóide B/Mielóide. Confirmou-se novamente por RT-PCR qualitativa a fusão dos genes BCR/ABL1. A pesquisa de mutação no domínio tirosina quinase de ABL1 não identificou alterações. A citogenética convencional encontrou em 50% de células a t(9;22) e em 10% de células t(9;22;17)(q34;q11.2;p13).

Foi instituído a partir do diagnóstico da recidiva medular tardia isolada o tratamento pelo protocolo SJCRH-ALL R16 + Dasatinib. As pesquisas de DRM realizadas no pós-indução, pré-transplante e 6 meses pós-TMO foram negativas. Apesar da t(9;22)(q34.1;q11.2) ser a alteração genética mais comum observada nas leucemias agudas com fenótipo misto, é um subtipo raro, correspondendo a <1% de todas as leucemias agudas. Ocorre em crianças e adultos, sendo mais comum em adultos. Trata-se de um grupo heterogêneo de leucemias agudas com fenótipo e base genética complexos, cujo desafio está no estabelecimento de critérios diagnósticos bem definidos, pois há a necessidade da exclusão de outros subtipos de leucemia que expressam marcadores de células B. A imunofenotipagem por citometria de fluxo multiparamétrica é fundamental para a identificação das leucemias de fenótipo misto e no diagnóstico diferencial de outras doenças linfoproliferativas. Além disso, uma abordagem citogenética-molecular criteriosa e precisa é importante e complementa o diagnóstico, permitindo um melhor prognóstico, além de identificar os subtipos genômicos que permitirão a utilização de terapias alvo-específicas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.003>

ABSENT CD33 IN AML PATIENTS: FROM DIAGNOSIS TO FOLLOW-UPS

Leticia O. Marani^a, Amanda Costa^{a,b}, Fernanda B. Silva^a, Maria Izabel A. Madeira^a, Priscila S. Scheucher^a, Josiane L.S. Schiavinato^a, Ana Silvia G. Lima^a, Katia B.B. Pagnano^c, Bruno K. Duarte^c, Sylvie Freeman^d, Eduardo M. Rego^e, Fabiola Traina^a, Lorena L. Figueiredo-Pontes^a

^a Divisão de Hematologia, Departamento de Imagens Médicas, Hematologia e Oncologia Clínica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Division of Hematology and Oncology, Department of Medicine, UAB Comprehensive Cancer Center, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, United States of America

^c Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^d Institute of Immunology and Immunotherapy, University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom

^e Medicina Interna, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

Background: Despite recent advances and development of new therapeutic targets and personalized medicine, acute myeloid leukemia (AML) treatment remains defiant. Identification of residual leukemic cells (measurable residual disease -MRD) by Multiparametric Flow Cytometry has been a fast and effective tool, but disease heterogeneity makes MRD assessment a clinical challenge, especially in cases with uncommon features, needing clinical and technical expertise to be accurately performed and interpreted. **Aims:** To emphasize how absent CD33

expression impacts on interpreting MDR in AML. **Methods:** We report three clinical cases of AML with absent CD33 assessed for FLT3 and NPM1 mutation, RUNX1/RUNX1T1 and CBFMYH11 rearrangements, karyotype and an 8-color panel immunophenotyping (Table 1). Empty gating strategy was used to identify LAIPs (Leukemia Associated-Immunophenotype), different from normal and leukemic stem cells, compared to healthy and regenerating non-AML bone marrow (BM) from diagnosis and follow up (Figures 1 and 2). Assays were performed at the Hematology Laboratory of Ribeirão Preto the Medical School, University of São Paulo, in accordance to Local Ethical Boards. **Results:** Patient's demographic and clinical data are summarized on Table 2. MFC revealed completely negative CD33 from diagnosis to follow-ups. Treatment consisted of 2 induction cycles (cycle 1: 3 days of Daunorubicin 60 mg/m² and 7 days of cytarabine 200 mg/m²; cycle 2: 6 days of cytarabine 1 g/m² twice a day). Consolidation consisted of 1 or 2 cycles of 6 days of cytarabine 1 g/m² twice a day. BMs were obtained at diagnosis, after 1st and 2nd induction, after 1st and 2nd Consolidation, and 3, 9, 12 and 15 months after consolidation of chemotherapy. Even with different number of follow-ups for each patient, time analysis was preserved. Complete remission (complete or incomplete) was achieved by day 30 after 1st induction and no change in the outcome was reported, even though an altered maturational phenotype persisted with complete absent CD33 expression, during and after treatment, suggesting a very rare polymorphism of CD33 receptor that mimicked MRD positivity. Since CD33 is a common myeloid antigen expressed on malignant blasts in AML, it is prominent evaluate and carefully analyze this marker, once is known that polymorphisms, for example, rs12459419 can affect CD33-antibody conjugated based therapy. CD33low blasts are associated to a more mature AML and its high expression is related to adverse landscapes in pediatric AML, highlighting the importance of CD33 evaluation. Regarding vulnerable steps of MRD assessment, Post –analytical phase must embrace a set of standards in order to prevent report errors. Here we present three cases of AML with absent CD33 from diagnosis till follow-ups visits. CD33 absence mimics positivity for MRD studies. This data emphasizes the importance of caution in MFC analysis and correlation of diagnostic and follow-ups results and interpretation, as constant training of the team.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.004>

LACTANTE COM SÍFILIS CONGÊNITA E LEUCEMIA DE CÉLULAS PRECURSORAS MIELOIDE/NATURAL KILLER

Rossana Suelle Nascimento dos Santos,
Tereza Cristina Teixeira da Fonseca,
Mecneide Mendes Lins, Norma Lucena-Silva

Serviço de Oncologia Pediátrica do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife, PE, Brasil

Introdução: A Leucemia de células precursoras Mieloides/Natural Killer (NK) é rara, geralmente com comprometimento de linfonodos e massa de mediastino, o diagnóstico é feito a

partir da presença de blastos com morfologia de LMA-M0 ou minimamente diferenciada e fenótipo: CD7⁺/CD56⁺/CD3⁻/CD34⁺, com positividade para algum dos antígenos mieloides (CD13 ou CD33) e ausência de MPO e de outros marcadores linfóide T. (HANDA et al., 2002; MA et al., 2009). **Relato do caso:** Lactante nascida de parto cesáreo, a termo, com 3,2kg, diagnosticada com Tetralogia de Fallot e sífilis congênita (VDRL 1/2) ainda na maternidade, e tratada. Aos 2 meses apresentou icterícia, sugerindo colestase secundária a sífilis, recebendo novo tratamento para sífilis. Aos 3 meses foi atendida na emergência com a piora da icterícia, vômitos, diarreia, perda de peso, anemia, irritabilidade, e piora da dispneia. Antecedentes familiares de câncer de intestino da avó paterna. Ao exame físico: EGR, com 0,59cm e 4kg (baixo peso), afebril, icterícia, hipocorada (3/4+), hidratada, fontanela anterior plana e normotensa. Pulmões com murmúrio vesicular (+AHT) sem ruídos adventícios, ritmo cardíaco regular com sopro sistólico (4+/6+), bem perfundida, abdômen semi-globoso com aumento fígado (2cm) e baço (1 cm) do rebordo costal, petéquias nos MMSS. O US abdômen revelou aumento de baço (6,3cm) e baço acessório (1,3cm). No hemograma, Hemácias = 1,55 milhões, Hb = 4,5 g/dL; leucócitos = 19.700/uL com 15% de blastos; Plaquetas = 42.000/uL. Na bioquímica, Fe = 376, Ferritina = 596, TGO = 57, TGP = 67, BT = 2,01, BD = 1,39, FA = 388, GGT = 155, DHL = 866, função urinária preservada. O mielograma apresentou 27% de mieloblastos sugestivos de LMA-M0, a citologia do LCR mostrou células mesoteliais sem blastos. A citometria da medula óssea mostrou população de 17% de células com fenótipo: CD45^{low}, CD56⁺, CD7⁺⁺, CD34^{-/+}, CD38⁺⁺ CD33⁺⁺, CD13^{-/+}, CD117⁺, HLA-DR⁻, demais marcas de linhagem mielóide, linfóide T e B negativos, sendo classificada como células precursoras de linhagem mielóide/Natural Killer (NK). Na biologia molecular foi negativa para t(8;21), t(9;11), t(10;11), Inv(16), t(4;11), t(6;11), t(11;19), pesquisa de CMV e EBV. A citogenética não identificou nenhuma síndrome genética. A conduta terapêutica incluiu ursacol, furosamida (2mg/kg/dia), alupurinol (300mg/m²), e o esquema MAG de tratamento da leucemia. Após o 1° ciclo, foi detectado 8% de células blásticas na medula com modulação do CD56. Aos 5 meses veio a falecer em decorrência de complicações da cardiopatia. **Conclusão:** A co-expressão de antígeno mieloides e de células NK na leucemia de células precursoras mieloides/NK requer o diagnóstico diferencial com leucemia mielóide com marcadores T aberrantes, e com leucemia aguda de células mielóide/NK, essa caracterizada pela presença antígeno HLA-DR em substituição ao CD34, associado a presença de MPO. Alguns relatos de leucemia de células precursoras mieloides/NK são em adultos, maioria do sexo masculino, com baixo índice de sobrevida (SUZUKI; NAKAMURA, 1999). Ademais, a sífilis congênita pode apresentar alterações hematológicas sem a presença de blastos que mimetizam leucemia, assim como uma reação leucemoide revertida com o tratamento para sífilis (ALFARIAS; AL-HUMOOD, 2012; LANDERS et al., 2005). A literatura sobre a associação de sífilis e leucemia em lactantes, e a Leucemia de células precursoras mieloides/NK é escassa, e mais casos como esse precisam ser relatados para melhor compreensão da patogenia desse tipo de leucemia.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.005>

LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA VARIANTE COM FUSÃO NPM1-RARA

Fabiola Gevert, Edna Kakitani Carbone,
Julianne Meyer Follador,
Gustavo Goes da Costa,
Renata Montoro Dourado, Nayara C.P. Beloto

Laboratório Genômico, Hospital Infantil Pequeno
Príncipe, Curitiba, PR, Brasil

Objetivo: Descrever um caso de Leucemia Promielocítica aguda (LPA) variante, de difícil diagnóstico, com morfologia e imunofenotipagem sem as alterações clássicas para o diagnóstico da doença. **Caso clínico:** Menina, 4 anos. Admitida em pronto-atendimento com quadro de inapetência, febre e palidez cutânea com aproximadamente 5-7 dias de evolução e piora da curva térmica há 2 dias. Episódio de queda de mesmo nível 3 dias antes da admissão, apresentando também dor (com limitação de deambulação), calor, hiperemia e aumento de volume em joelho direito. Sem doenças prévias. Ao exame físico apresentava-se febril (38°C), com palidez cutâneo mucosa (3+/4+), com petéquias em orofaringe, e baço e fígado palpáveis (2,5 e 4,5cm do RC respectivamente). Evidenciado também edema importante e calor local em joelho D e terço distal da coxa. Exames da admissão mostraram anemia e plaquetopenia (Hb:5,6 Ht: 16,3 e plaquetas: 24.000) e leucocitose com aumento de promielócitos (31,0% de promielócitos, 19,0% de mielócitos, 6,0% metamielócitos, 9,0% bastões e 17,0% segmentados; 13,0% de linfócitos). Presença de alterações discretas em coagulograma e PCR aumentada (PCR:286). Diante do quadro clínico inicial e alterações de hemograma, foi iniciado antibiótico terapia e prescrito transfusão de concentrado de hemácias e ácido transretinóico (ATRA). Realizada punção aspirativa de medula óssea para avaliação, pela possibilidade de tratar-se de uma Leucemia Promielocítica Aguda. **Resultados:** Mielograma: celularidade aumentada, composta principalmente por promielócitos com granulação aumentada e irregularmente distribuída. Ausência de bastonetes de Auer, ausência de núcleos anormais (halteres) ou outras características de LPA. **Imunofenotipagem:** parada de maturação em promielócitos, com 94,0% de promielócitos: Complexidade interna aumentada, MPO positivo; com CD34, HLA-DR e CD117 negativos; CD33 parcialmente expresso (heterogêneo) e CD15 fraco/negativo. ** Ausência de alterações típicas de LPA em mielograma e imunofenotipagem, não podendo ser descartado quadro infeccioso/ MO reativa. Paciente evoluiu com piora clínica - com leucocitose progressiva (sempre com predomínio de promielócitos em SP) e dispneia importante, sugerindo uma síndrome de diferenciação do ATRA. Iniciado Daunorrubicina até resultado da biologia molecular. **Biologia molecular:** PCR para pesquisa de PML-RARA negativa; PCR para pesquisa de AML-ETO negativa; Pesquisa de mutação de NPM1 e FLT3-ITD: negativas. Neste momento, após 2 dias de Daunorrubicina, paciente com melhora clínica e laboratorial, optado pela suspensão do tratamento (ATRA e quimioterapia) até definição do diagnóstico. **Exames subsequentes:** Citogenética: 46,XX, t(2;16)(p27;q24) [19] / 46,XX [1]. **NGS:** Fusão gênica NPM1-RARA e Mutação do gene NRAS. Diagnóstico de LPA variante. Paciente reiniciou tratamento e segue com melhora clínica e laboratorial progressiva. **Discussão:** A Leucemia Promielocítica aguda

(LPA) é caracterizada pelo acúmulo de promielócitos anormais em medula óssea. O gene de fusão PML-RARA é encontrado em mais de 95,0% das LPAs e os achados morfológicos e imunofenotípicos nestes casos costumam ser de grande apoio diagnóstico. Nas LPAs variantes, a fusão PLM-RARA é negativa e outros rearranjos do RARA são encontrados. Entidades extremamente raras (<1% das LPAs), costumam ser um desafio diagnóstico. Nos achados morfológicos são descritos promielócitos hipo ou hipergranulares, sem bastonetes de Auer e na Imunofenotipagem a ausência de marcadores como CD13 pode ser encontrada. O diagnóstico da variante NPM1-RARA costuma ser através da citogenética, com a presença da translocação t(5;17). **Conclusão:** Descrevemos um caso de LPA variante, de difícil diagnóstico, com fusão de NPM1-RARA diagnosticada por Sequenciamento de Nova geração, sem alteração típicas de LPA em mielograma e imunofenotipagem e sem identificação da t(5;17) na citogenética.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.006>

SÍNDROME DE DIFERENCIAÇÃO EM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA (LMA) OBSERVADA POR CITOMETRIA DE FLUXO (CFM)

Vívia Machado Sthel^{a,b},
Vitor Carvalho de Queiroz^b, Perla Vicari^b,
Sueli Satiko Ioguy^b,
Karina Mendes da Silva Lacerda^b,
Vera Lúcia de Piratininga Figueiredo^a

^a Hospital do Servidor Público Estadual (HSPE), São Paulo, SP, Brasil

^b Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa (AFIP), São Paulo, SP, Brasil

Relato de caso: Paciente de 61 anos apresentou dor abdominal com desconcompressão brusca positiva e febre. **Hemograma:** Hb = 6,1 g/dl, Leucócitos = 14,76 mil/m³, 12,10 mil/m³ blastos, segmentados = 0,15/mm³, plaquetas = 23 mil/mm³. **Mielograma:** **Morfologia:** 81,0% de blastos de grande porte, moderada relação N/C, cromatina frouxa, nucléolos presentes, citoplasma com granulações finas. **Fenótipo:** CD7, CD11b fraco/parcial, CD13, CD33 forte, CD34, CD38, CD64 parcial (20,9%), CD71 fraco, CD117, CD123 parcial, HLA-DR, MPO. **Cariótipo:** 45, XY,-7[17]/46,XY[3], **FISH:** Deleção Cromossomo 7. Compatível com LMA sem diferenciação. Tomografia abdominal sugestiva de tiflíte. Devido a ausência de condições cirúrgicas e perspectiva de quimioterapia convencional por grande risco de ruptura intestinal, foi optado pelo esquema AZAVIT-ABCDEF, protocolo em estudo no Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo (53015421.0.0000.5463). (Azacitidina 75 mg/m² subcutânea, vitamina C 300 - 400 mg/Kg intravenosa de 12/12 h por 7 dias, vitamina D3 50.000 ui via oral 1 × dia, Tiamina 15-20 mg/kg intravenoso 12/12 h, eritropoetina 10.000ui subcutâneo 1 × dia e filgrastim 5-10 mcg/kg subcutâneo 1 × dia). O paciente apresentou instabilidade hemodinâmica, hemoptise e foi introduzido meropenem e vancomicina, iniciado jejum e reposição de hemocomponentes. A leucometria no D13 do esquema chegou a 78,31 mil/mm³ com aumento de blastos, neutrófilos com desvio até promielócitos e

monócitos. Sugerindo síndrome de diferenciação, iniciado hydraea 1 grama/dia e metilprednisolona 40 mg intravenoso de 8/8 h. O paciente evoluiu afebril, melhora do quadro abdominal, regularização da dieta com hemograma (Hb=8,3 g/dL, L=3,25 mil/mm³ (blasto=5%, promielócito=2%, mielócito=5%, metamielócito=3%, bastonete=13% segmentado=18%, eosinófilo=1%, basófilo=2%, linfócito=45%, monócito=6% e plaqueta=18 mil/mm³). Foi submetido no D30 ao esquema 3+7. **Conclusão:** A CFM auxiliou no diagnóstico e condução da síndrome de diferenciação. Essa era raramente descrita em LMA submetida ao tratamento com azacitidina, contudo associada ao uso de inibidores de IDH, vem sendo cada vez mais descrita. O caso apresentado, extremamente grave, poderia ter tido o diagnóstico de refratariedade com opção de medidas de cuidados paliativos proporcionais. No entanto, o tratamento descrito foi uma proposta interessante, possibilitando que o paciente posteriormente conseguisse realizar esquemas mais intensivos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.007>

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA COM COMPONENTE DE CÉLULAS SUPRESSORAS MIELOIDES E FIBROSE MEDULAR. RELATO DE CASO

Allan Santos^a, Lorene Santos^a,
Mariane Santos^a,
Gessiana Andrade e Herbert Santos^a,
Tamara Carvalho^b, Alberto Orfão^c

^a Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

^b Clínica Amo –DASA, Salvador, BA, Brasil

^c Universidade de Salamanca, Salamanca, Espanha

O termo supressora mieloide (SM) foi introduzido na literatura há 10 anos. Essas células representam um estado patológico de ativação de monócitos e neutrófilos imaturos com propriedades imunomoduladoras, agindo como um regulador universal da função imune em muitas condições patológicas, incluindo neoplasias hematológicas, suprimindo principalmente a resposta de células T. Em humanos são divididas em monocíticas, polimorfonuclear e precoce. A descrição das SM como componente imaturo em leucemia mieloide aguda não é relatada e não é contemplada na classificação da OMS. **Relato de caso:** Masculino, 54 anos, iniciou com dores ósseas difusas e perda ponderal há alguns meses. Exames evidenciavam anemia (Hb: 9,9, Plaquetas: 154.000, Leuco: 5.250 (1.943 Seg.; 1.733 Linfo), cintilografia óssea suspeita para infiltração por doença de base em esqueleto axial e apendicular e ressonância de abdome com sobrecarga férrica hepática e esplênica e heterogeneidade difusa de sinal em ossos de natureza indeterminada. Visceromegalias ausentes. Evoluiu com diminuição da força muscular em membros inferiores. RNM torácica evidenciou tecido heterogêneo intra-raquiano extra-axial em alguns níveis torácicos, estreitando o espaço liquórico e comprimindo a medula espinhal. Biópsia da lesão compatível com neoplasia de linhagem mielomonocítica. Cursa em 1 mês piora da força muscular e RNM de coluna dorsal com extensa lesão sólida situada no compartimento extradural posterior do canal vertebral

determinando compressão sobre a medula espinhal. Neurocirurgia com intercorrência e paciente permanecendo com déficit neurológico fixo. Apresentou concomitantemente piora da anemia e plaquetopenia (Hb 7,1, Leuco 9500, N 3448 Eo 1558 Ly 2280 Mono 2147 Plq 102000). Aspirado medular seco. Biópsia de medula óssea hipocelular para a idade (CERCA DE 20%), com osteoesclerose (MF-3) e extenso envolvimento por neoplasia de linhagem mielomonocítica. Evolui com piora da anemia e plaquetopenia com alta demanda transfusional e leucocitose (Hb: 6,3 – VCM: 91,7 – RDW: 18 – Leuco: 21.980 – Promielócito: 400 – Mielócito: 689 – Meta: 1.099 – Bastão: 655 – Neutrófilos: 5.055 – Eosinófilos 2.198 – Basófilos: 0 – Linfócitos 5.715 – Monócitos: 4.396 – Eritroblastos: 15/100 – Plaquetas: 14.000), hepatoesplenomegalia progressiva e dores ósseas difusas. Imunofenotipagem de sangue periférico: 20% de blastos de linhagem basofílica com expressão parcial de CD117, ausência de CD11b e marcadores basofílicos maduros e 33% de linhagem semelhante à célula supressora mieloide tipo monocitoide (ausência de HLADR, CD14, CD300e e CD64, junto com expressão de CD11b e CD11c e CD35). **Conclusão:** LMA de difícil classificação pela OMS, com componente misto linhagem basófilo-célula mieloide supressora. Avaliação molecular negativa para FLT3-ITD, KIT, NPM1, BCR-ABL, JAK-2 e PML-RARa. Administrado 1 ciclo de agente hipometilante. **Conclusão:** Trata-se de caso raro, de diagnóstico e condução terapêutica desafiadores, definido após o estudo imunofenotípico. Este relato mostra o potencial de novas entidades que podem ser identificadas à medida que o conhecimento sobre o sistema hematopoético se expande.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.008>

LEUCEMIA AGUDA DE FENÓTIPO MISTO: RELATO DE CASO

Felipe Vieira Rodrigues Maciel,
Aparecida de Cássia Carvalho,
Tatiana Rabelo Santos,
Denise Pires Teixeira de Souza,
Júlia Maria Ribeiro Dias, Adelson Alves da Silva,
Elisio Joji Sekiya

Teclife Centro de Biotecnologia SS Ltda., São Paulo, SP, Brasil

Descrição do caso: Paciente masculino, 59 anos, previamente hipertenso e com histórico de AVC há 4 anos, relatou quadro de astenia e hiporexia há 3 semanas, evoluindo com lipotímia, que motivou internação hospitalar para investigação e tratamento. Possuía hemograma inicial com os seguintes parâmetros: Hb: 8.3 g/dl; Leucócitos totais: 6.600/mm³; blastos: 35% e plaquetas: 44.000. Foi solicitado avaliação medular, porém aspirado foi seco, sendo colhidos exames de sangue periférico: Imunofenotipagem: 29,9% de blastos (CD34pos), sendo divididos facilmente em duas populações distintas: - População 1: blastos mieloides (22,1% do total celular). - Marcadores positivos: CD4+, CD13+, CD33, CD34+++, CD38+, CD45+, CD71+, CD117, HLA-DR. - Marcadores negativos: CD1a, CD2, cyCD3, mCD3, CD5, CD7, CD8, CD10, CD11b, CD14, CD15, CD19, CD56, CD61, CD64, CD79a, CD99, IREM-2, MPO, TdT. - População 2: blastos linfoides T (7,8% do total celular). - Marcadores positivos: mCD3+, cyCD3, CD7par, CD10, CD13, CD34

+, CD38++, CD45+, CD79a par (21%), CD99+++, CD117par, TdT+. - Marcadores negativos: CD1a, CD2, CD4, CD5, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD19, CD33, CD56, CD61, CD64, CD71, IREM-2, MPO, HLA-DR. **Cariótipo:** 46XY, t(9;22)(q34;q11.2)[20]. **Discussão e conclusão:** As Leucemias Agudas de Fenótipo Misto (LAFM) são raras, com prevalência em torno de 2% entre as leucemias agudas. Podem ser fundamentalmente de dois tipos: bifenóticas (população celular única que possui perfil antigênico que permite caracterizar mais de uma linhagem simultaneamente) e bilinhagem ou bilinear (onde é possível discriminar duas ou mais populações de linhagens distintas na mesma amostra). O caso em questão ilustra alguns conceitos importantes relativos ao subtipo bilinhagem: 1- Para o diagnóstico de Leucemia aguda é necessário > 20% de blastos, segundo critérios OMS-2016, porém não é necessário que cada população de blastos, isoladamente, atinja esse valor percentual. 2- Os critérios de definição de linhagem celular, bem definidos da classificação OMS-2016 para LAFM se aplicam ao subtipo Bifenótica. Para o subtipo Bilinhagem, valem os critérios utilizados para definir leucemias agudas unilinhagem. Portanto, não é obrigatório que a população blástica mieloide expresse o marcador definidor de linhagem MPO, como observamos no nosso caso. Atenção a este critério é importante para não classificar erroneamente a população como indiferenciada. A t(9;22)(q34.1;q11.2) é a alteração genética mais frequente nas LAFM. Possui prognóstico reservado, embora tenha droga alvo dirigida contra a proteína de fusão BCR-ABL1. Em geral são identificadas as linhagens B e mieloide, embora existam casos raros descritos de presença simultânea de linhagem T e mieloide. É importante também distinguir pacientes portadores de LMC que evoluem para crise blástica de Fenótipo misto de pacientes que apresentam diagnóstico inicial de LAFM e cujo cariótipo revela a presença do cromossomo Philadelphia. Como conclusão, este paciente foi caracterizado como portador de “LAFM com t(9;22) (q34.1; q11.2);BCR-ABL1”, foi indicado tratamento de indução com protocolo HyperCVAD (com dose reduzida de daunorubicina) + Imatinibe. Avaliação de resposta após 4 ciclos de QT revelou 10,4% de blastos mieloides residuais. O componente linfóide T não foi mais observado. Atualmente, o paciente segue em tratamento quimioterápico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.009>

AUMENTO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITÓIDES EM CASO DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Flávia Arandas de Sousa, Laiz Cameirão Bento, Nádia Magalhães Millan Andressa da Costa Vaz, Daniela Schimidell, Marília Sandoval Pássaro, Priscila Carmona Miyamoto, Bruna Garcia Nogueira, Vivien Rebecca Bautzer Yoshida, Elizabeth Xisto Souto, Nydia Strachman Bacal

Laboratório Clínico de Citometria de Fluxo, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Apresentamos um caso Leucemia Mieloide Aguda (LMA) com presença de 19% de células dendríticas plasmocitóides (CDp). **Descrição do caso:** Mulher, 79 anos, em investigação clínica de Síndrome Mielodisplásica (SMD), com presença de anemia macrocítica e leucocitose. Hemograma: Hb:7,3g% VCM:101fL GB: 1.850/mm³ Neutrófilos: 537/mm³ Plaquetas:134.000/mm³. DHL: 3.800 U/L. Mielograma: hiper celular às custas de 46% de células blásticas e displasia das séries eritrocítica e megacariocítica. Na imunofenotipagem por citometria de fluxo (CF) foram identificadas duas populações celulares: 25,9% de células de média complexidade e positivas CD45 (fraca expressão), CD4 (fraca expressão), CD13 (fraca expressão), CD34 (forte expressão), CD38 (moderada expressão), CD71 (moderada expressão), CD117 (moderada expressão), CD123 (moderada expressão) e HLA-DR (moderada expressão) e 19,4% de células de moderada complexidade e positivas para CD45 (moderada expressão), CD4 (moderada expressão), CD7 (parcial expressão), CD34 (fraca expressão), CD36 (moderada expressão), CD38 (fraca expressão), CD123 (forte expressão) e HLA-DR (moderada expressão), Clec9A, CD141 e ausência de expressão de CD56, sendo compatível com LMA com aumento CDp. Na citogenética foi detectada presença de trissomia do cromossomo 8 em todas as metáfases. **Discussão:** Normalmente, a presença de CDp representa < 1% do total de células nucleadas da medula óssea. O aumento dessas células na medula óssea, está presente mais frequentemente na neoplasia de células dendríticas plasmocitóides blásticas (NCDPB) e na leucemia mielomonocítica crônica (LMMC). Estudos recentes relatam populações CDp em casos de LMA, especialmente nos casos com diferenciação monocítica, porém o significado clínico não está totalmente elucidado. Da mesma forma, o perfil genômico também ainda é pouco compreendido, mas há relatos de associação da presença de CDp com alterações como monossomia 7, trissomia 8, del(5q), CFBF-MYH11 ou duplicação em tandem interna de FLT3 (FLT3 -ITD) em células blásticas de LMA e o perfil mutacional de monócitos de LMMC. **Conclusão:** Apesar de não ser comum, o aumento de CDp tem sido relatado em casos de LMA especialmente nas com diferenciação monocítica. A identificação destas células e a elucidação de sua contribuição na leucemogênese poderá no futuro contribuir para novas opções terapêuticas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.010>

USO DO TCL1 COMO AUXÍLIO NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS LEUCEMIAS DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITÓIDES

Ana Paula de Azambuja, Fabiola Gevert, Raísa Merhy, Miguel Queiroz, Elenaide Coutinho Nunes

Serviços de Citometria de Fluxo do Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR, Brasil

Objetivo: Descrever um caso de Leucemia de Células Dendríticas Plasmocitoides (LCDP) confirmadas com auxílio do marcador citoplasmático T-Cell Leukemia/Lymphoma 1A

oncogene (TCL1A ou TCL1). Introdução: A Leucemia de Células Dendríticas Plasmocitoides é uma forma rara de leucemias agudas em que as células anormais expressam HLA-DR e CD123 fortes, e frequentemente apresentam expressão anômala dos marcadores CD56 e CD4. Descrevemos aqui um caso negativo para o CD56, em que o diagnóstico foi feito baseado na positividade para o TCL1. **Caso clínico:** Paciente masculino, 31 anos, há 3 meses observou tumoração em braço esquerdo e aumento de volume próximo ao ângulo da mandíbula, ambos indolores e sem sinais flogísticos. Refere perda ponderal de 7kg em três meses, febre e sudorese noturna, além de dor na coluna e no pescoço. No último mês apresentou aumento progressivo do tamanho e número das linfonodomegalias, sangramento gengival, odinofagia, e aparecimento de lesões de pele em couro cabeludo e hematomas em tronco e membros. Ao exame físico apresentava lesões arredondadas com crosta hemática esparsas pelo couro cabeludo, múltiplas linfonodomegalias cervicais (20 × 14mm), supraclaviculares (20 × 10mm), epitrocleares, axilares e inguinais bilaterais (40 × 30mm), indolores, sem sinais flogísticos. Os exames mostraram anemia e plaquetopenia (Hb 10,5 g/dl; Leucocitos 5.500; 37.000 Plaquetas), VHS 89 mm; LDH 432; função hepática e renal normais. Avaliação de medula óssea mostrou infiltração por células anormais de aspecto linfóide, tamanho grande, formato irregular com projeções citoplasmáticas e granulações finas. A citometria de fluxo confirmou infiltração por 90% de células imaturas com fenótipo anormal, fortemente positivas para os antígenos CD2, CD123, HLA-DR e TCL1. Estas células eram fracamente positivas para o CD4, porém negativas para o CD56, positivas para CD7, CD36 e CD117 parciais. As células foram negativas as pesquisas para CD1a, CD3, CD8, CD10, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD19, CD25, CD27, CD28, CD30, CD33, CD34, CD35, CD36, CD41a, CD42b, CD45RA, CD45RO, CD61, CD64, CD71, CD99, CD105, CD203c, IREM2, Proteína 7.1(NG2), TCR alfa-beta e TCR gama-delta. O cariótipo foi normal (46, XY [20]). Análise do líquido do diagnóstico mostrou 38 células suspeitas para infiltração pela doença. O paciente foi tratado com esquema Hyper-CVAD associado a MADIT, e avaliação pós quimioterapia mostrou recuperação da hematopoiese, com presença de 0,01% de células semelhantes às encontradas no diagnóstico. Atualmente paciente em tratamento quimioterápico e com plano de intensificação com transplante de medula óssea. **Discussão:** A LCDP caracteriza-se pela expressão aumentada de CD56, CD4 e CD123, que pode ser detectada por citometria de fluxo/imunohistoquímica. A expressão do oncogene TCL1 é considerada normal em tecidos fetais e nos estágios iniciais de desenvolvimento de linfócitos, porém é diminuída nos linfócitos maduros e na maioria dos linfomas, com exceção do Linfoma de Burkitt e da Leucemia Prolinfocítica T. Além disso, essa proteína é super expressa nas LCPD, e por esse motivo pode ser utilizada para auxiliar no diagnóstico diferencial de outras patologias. **Conclusão:** Descrevemos aqui um caso negativo para o CD56, em que a positividade para o oncogene TCL1 foi crucial para o diagnóstico diferencial de outras patologias.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.011>

SÍNDROME MIELODISPLÁSICA APÓS TRATAMENTO DE CÂNCER DE MAMA COM HORMONIOTERAPIA ADJUVANTE

Iris Mattos Santos Pirath, Heloisa Zorzi Costa, Chandra Chiappin Cardoso, Andressa Oliveira Martin Wagner, Maria Claudia Santos da Silva

Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Paciente de 79 anos, sexo feminino, com histórico de câncer de mama em remissão (uso de hormonioterapia adjuvante com anastrozol), diabetes mellitus tipo 2 e hipotireoidismo. No momento da admissão no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, queixava-se de tosse, queda do estado geral, inapetência, fraqueza, redução da ingesta alimentar, confusão e desorientação. Além disso, relatava febre, associada a tremores, sudorese noturna e perda ponderal de cerca de 3 quilos na última semana. No hemograma, foi observado pancitopenia (hemoglobina: 9.6 g/dl, 1.030 leucócitos/mm³ e 91.000 plaquetas/mm³), além da presença de 1.6% de blastos de médio a grande tamanho, alta relação N/C, cromatina regular moderadamente grosseira com presença de nucléolo e citoplasma basofílico. Na avaliação imunofenotípica da amostra de medula óssea por citometria de fluxo, foi observado alterações fenotípicas nas células na série neutrofílica (perda de expressão de CD10 e aumento de CD64 nas células maduras) e a presença de 13.4% de células imaturas representadas por blastos CD34++ (6.6%), células monocíticas imaturas (2.5%), células dendríticas (2.3%) com expressão parcial e aberrante de TdT e precursores de células NK (2.0%). Os blastos apresentaram o seguinte fenótipo: CD34++, CD45+, CD117-/+ , CD13+, CD33+FR, CD38-/+ , HLA-DR-/+ e MPO, CD19, CD3, CD3 citoplasmático negativos; além da expressão parcial e aberrante de CD7, CD10, CD22 e TdT. Essas características sugerem síndrome mielodisplásica com excesso de blastos do tipo 2. Para auxiliar na classificação de risco, foi coletado material para a realização do cariótipo, no entanto, a avaliação foi prejudicada devido à ausência de crescimento celular. Após tratamento, a paciente evoluiu com controle da infecção e melhora dos parâmetros avaliados no hemograma.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.012>

SÍNDROME MIELODISPLÁSICA ASSOCIADA A LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

Fabiane Spagnol, Mariela Granero Farias, Ebellins Tabares Calvache, Pâmela Portela da Silva, Tahiane de Brum Soares, Cristiane Seganfredo Weber, Alessandra Aparecida Paz

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

As síndromes mielodisplásicas (SMD) são doenças clonais caracterizadas por falência da medula óssea (MO) e

aumento do risco de transformação em leucemia mieloide aguda (LMA). A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma das leucemias mais comuns nos adultos e está relacionada ao acúmulo de células B maduras clonais resistentes à apoptose. Neste relato, descrevemos a associação de SMD e LLC em paciente não tratado, que é extremamente rara, com mais fatores excepcionais: a presença da mutação NPM1 e evolução para LMA. Paciente feminina, 69 anos, admitida em um hospital universitário devido à astenia, adinamia e perda ponderal de 5kg em um mês. Exame físico com performance status ECOG 2, hipocorada, sinais vitais com taquicardia. Exames laboratoriais do sangue periférico (SP) identificaram: anemia, plaquetopenia, leucocitose com linfocitose (23.180/uL), blastos (19,0%), eritropoetina e LDH elevados. Tomografia cervical, torácica e abdominal sem alterações. Realizada imunofenotipagem (IF) do SP, a qual foi compatível com LLC. Na análise da MO, o mielograma revelou 4.8% de blastos, dispoese granulocítica leve, dispoese eritróide acentuada sem sideroblastos em anel, nenhum representante megacariocítico e 73.2% de linfócitos maduros. A IF apresentou aumento de células imaturas, displasia imunofenotípica nas linhagens neutrofílica e monocítica com assincronismo maturativo de CD14 e IREM2, sugestivo da mutação NPM1 e infiltração por células de LLC. O cariótipo foi normal e a análise molecular identificou a mutação NPM1 presente, ausência da deleção do gene TP53 (17p) e o IGHV indeterminado, pelo qual foi possível concluir o diagnóstico de LLC Rai 0 associado a SMD-U (inclassificável) com R-IPSS 4.5. Após dois meses a paciente evoluiu com piora das citopenias e aumento dos blastos no SP. Nova amostra de MO apresentou progressão para LMA secundária com alterações relacionadas à mielodisplasia. Foi submetida a quimioterapia intensiva, protocolo 7+3 sem resposta. Teve como complicações, neutropenia febril, ascensão progressiva dos blastos no SP e posterior acidente vascular cerebral hemorrágico com óbito subsequente. Pacientes com LLC apresentam maior risco de desenvolvimento de neoplasia secundária pós-tratamento. Por outro lado, no estudo de Florensa et al., em uma coorte de 1.198 pacientes com SMD primária sem exposição prévia ao tratamento, foram identificados 14 pacientes portadores de neoplasia linfóide de linhagem B. Sandes et al. descreveram um caso de SMD com linfocitose B monoclonal e desfecho semelhante ao nosso, com uma revisão de casos desde 1974, onde a maioria (19/31), apresentou LLC e SMD sem associação com um subtipo específico. Um estudo de 2016 identificou 95 pacientes com leucemia aguda ou SMD de diagnóstico simultâneo (n=5) ou subsequente (n=90) à LLC, onde a sobrevida geral foi baixa, influenciada pela estratificação de risco e pelo número de tratamentos prévios da LLC nos casos decorrentes. O relato de LLC e SMD/LMA é relevante, visto que se trata de uma coexistência incomum com prognóstico desfavorável. A utilização de um painel de imunofenotipagem capaz de investigar todas as populações de células hematopoiéticas é de suma importância para identificar diferentes neoplasias no mesmo caso.

CD30 NEGATIVE/CD4 POSITIVE CYTOTOXIC T CELL LYMPHOMA: A RARE CUTANEOUS LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDER

Lais Pereira ^a,
Luiz Gustavo Rodrigues Barbosa ^a,
Camila Marques Bertolucci ^b,
Alef Rafael Severino ^b, Marcia Higashi ^a,
Ederson Roberto de Mattos ^a,
Maura Rosane Valerio Ikoma-Colturato ^b

^a Serviço de Hematologia, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

^b Laboratório de Citometria de Fluxo, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

Introduction: There are few reports of primary cutaneous lymphomas with CD4+ / CD30 negative cytotoxic T cell immunophenotype. Primary CD30 negative cutaneous T lymphomas are rare and correspond to less than 5% of all cutaneous T-lymphomas. Cytotoxic CD4+ T cell lymphomas are also uncommon. We report the clinical characteristics, immunophenotype and outcome of a patient with this rare type of T cell proliferation. **Case report:** A 66 year-old male presented a two years history of widespread erythematous scaly rash and nodules on the skin of the chest, which biopsy showed an atypical lymphocytic infiltrate in the dermis with epidermotropism. Immunohistochemical staining showed positivity for CD2, CD3, CD4, CD7, and no expressions of CD8 and CD30. The histopathological conclusion was Mycosis Fungoides (MF). Bone marrow (BM) biopsy was normal at diagnosis. Peripheral blood immunophenotyping detected 88 small T cells per mL with weak expressions of CD2, CD3 and CD5, normal expressions of CD4, CD27, CD28, CD45RA and partial expressions of CD7, CD25, CD26, CD45RO, CD56. Therefore, this phenotype was not characteristic of Sezary cells. Despite successive treatments (PUVA plus corticosteroids, methotrexate plus interferon, CHOP), the patient developed a progressive disease with worsening of skin lesions, disseminated lymphadenopathy, fever, night sweats. Inguinal lymph node biopsy was compatible with large cell T cell lymphoma, with immunostaining positivity for CD3 and CD4 while CD8, CD 30 and ALK were negative. The BM immunophenotype revealed large T cells with expressions of CD2, CD3, CD4, CD11c, CD26, CD27, CD38, CD45, CD45RO, CD56, CD94, CD197, cyGranzyme and cyPerforin with monoclonal pattern by the expression of T-cell receptor β 1 constant region (TRBC1). These cells did not express CD5, CD7, CD16, CD25, CD28, CD30, CD57, CD45RA, cyTCL1. **Discussion and conclusion:** The immunophenotype observed does not meet the criteria for MF diagnosis. The immunophenotype observed was compatible with monoclonal cytotoxic CD4 cells. The clinical and immunophenotypic features suggested that diagnosis of a rare case of CD30 negative Anaplastic Large Cell Lymphoma (ALCL) transformed from a small cell variant of ALCL, with an aggressive clinical course. The presence of cytotoxicity markers such as cyPerforin and cyGranzyme are related to greater cytolytic activity, which correlates with more aggressive clinical behavior.

DIAGNÓSTICO DE LINFOMA HEPATOESPLÊNICO GAMA-DELTA EM PACIENTE IMUNOSSUPRIMIDO

Ana Paula de Azambuja, Fabiola Gevert,
Raisa Merhy, Miguel Queiroz

*Serviços de Citometria de Fluxo e Hematologia do
Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR,
Brasil*

Objetivo: Descrever um caso de Linfoma Hepatoesplênico Gama-Delta (LHGD) com diagnóstico após imunossupressão crônica. **Introdução:** O Linfoma Hepatoesplênico Gama-Delta é uma neoplasia muito rara e de rápida progressão, derivada de células T citotóxicas duplo-negativas (CD4-CD8-), usualmente positivas para o receptor TCR gama-delta, que podem expressar marcadores de células NK. O pico de incidência é em adultos jovens do sexo masculino. Apesar de rara, há uma associação conhecida com imunossupressão crônica, como pacientes receptores de órgãos sólidos ou uso de azatioprina e ifliximab em pacientes com doenças inflamatórias intestinais (Pro et al., 2020). **Caso clínico:** Paciente masculino, 56 anos, com diagnóstico de retocolite ulcerativa há 3 anos, em uso crônico de azatioprina, procurou serviço hematologia em setembro/2021 pois exame admissional mostrou leucopenia e plaquetopenia discretos. Ao exame físico apresentava esplenomegalia discreta, sem outras alterações. Fez exame de medula óssea com imunofenotipagem que foi considerado normal. Na época suspendeu o imunossupressor por suspeita de ser leucopenia relacionada a droga, e fez tratamento empírico com um curso de corticosteroide via oral (sic). O paciente não voltou ao serviço de saúde até fevereiro/2022 quando procurou hepatologista por quadro de icterícia associada a febre, perda de peso e piora do estado geral. Ao exame observou-se aumento da esplenomegalia, sem linfonomegalias ou outras massas. Hemograma com 1070 leucócitos e neutropenia severa (menos de 100/uL). Foi solicitado um exame de subpopulações linfocitárias onde foi confirmada neutropenia e vistos 25% de linfócitos T/NK (CD2, CD3, CD7 e CD56 fortes), duplo-negativas (CD4 e CD8 negativos), positivas para o receptor do TCR gama-delta. Enquanto aguardava o resultado da biópsia hepática, a avaliação da medula óssea confirmou infiltração por células anormais de aspecto imaturo, positivas para CD3, CD2, CD7 e CD56 fortes, também positivas para CD16 e CD94. Apesar da dúvida em se tratar de linfoma T/NK, confirmou-se a presença de expressão forte do TCR gama-delta. A biópsia hepática mostrou necrose hepática extensa em pontes e colestase moderada. Com a piora rápida da neutropenia e falência hepática progressiva, foi optado por tratamento com quimioterapia intensiva. O paciente encontra-se com discreta melhora clínica há uma semana. **Discussão:** O linfoma hepatoesplênico de células T gama-delta é caracterizado por uma proliferação de células T maduras infiltrando-se nos sinusóides do fígado e baço. Clinicamente os pacientes apresentam dor abdominal, fraqueza, hepatoesplenomegalia e trombocitopenia acentuada, além de sintomas sistêmicos e ausência de linfadenopatia. Na avaliação bioquímica é possível observar alterações hepáticas como aumento das transaminases e da fosfatase alcalina, anemia, pancitopenia e o aumento da LDH. As citopenias podem ser devidas a

hiperesplenismo, infiltração da medula óssea, liberação de citocinas, ou ainda imuno-mediadas. Embora linfocitose seja incomum, uma pequena população de linfócitos T anormais pode ser detectada por citometria de fluxo. Foram relatados mais de 30 casos deste linfoma envolvendo pacientes com doença inflamatória intestinal desde 1996, a qual está especialmente relacionada ao uso de terapias anti-TNF e imunomoduladores como azatioprina e 6-mercaptopurina. **Conclusão:** Descrevemos aqui um caso raro de LHGD após uso crônico de azatioprina para retocolite ulcerativa, diagnosticado através da análise de sangue periférico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.015>

DOENÇA LINFOPROLIFERATIVA CRÔNICA B BICLONAL: RELATO DE CASO

Felipe Vieira Rodrigues Maciel,
Aparecida de Cássia Carvalho,
Tatiana Rabelo Santos,
Denise Pires Teixeira de Souza,
Júlia Maria Ribeiro Dias, Adelson Alves da Silva,
Elisio Joji Sekiya

*Techlife Centro de Biotecnologia SS Ltda., São Paulo,
SP, Brasil*

Descrição do caso: Recebida amostra de medula óssea no laboratório para realização de imunofenotipagem, mielograma e cariótipo de paciente de 78 anos, sexo masculino, sem informações clínicas relevantes, apenas com relato de “pancitopenia”. Enviado hemograma que revelava: Hb: 7.6 g/dl; VCM: 107; Leucócitos: 2.500/mm³; Neutrófilos: 1.175/mm³; Linfócitos: 900/mm³, Plaquetas: 79.000/mm³. Imunofenotipagem: inicialmente foi indicado painel para Síndrome Mielodisplásica (devido achados do hemograma). Tratava-se de medula óssea com importante componente dilucional, com escassa representação de precursores eritrocíticos e de células imaturas CD34pos, além de predomínio de granulócitos maduros (CD11b e CD13 positivos). Foi observada possível população linfóide B suspeita (CD19pos/CD10pos/CD45+++ com aumento da complexidade interna, que no gráfico CD45 x SSC plotava em região de monócitos sendo indicado portanto expansão do painel dirigido para Doenças Linfoproliferativas Crônicas B. Na sequência, foram identificadas duas populações linfóides B maduras e anômalas distintas, sendo assim caracterizadas: População 1-correspondendo a 4,3% do total celular, coexpressando CD11c, CD25, CD103, CD123 e CD305 além do CD10 já descrito, compatível com Tricoleucemia (a pesquisa de clonalidade nesta população foi inconclusiva) e População 2- 13,3% do total celular co-expressando CD5, CD23 e CD200, com expressão mais fraca de CD20 do que observada na população 1, portanto com fenótipo compatível com Leucemia Linfocítica Crônica (LLC), monoclonais kappa. **Mielograma:** intensamente hipocelular, com predomínio de linfócitos maduros (68,5% de aspecto típico e 11,5% com prolongamentos citoplasmáticos). Cariótipo: ausência de células em metáfase. Somando-se as informações do imunofenótipo com o hemograma e demais dados clínicos e laboratoriais, o caso foi liberado como

“Doença Linfoproliferativa Crônica B Biclinal: Tricoleucemia e Linfoma Linfocítico/Linfocitose B Monoclonal – tipo LLC”. **Conclusão:** Não é frequente a detecção de clones linfóides B distintos em uma única amostra. Para a população 1, o fenótipo foi específico de Tricoleucemia. Vale lembrar que tricoleucemia entra no diagnóstico diferencial de linfoproliferações crônicas B CD10 positivas, já que este marcador pode estar presente em cerca de 10% dos casos. Ainda é válido considerar que nesses casos pode haver discrepância entre a porcentagem de células anômalas obtidas na citometria em comparação com o mielograma, visto que costuma ocorrer hemodiluição nas amostras de portadores de tricoleucemia devido intensa fibrose medular. Para a população 2, apesar do imunofenótipo descrito ser compatível com LLC, não havia descrição de linfocitose B persistente monoclonal > 5.000/mm³. Portanto, seguindo critérios OMS-2016, o diagnóstico mais acurado seria Linfoma Linfocítico, caso o paciente apresentasse linfonodomegalias, ou caso contrário, Linfocitose B Monoclonal tipo LLC, necessitando de correlação clínica para esta distinção.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.016>

LINFOMA/LEUKEMIA DE BURKITT APRESENTANDO SUBCLONES

Patrícia Gama, Tayana Mello,
Rafaela M.S. Araújo, Maria Rafaela M.B. Silva,
Ana Paula F. Dametto, Fernanda G.P. Cunha,
Irene Lorand-Metze

Hospital Mário Gatti, Laboratório Sollutio,
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
Campinas, SP, Brasil

A LLA L3 (ou de células de Burkitt) tem sido definida com forma leucêmica do linfoma de Burkitt na classificação atual da OMS. É uma neoplasia associada à presença do EBV, e recentemente alguns trabalhos têm mostrado que o vírus pode modular expressões fenotípicas e genotípicas diferentes nas células tumorais. Apresentamos um caso da forma leucêmica do linfoma de Burkitt, que apresentou 2 subclones genotipicamente relacionados. Paciente masculino, 49 anos. Trauma torácico há 3 dias sem fratura. Ao exame físico, mucosas descoradas ++ e esplenomegalia (5 cm). LDH 2.669 U, ácido úrico 8,79 mg, Creatinina 1,27. No CT abdominal baço com 180 mm no maior eixo. Índice esplênico 1728 (nl < 480). Ausência de linfonodomegalias. CT de tórax normal. Sorologia para HIV negativa. Hb 7,7 g/L, Leuco 12,4 × 10⁹/L, Blastos 40% Plaquetas 17 × 10⁹/L. Blastos com morfologia de linfoma de Burkitt. Na imunofenotipagem (plataforma de 8 cores – Euroflow) foram detectadas 2 populações linfóides. Uma delas teve fenótipo: CD45^{parcial}, CD19⁺, CD20⁺, CD38⁺, CD10^{parcial}, CD79b⁺, CD43^{parcial}, IgM kappa (citoplasma e superfície). Negativa para CD34 e TdT. A outra foi CD45⁺⁺, CD19⁺⁺, CD20⁺, CD38^{negativo}, CD10^{negativo}, CD79b, CD43^{negativo}, IgM kappa (superfície). Negativa para CD34 e TdT. A biópsia de medula estava difusamente infiltrada (90%) por células de tamanho médio. Na imunohistoquímica positividade para: CD20, CD79a, CD10, c-Myc, MUM

1, PAX-5, bcl-6, Ki67+ 95%. O paciente em tratamento desde há um mês com boa resposta.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.017>

INFILTRAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL POR CÉLULAS PLASMÁTICAS EM PACIENTE SEM COMPROVAÇÃO DE MIELOMA MÚLTIPLA – RELATO DE CASO

Ana Paula de Azambuja,
Tatiana D. Scobel Balzani,
Marina Couto Guedes,
Ana Vitoria Cassis Santos Gasparine,
Felipe Patricio, Elenaide Coutinho Nunes,
Caroline Bonamin Sola

Serviços de Hematologia e Citometria de Fluxo do
Hospital de Clínicas da Universidade Federal do
Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Objetivo: Descrever um caso de infiltração do sistema nervoso central por células plasmáticas clonais em paciente sem comprovação de mieloma múltiplo (MM). **Caso clínico:** paciente masculino, 52 anos, referia cefaléia holocraniana contínua e náuseas há dois meses, associado a alteração de marcha e diminuição da acuidade visual progressiva há duas semanas. De história pregressa tinha diagnóstico de câncer de reto tratado cirurgicamente, e HIV positivo em tratamento com terapia antiretroviral, com carga viral não detectada e CD4 abaixo de 500 (223/uL). Ao exame físico apresentava pupilas midriáticas com amaurose reduzida à esquerda e paralisia de nervo abducente, parestesia em membros superiores com dismetria e disdiadococinesia bilateral e diminuição de força muscular em membros superiores e inferiores, além de ataxia de marcha. Restante do exame sem alterações, Glasgow 15, sem rigidez de nuca. Exames de imagem (TAC e RNM crânio) mostravam lesões de aspecto infiltrativo em leptomeninges, mais evidentes no lobo parietal direito. Exames complementares: hemograma com Hb 12,1g/dl, VG 32,6%, Leucócitos 5410 com 3787 neutrófilos e 974 linfócitos, Plaquetas 220.000; função hepática e renal normais. Foram realizadas 5 punções líquóricas com finalidade de diminuição de pressão intracraniana (que variava de 60 a 104 na abertura e 50 a 18 no fechamento). A citologia do líquor mostrou aumento dos leucócitos (63/uL) com 76% de células plasmáticas e 21% de linfócitos, glicose 56 e proteína 55. O exame de imunofenotipagem por citometria de fluxo confirmou a presença da população de plasmócitos de fenótipo anormal (CD38⁺⁺, CD56⁺⁺, CD45 fraco, CD117^{-/+}) e clonal (restrição de cadeia Lambda). Todas as amostras de líquor foram negativas para antígenos tuberculose, criptococose, micológico direto, cultura BAAR, cultura de fungos e cultura de germes comuns. Os PCRs para meningite, HSV, HSV1, HSV2, ENTEROVÍRUS, VZV e CAX-UMBA foram NÃO DETECTADOS, e o VDRL não reagente. A eletroforese de proteínas de sangue foi normal, com ausência de proteína monoclonal, assim como a imunofixação sérica e urinária. As dosagens de imunoglobulina eram normais, já a beta2 microglobulina estava alta 2771. Mielograma e imunofenotipagem da medula óssea não apresentavam população de

células plasmáticas anormais. O paciente foi tratado com quimioterapia intratecal isolada (MADIT) por 4 semanas, com desaparecimento das células anormais, seguida de irradiação de neuroeixo. **Discussão e comentários:** Pacientes com discrasias de células plasmáticas podem apresentar complicações neurológicas da hipercalcemia, uremia e hiperviscosidade, ou devido a neuropatia periférica, compressão da medula espinhal e infiltração de nervos cranianos. Entretanto, a infiltração leptomeníngea diretamente pelo mieloma múltiplo ou células plasmáticas é considerada muito rara, muito menor do que a relatada em outras malignidades hematológicas. Além disso, nos casos relatados na literatura a infiltração ocorreu em pacientes com mieloma múltiplo em estágio final de doença, associada a leucemia de células plasmáticas ou com infiltração contígua por células de um plasmocitoma craniano. **Conclusão:** Relatamos um caso raríssimo de infiltração leptomeníngea por células plasmáticas anormais e clonais isolada, confirmada por citometria de fluxo, no qual não foi confirmada presença de mieloma múltiplo ou outra discrasia de células plasmáticas que pudesse ser responsável pela doença em SNC.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.018>

DEFICIÊNCIA DE ADESÃO LEUCOCITÁRIA DIAGNOSTICADA EM PAINEL EUROFLOW. ACHADOS IMUNOFENOTÍPICOS E REVISÃO DA LITERATURA

Allan Santos, Lorene Santos, Mariane Santos,
Gessiana Andrade, Herbert Henrique Santos

*Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do
Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Universidade
Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil*

Relatamos caso de criança, masculino, 12 anos, com quadro crônico de lesões de pele, com primeiro episódio documentado em 2018 (aos 9 anos), sendo inicialmente afastado leishmaniose tegumentar e aventada a possibilidade de pioderma gangrenoso. Após perda de acompanhamento de 2 anos, retorna com piora das lesões cutâneas decorrente de trauma, com surgimento sucessivo de diversas lesões em

MMII e crânio. As lesões são inicialmente pústulas, que drenam secreção purulenta e aumentam em volume e número progressivamente. Apresentava ao internamento leucocitose acentuada com predomínio neutrófilos, além de anemia. Recebido amostra de sangue periférico para afastar leucose. A análise imunofenotípica evidenciou neutrofilia madura com ausência de expressão de CD11b em granulócitos, levando a possibilidade diagnóstica de Deficiência de Adesão leucocitária. Coletado estudo molecular para confirmação diagnóstica. A Deficiência de Adesão Leucocitária (DAL) é uma imunodeficiência primária autossômica recessiva, causada por defeitos da adesão dos leucócitos aos vasos sanguíneos e inibição da migração dos polimorfonucleares aos sítios de infecção devido mutações nos genes codificantes das beta2 integrinas. As beta2-integrinas são de fundamental importância para o tráfego dos leucócitos. Elas são necessárias para a firme adesão ao endotélio vascular sob condições de fluxo sanguíneo contínuo e para extravasamento dos leucócitos nos tecidos. Os pacientes cursam com infecções bacterianas recorrentes não purulentas e neutrofilia, frequentemente precedida por separação tardia do cordão umbilical e sintomas adicionais dependendo do sub-tipo. O diagnóstico é realizado em várias etapas sucessivas. Primeiro, suspeita clínica, levantada por dados como queda tardia do cordão umbilical, onfalite, suscetibilidade aumentada a infecções e cicatrização comprometida, acompanhada por leucocitose neutrofílica persistente. Segundo, pela detecção ausente ou diminuída da expressão de CD18 em polimorfonucleares por citometria de fluxo, implicando em defeito de adesão e migração dessas células. E finalmente, pela identificação da mutação do gene responsável. Rotineiramente, a medida da expressão de CD18 é o passo inicial chave nos casos suspeitos de DAL. Entretanto a medida da expressão de CD18 por citometria apresenta dificuldades, além deste marcador não fazer parte dos painéis utilizados para o diagnóstico de doenças onco-hematológicas. No caso apresentado, o painel utilizado e as estratégias de análise possibilitaram a identificação de neutrófilos com fenótipo maduro e CD11b negativo. Esse achado, permitiu direcionar a suspeita diagnóstica para DAL.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.03.019>