

aumento da expressão de  $\gamma$ H2AX (4,8% de células positivas) e nos níveis de apoptose em comparação as células controle. Conforme o esperado, a expressão de  $\gamma$ H2AX aumentou nas células controle a partir de 6 horas após a exposição à UV-C (aproximadamente 70% de células positivas). Nas células shRHOA e shRHOC houve menor aumento de expressão de  $\gamma$ H2AX 34.8% e 29.3% de células positivas, respectivamente. Além disso, a exposição a UVC induziu uma maior porcentagem de células shRHOA em apoptose tardia em comparação às células shCTRL. Nas células shRHOC, por sua vez, a exposição a UVC pareceu induzir o processo de necrose. **Discussão e conclusão:** O silenciamento de RHOA por si (e não RHOC) causou danos ao DNA mas não houve alterações na apoptose em células U937. Porém, um efeito protetor à indução de danos ao DNA foi observado quando células silenciadas para RHOA ou RHOC foram expostas a UVC, o que pode estar relacionado a diferenças encontradas na morte celular. O aumento da necrose induzida nas células shRHOC, contraditória ao seu aparente efeito protetor, talvez esteja relacionada ao processo de reconhecimento dos danos para os reparos, induzindo a necrose imediata. Estes resultados indicam que ambas as proteínas participam de maneiras únicas na resposta nos danos induzidos por UVC em células mielóides. **Financiamento:** FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.334>

#### PAPEL DIAGNÓSTICO DA CITOMETRIA DE FLUXO EM MASSAS MEDIASTINAIS: DESAFIOS NA DIFERENCIAÇÃO ENTRE HIPERPLASIA TÍMICA E LLA-T

TTT Catelan, DC Daniel, RG Souza, AVS Sousa, A Melo, ACT Silva, YH Maekawa, MCA Silva, MV Gonçalves, AF Sandes

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

**Introdução:** O diagnóstico diferencial de massas mediastinais anteriores pode ser desafiador, especialmente na distinção entre neoplasias tímicas e leucemia/linfoma linfoblástico de células T (LLA-T). Ambas as condições podem se apresentar como massas mediastinais e compartilham características citológicas e imunofenotípicas semelhantes, tornando a diferenciação difícil, particularmente em amostras escassas obtidas por biópsia por aspiração com agulha fina ou mediastinoscopia. A citometria de fluxo (CF) é uma técnica de rotina na avaliação de neoplasias hematológicas, incluindo a avaliação de tecidos sólidos, complementando outras modalidades diagnósticas como a histopatologia e a imunohistoquímica. O objetivo do presente estudo é avaliar o papel da citometria de fluxo na avaliação de massas mediastinais, com foco específico na sua aplicação para diferenciar timoma de LLA-T. **Material e métodos:** Foram avaliadas retrospectivamente doze amostras de biópsia de massa mediastinal, enviadas para avaliação por CF. O tecido foi dissociado mecanicamente para criar uma suspensão celular, que foi então filtrada para remoção de debris. As células foram marcadas com anticorpos monoclonais utilizando um painel de oito cores direcionado para neoplasias de células T. Dois

casos foram avaliados para expressão de TRBC1 (T-cell receptor  $\beta$  constant 1), um marcador recente de clonalidade T. Após a marcação, as células foram adquiridas nos citômetros de fluxo FACSCanto-II e FACSlyric e analisadas pelo software Infinicyt (Cytognos). **Resultados:** A idade mediana foi de 34 anos (14-70), sendo sete homens. Dez casos foram classificados como timoma/hiperplasia tímica, um caso como LLA-T e um caso como linfoma de Hodgkin clássico associado à hiperplasia tímica. Os casos de hiperplasia tímica apresentaram um padrão fenotípico característico, representado pela presença de três subpopulações distintas, com padrão de diferenciação celular: (a) linfócitos T duplo-negativos: expressam CD2 e CD5 em baixa intensidade, CD7, CD34, TdT e ausência de expressão de CD4, CD8, CD1a e CD3 de membrana; (b) linfócitos T duplo-positivos: população predominante. Expressam CD1a, CD2, CD5, CD7, CD4, CD8 e CD3 de superfície de forma heterogênea, com ausência de expressão de CD34 e TdT; (c) linfócitos T simples-positivos: subpopulações menores CD4+ e CD8+, formando um padrão característico de “cauda dupla de cometa”, ou seja, presença de células intermediárias entre as populações (b) e (c). Em contraste, as células da LLA-T formam um agrupamento imaturo compacto, sem diferenciação celular. Os linfócitos T maduros CD4+ e CD8+ estão presentes, isolados da população anômala, sem o aspecto de cauda de cometa. Nos dois casos avaliados, a expressão de TRBC1 permitiu a distinção entre timócitos normais da hiperplasia tímica (padrão policlonal) dos blastos da LLA-T (restrição clonal). **Conclusão:** A CF desempenha um papel valioso e complementar à histologia no diagnóstico de tumores mediastinais, permitindo a rápida diferenciação de timócitos benignos de linfoblastos T. É importante ressaltar que o padrão de hiperplasia tímica pode confundir com LLA T-cortical, destacando a necessidade do conhecimento do padrão de “cauda dupla de cometa” ou do uso de marcadores de clonalidade, como o TRBC1. Esta abordagem é particularmente útil quando se lida com amostras escassas e pode orientar decisões de tratamento, potencialmente evitando procedimentos invasivos desnecessários em pacientes com LLA-T.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.335>

#### TUBO CLEARLLAB LS COM DROPPING DE ANTICORPOS LÍQUIDOS CD14PB E CD33APC-A750 PARA AVALIAÇÃO PRIMÁRIA EM EXAMES DE IMUNOFENOTIPAGEM COM SUSPEITA E DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

AM Alexandre, AL Silva, KR Barreto, A Cobacho

DB Molecular, São Paulo, SP, Brasil

**Introdução:** A citometria de fluxo é um método que possibilita a análise individual de características físicas e moleculares das células. Este processo envolve a marcação das células-alvo com anticorpos específicos, conjugados a fluorocromos, que emitem fluorescência quando excitados por um feixe de luz laser no citômetro de fluxo. A dispersão da luz e a fluorescência captadas pelos detectores do citômetro fornecem

informações detalhadas sobre o tamanho, complexidade e a presença de marcadores de membrana celular nas células analisadas. A utilização de painéis e tubos otimizados, contendo marcadores celulares específicos pode aumentar a sensibilidade e especificidade do teste, contribuindo para um diagnóstico assertivo a um custo mais acessível. **Objetivos:** Este artigo tem como objetivo a padronização e utilização do tubo CLEARLLAB LS para avaliação primária de sangue periférico e medula óssea. **Materiais e métodos:** O estudo foi realizado em um laboratório de apoio de grande porte localizado em uma unidade de processamento especializada em São Paulo. Foram analisadas cerca de 20 amostras de sangue periférico e medula óssea, coletadas em tubos contendo EDTA, provenientes de pacientes com suspeitas diversas de leucemias agudas. Para todas as amostras foram correlacionados os resultados do hemograma e do painel de anticorpos a ser executado. Cada lote de anticorpo utilizado é validado para garantir que atenda aos critérios de desempenho esperados, com base em parâmetros como o Stain Index, que quantifica a relação sinal-ruído dos dados de fluorescência. O estudo comparou o tubo CLEARLLAB LS, que utiliza dropping de anticorpos líquidos, com os tubos atualmente utilizados e validados no setor. **Resultados, discussão e conclusão:** O CLEARLLAB LS demonstrou ser eficaz tanto na caracterização completa de amostras normais quanto como uma ferramenta para a expansão do painel de doenças oncohematológicas crônicas e a otimização os reagentes. O novo tubo foi implementado em 24 de junho de 2024, e nos gráficos é possível identificar a redução das complementações realizadas pela área, comprovando a maior sensibilidade do tubo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.336>

#### PHILADELPHIA ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (PH+ ALL) OR BLASTIC CRISIS OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA (CML-BC)?

AP Azambuja, MP Beltrame, VAM Funke, YC Schluga, ALV Mion, M Malvezzi, C Bonfim, R Pasquini

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Brazil

**Introduction:** The presence of BCR::ABL1 gene rearrangements (Philadelphia Chromosome) in acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL) at diagnosis is critical for prognostic stratification and treatment decisions. Distinguishing between Ph+ ALL and lymphoid blast crisis of chronic myeloid leukemia (CML-BC) is challenging. While most Ph+ ALL cases present with a p190 (e1a2) fusion, a subset displays p210 (e13a2 or e14a2) or p230 fusions. It remains unclear whether these cases are true de novo Ph+ ALL or undiagnosed chronic phase CML progressing to blastic crisis. **Methods:** Retrospective analysis of patients diagnosed with ALL (characterized by > 20% lymphoblasts) referred for hematopoietic cell transplantation (HCT) between 2019 and 2024, who exhibited t(9;22)(q34;q11) or BCR::ABL1 rearrangements identified through cytogenetic analysis or RT-PCR. The relationship between transcript subtypes identified through molecular biology and clinical, morphological, and

phenotypic characteristics, and minimal residual disease (MRD) via RQ-PCR (molMRD) and flow cytometry (flowMRD) were analysed in relation to survival outcomes. **Results:** 30 ALL patients assessed between 2016 and 2024 had Ph+ (24% of 125 ALL), 18M/12F, 22 adults median age 36.6 years (range 19-75.6) and 8 children (4.77 y, range 3.8-14). Twenty patients with p190 (e1a2) transcript were classified as Ph+ ALL (17 B-cell Ph+ ALL and 3 early T-cell Ph+ ALL) and 10 patients with p210 transcript were classified as having CML blastic crisis. In the CML group, transcript subtypes included e13a2 (b2a2) in 2 patients, e14a2 (b3a2) in 1, and multiple associated transcripts (b2a2 and/or b3a2 with e1a2) in 7 patients. Of these 10 patients, only 2 had a prior CML history with previous ITK use; 4 presented with extramedullary disease (2 CNS, 1 breast, 1 liver), and 4 had leukocytosis with neutrophilia in the initial CBC, suggesting myeloid involvement. The Ph+ ALL group had a lower median age at diagnosis (23.9 vs. 41.8 years) compared to the CML-BC group, lower median leukocyte (5,565 vs. 57,850/uL) and platelet counts (32,000 vs. 134,000/uL) at diagnosis. There were no differences in precursor left shift or blast predominance between groups. All patients received polychemotherapy including tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Early death due to refractory disease occurred in five older adult patients (16.6%). Three children and two AYA patients maintained a complete response to TKI therapy. Twenty patients (7 BC-CML and 12 Ph+ ALL) underwent HCT; five of these relapsed, with three undergoing a second HCT and two dying due to relapsed disease. No differences was found in overall survival (63.6% vs. 50.0%,  $p=0.25$ ), median survival time (14.5 years vs. 2.5 years), or relapse rates between groups. MRD was evaluated using RQ-PCR and MFC at 1-, 2-, and 3 months post-transplantation. MRD analysis showed a strong correlation between MFC and RQ-PCR results ( $r=0.643$ , 95% CI 0.50-0.74,  $p<0.001$ ). Of the 54 samples classified as MRD-negative by RQ-PCR, 53 (98.1%) were also MRD-negative by MFC. Among the 48 samples deemed MRD-positive by PCR, 39 (81.3%) were confirmed positive by MFC. When restricted to samples with > 0.01% MRD by PCR, the proportion of those containing ALL cells according to MFC remained high (28 of 30, 93.3%). **Conclusion:** In conclusion, this retrospective study underscores the complexity in distinguishing Ph+ ALL from CML-BC and highlight the importance of comprehensive molecular and phenotypic analyses in guiding treatment strategies and prognostication. Future research should focus on refining methodologies for MRD assessment of Ph+ ALL patients and exploring their synergistic potential to better distinguish between Ph+ ALL and CML-BC.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.337>

#### INVESTIGAÇÃO DOS MARCADORES CD200 E CD79B NAS DOENÇAS LINFOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS DE CÉLULAS B

RE Martins<sup>a</sup>, IAF Bahia<sup>a</sup>, FCM Theodoro<sup>a</sup>, MDGP Araújo<sup>b</sup>, LEN Mendes<sup>a</sup>, EC Bezerra<sup>b</sup>, FCB Lima<sup>a,b</sup>, GBC Junior<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil