

ID - 2754

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE CRLF2 POR CITOMETRIA DE FLUXO EM PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA DE LINHAGEM B: ANÁLISE DE UMA SÉRIE DE CASOS

DM Vitelli-Avelar^a, MLS Calixto^a,
BLdF Barbosa^a, RCS Lucas^a, LCdS Jeremias^a,
NL Cássia^a, BAM Azevedo^b, SMD Miranda^b,
ABF Glória^b, NNN Martins^b, EM Fagundes^b

^a Locus, Oncoclínicas, Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Oncoclínicas, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: O receptor semelhante à citocina tipo I-like factor 2 (CRLF2) codifica a subunidade β do receptor da timopoietina, desempenhando papel importante na sinalização JAK-STAT e na homeostase linfóide. Alterações envolvendo o gene CRLF2, como rearranjos e superexpressão, têm sido descritas principalmente em leucemia linfóide aguda de linhagem B (LLA-B), associando-se frequentemente ao fenótipo Ph-like e a um pior prognóstico. A detecção tradicional dessas alterações é realizada por técnicas genéticas, incluindo FISH e PCR, que permitem identificar rearranjos e mutações específicas. Contudo, já foi demonstrada ótima correlação entre tais técnicas e a expressão proteica de CRLF2 na superfície celular pela Citometria de Fluxo, representando uma ferramenta viável e acessível para aplicação em contextos clínicos de rotina.

Descrição do caso: Neste estudo, analisamos uma casuística de 20 pacientes consecutivos com diagnóstico de LLA-B, sendo 13 do sexo feminino e 7 do sexo masculino. A idade média foi de 18 anos (variação de 2 a 62 anos), com predominância de casos pediátricos: 15 pacientes (75%) tinham menos de 18 anos. A imunofenotipagem foi realizada por citometria de fluxo multiparamétrica, com painel incluindo anticorpo específico para CRLF2, além de marcadores clássicos de diagnóstico e classificação imunológica da LLA-B. Paralelamente, foi realizada busca em prontuários para levantamento de informações sobre o perfil genético, incluindo dados de cariótipo e resultados de investigações moleculares disponíveis. Apenas 1 dos 20 pacientes apresentou expressão aumentada de CRLF2 na superfície celular detectada por citometria de fluxo, correspondendo a 5% da amostra total. Essa paciente era do sexo feminino, 2 anos de idade, com recidiva precoce de LLA-B comum, ausência de alterações cromossômicas detectáveis no cariótipo convencional e refratária ao tratamento instituído. **Conclusão:** A baixa taxa de detecção de CRLF2 em nossa série pode estar relacionada com a faixa etária estudada, já que leucemias Ph-like com expressão de CRLF-2 é mais comum em adultos jovens. Este achado reforça a necessidade de considerar as características da população estudada, bem como possíveis diferenças metodológicas entre estudos. Limitações da presente análise incluem o número reduzido de casos e a ausência de confirmação molecular da positividade observada, uma vez que a análise foi baseada exclusivamente na expressão proteica avaliada por citometria de fluxo. Ainda assim, os resultados ilustram a aplicabilidade dessa técnica como ferramenta complementar às metodologias genéticas, permitindo a triagem rápida de casos candidatos a análises moleculares mais específicas. A

detecção de CRLF2 por citometria de fluxo, quando integrada ao contexto clínico e laboratorial, pode contribuir para a estratificação prognóstica e auxiliar na definição de estratégias terapêuticas individualizadas, especialmente em centros onde o acesso a métodos genéticos de maior complexidade seja limitado.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104319>

ID - 398

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE TRBC1 INTRACITOPLASMÁTICO UTILIZANDO KIT DE PERMEABILIZAÇÃO INTRAPREP®

FC Menezes, F Sgnotto, AP Starnini,
CMS Ferreira, MA Vieira, MLR Beirigo,
DS Nogueira, VA Silva, JC Azevedo, FVR Maciel,
MCA Silva

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo,
SP, Brasil

Introdução: A imunofenotipagem por citometria de fluxo é utilizada para diagnóstico das neoplasias hematológicas, dentre elas os linfomas não-Hodgkin T (LNHT). Atualmente, a análise de clonalidade através da marcação de superfície (sup.) do anticorpo TRBC1 auxilia no diagnóstico e monitoramento destas doenças. Alguns LNHTs, não expressam o CD3 ou o expressam fracamente, dificultando ou impossibilitando a avaliação do TRBC1 de sup. O CD3, contudo, está presente na quase totalidade dos casos de LNHT no citoplasma (cito.), o que abre a possibilidade de se avaliar sua expressão no cito.

Objetivos: Verificar a viabilidade técnica da marcação intracitoplasmática para avaliação da expressão do TRBC1 para determinação de monoclonalidade T. **Material e métodos:** 12 amostras de sangue periférico (10 sem neoplasia (SN) e 2 LNHT CD4+) foram utilizadas. As marcações de superfície do CD3, CD4, CD8, TCRgd e CD45, bem como a marcação intracitoplasmática do TRBC1 utilizando as orientações e reagentes do kit de permeabilização IntraPrep®. A aquisição destas amostras foi realizada no citômetro de fluxo DxFLX® e analisado no software Kaluza C®, nas populações T CD4 e CD8 TCRgd-. Foi considerado monoclonal (MC) a população com % de TRBC1 >85% ou <15%. **Resultados:** A mediana (med.) dos linfócitos (LY) = 1635/ μ L (var. 910-4780); med. %LYT = 76.5 (var. 54.2-96.0); med. %LYCD4 = 58.4 (var. 34.9-88.8); e med. %CD8 = 38.9 (var. 10.4-62.8). A relação CD4/CD8 variou de 0.56 a 3.46 nos SN e nos LNHT foi 8.21 e 8.54. Na população de LYCD4+, a % med. de TRBC1 = 45.9 (var. 35.8-96.0). Todos os SN foram classificados como não-MC e os 2 LNHTCD4+ foram classificados como MC (89.7% e 96.0%). Nos casos com LNHT, foi também realizada avaliação do TRBC1 em sup., com achados concordantes. Na população de LYCD8+, % med. de TRBC1 = 33.4 (var. 17.6-40.9), todos não-MC. **Discussão e conclusão:** A marcação intracitoplasmática do TRBC1 utilizando, sem modificações, as orientações de bula dos reagentes permitiu a identificação da expressão do TRBC1 em todos os casos. Todos os casos SN foram corretamente classificados

como não-MC e os 2 com LNHT CD4+ como MC na população CD4. Deste modo, a técnica utilizada parece ser promissora na avaliação de monoclonalidade T em pacientes com expressão ausente ou fraca do CD3 de superfície. Mais estudos envolvendo maior número de casos e também com LNHT CD8+ são necessários para a consolidação destes resultados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104320>

ID - 1549

CARACTERIZAÇÃO DAS SUBPOPULAÇÕES DE CÉLULAS LINFOCITÁRIAS POR CITOMETRIA DE FLUXO EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO VÍRUS LINTROFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANO TIPO 1

JB Cavalcanti, J Perreira, LAdPC Lage,
CO Reichert, KM Sobral, PdL Barros,
GS Guimarães, DF Jofre, HF Culler

Faculdade de Medicina da Universidade de São
Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As células T tronco de memória (CTTM) apresentam características semelhantes às das células-tronco, incluindo capacidade de auto-renovação e multipotência. O perfil fenotípico é caracterizado pela expressão de CD45RA, CCR7 e CD95, marcadores que permitam identificar outras subpopulações e diferenciação de células T, como as células T central de memória (TCM), células T efetora de memória (TEM) e células T efetoras terminalmente diferenciadas (TTE). Recentemente, as CTTM-CD4+ vêm sendo apontadas como um potencial reservatório do vírus linfotrópico de células T humano tipo 1 (HTLV-1), responsável pela propagação e manutenção da infecção. Indivíduos que adquiriram o vírus por via de transmissão vertical após um longo período de latência, podem desenvolver leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) uma neoplasia agressiva de células T maduras, associada com sobrevida reduzida. Entretanto, a relação entre as CTTM-CD4+ e a infecção pelo HTLV-1 no desenvolvimento da linfomagenese da ATLL ainda é desconhecida. **Objetivos:** Comparar o fenótipo das subpopulações de células T CD4+ entre portadores assintomáticos, pacientes com ATLL e indivíduos saudáveis. **Material e métodos:** Estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HCFMUSP sob o número de processo 60994322.4.0000.0068 e financiado pela FAPESP (2023/18474-0). Na citometria de fluxo, o painel utilizado foi FVS780APC-H7/ CD3BB700/ CD4PE-Cy7/ CD45RAAPC/ CCR7ECD/ CD95BB515. As amostras de sangue periférico, separadas por Ficoll® Paque Plus, foram adquiridas no citômetro BD FACSAria™ Fusion Cell Sorter (Beckman Coulter, EUA) e analisadas no FlowJo. **Resultados:** Foram analisadas 19 amostras: 12 de portadores assintomáticos, 4 de pacientes com ATLL e 3 de controles saudáveis. A frequência mediana de células CD4+ foi maior nos pacientes com ATLL (34,55%) quando comparada aos portadores assintomáticos (25,05%) e controles (23,80%). Dentre as células CD45RA+CCR7+, a população naive (CD95-) apresentou mediana elevada de 13,7% no grupo controle, enquanto nos portadores assintomáticos e pacientes com ATLL, essa frequência foi reduzida para 8,63%

e 5,03%, respectivamente. A população CTTM (CD45RA+CCR7+CD95+) esteve presente com baixa frequência nos três grupos, sendo levemente elevada nos pacientes com ATLL (1,20%) em relação aos controles (0,78%) e portadores assintomáticos (0,74%). Pacientes com ATLL e portadores assintomáticos apresentaram perfis de forma semelhantes, caracterizados pelo aumento na frequência das populações TCM (CD45RA-CCR7+CD95+) e TEM (CD45RA+CCR7-CD95+) em comparação aos controles, que apresentaram redução de expressão. Por outro lado, a população TTE (CD45RA+CCR7-CD95+) apresentou uma redução nos pacientes com ATLL (0,34%), quando comparados aos portadores assintomáticos (0,39%) e controles saudáveis (0,47%). **Discussão e conclusão:** Os achados descritos evidenciam alterações no perfil de diferenciação das células T CD4+ em indivíduos infectados pelo HTLV-1. A redução da população naive em indivíduos infectados indica ativação crônica, favorecendo o aumento de subpopulações de memória de alto potencial proliferativo e expansão clonal. Porém, faz-se necessário ampliar o N e conduzir novos estudos para elucidar a transição de portador para ATLL.

Referências:

Lugli E, Gattinoni L, Roberto A, Mavilio D, Price DA, Restifo NP, et al. Identification, isolation and in vitro expansion of human and nonhuman primate T stem cell memory cells. *Nat Protoc.* 2013;8:33-42. doi:10.1038/nprot.2012.143.

Nagai Y, Kawahara M, Hishizawa M, Shimazu Y, Sugino N, Fujii S, et al. T memory stem cells are the hierarchical apex of adult T-cell leukemia. *Blood.* 2015;125:3527-35. doi:10.1182/blood-2014-11-611467.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104321>

ID - 2270

CITOMETRIA DE FLUXO COMO MEIO PARA DIAGNÓSTICO DE UM CASO DESAFIADOR

VM Rosa, ALR Pacheco, CldO Rego, EBC Miatelo

Hospital Araújo Jorge, Goiânia, GO, Brasil

Introdução: A imunofenotipagem, realizada por citometria de fluxo, é um exame laboratorial que identifica e caracteriza células através de marcadores específicos na superfície celular permitindo o diagnóstico de leucemias e linfomas. Seu uso rotineiro se dá em medula óssea e sangue periférico. No entanto pode ser aplicada em tecidos e outros fluidos corporais, como urina, líquido cefalorraquidiano, líquido pleural e líquido ascítico, para auxiliar no diagnóstico de forma rápida e menos invasiva. Seu estudo e seu papel no diagnóstico vem crescendo exponencialmente nas últimas décadas. **Descrição do caso:** Paciente de 14 anos, com traços síndromicos, a época do diagnóstico em investigação de quadro de plaquetopenia, com diagnóstico de Leucemia Mielóide Aguda. A imunofenotipagem de medula óssea evidenciava alto percentual de células blásticas (73,3%) com expressão dos antígenos da linhagem mieloide CD13/CD33, dos precursores CD117/CD34/HLA-DR/CD38 e ausência de expressão de MPO. Presença de 7,9% de células monocíticas atípicas. Os achados imunofenotípicos, associados aos morfológicos, são condizentes com