

possibilitando o diagnóstico precoce e avaliação de resposta dos pacientes com SLPB-B.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.322>

O PAPEL DA CITOMETRIA DE FLUXO NA CARACTERIZAÇÃO DE CÉLULAS IMUNES EM PACIENTES COM CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA

MSS Pereira

Universidade Municipal de São Caetano do Sul (USCS), São Caetano do Sul, SP, Brasil

Objetivos: Este artigo de revisão tem como objetivo explorar a utilização da citometria de fluxo na caracterização de células imunes em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica (CMH). A CMH é uma doença genética do miocárdio que leva ao espessamento anormal das paredes do coração, podendo causar insuficiência cardíaca e morte súbita. Compreender o papel das células imunes nesta condição pode fornecer insights importantes para o desenvolvimento de novas terapias. **Materiais e métodos:** Para esta revisão, foram selecionados 26 estudos que abordam a utilização da citometria de fluxo na caracterização de células imunes em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica (CMH). A pesquisa foi conduzida em bases de dados científicas, incluindo PubMed, Scopus e Cochrane, focando em artigos publicados nos últimos dez anos. Os critérios de inclusão foram estudos que envolviam a análise da resposta imunológica em pacientes com CMH utilizando citometria de fluxo. Estudos que não abordavam especificamente pacientes com cardiomiopatia hipertrófica (CMH) foram excluídos. Foram considerados artigos de ensaios clínicos randomizados, estudos observacionais e revisões sistemáticas. **Resultados:** Estudos recentes demonstram que pacientes com CMH apresentam alterações significativas na composição das células imunes. Em uma amostra de 50 pacientes, observou-se um aumento de 30% na população de linfócitos T CD4+ em comparação com controles saudáveis. Além disso, a porcentagem de células T reguladoras (Tregs) foi 20% menor em pacientes com CMH, sugerindo um possível desequilíbrio imunológico. As células NK, por outro lado, mostraram uma redução de 25%, indicando uma potencial deficiência na resposta imune inata. Marcadores de ativação como CD69 e HLA-DR foram expressos em níveis 40% maiores nas células mononucleares de pacientes com CMH, reforçando a hipótese de um estado inflamatório crônico. **Discussão:** Os resultados obtidos indicam que a citometria de fluxo é uma ferramenta valiosa para a caracterização detalhada do perfil imunológico em pacientes com CMH. O aumento na proporção de linfócitos T CD4+ e a diminuição das células Tregs sugerem uma possível ativação imunológica descontrolada, que pode contribuir para a progressão da doença. A redução das células NK pode estar associada a uma menor capacidade de resposta imune inata, tornando os pacientes mais suscetíveis a infecções e outras complicações. Os altos níveis de marcadores de ativação indicam um estado inflamatório que pode agravar a condição cardíaca, potencialmente piorando o prognóstico dos pacientes. **Conclusão:** A

citometria de fluxo revela-se essencial para a compreensão das complexas interações imunológicas na cardiomiopatia hipertrófica. As alterações observadas nas subpopulações de células imunes e na expressão de marcadores de ativação destacam a importância de uma abordagem imunológica no manejo da CMH. A identificação precisa dos perfis imunológicos por meio da citometria de fluxo pode não apenas melhorar a estratificação de risco, mas também abrir novos caminhos terapêuticos. Intervenções direcionadas ao restabelecimento do equilíbrio imunológico podem oferecer novas perspectivas para o tratamento, potencialmente retardando a progressão da doença e melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.323>

ASSOCIAÇÃO ENTRE ISATUXIMABE E NEGATIVIDADE DA EXPRESSÃO DO NANOANTICORPO CD38 (CLONE JK36): RELATO DE CASO

MS Vieira ^{a,b}, NA Marcondes ^a, FB Büttow ^a, DCS Baranzelli ^a, LM Silvano ^b, MEZ Capra ^c, FB Fernandes ^a

^a Laboratório Zanol, Porto Alegre, RS, Brasil

^b Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Hospital Mãe de Deus, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O uso de terapias alvo para tratamento de mieloma múltiplo (MM) tem apresentado um cenário desafiador na pesquisa de doença residual mínima (DRM). A identificação de plasmócitos na imunofenotipagem por citometria de fluxo (IFC) se baseia na expressão dos marcadores CD138 e CD38. Entretanto, terapias anti-CD38, como Daratumumabe, competem pelos epítopos celulares com os anticorpos monoclonais usualmente utilizados na IFC, mascarando a presença deste antígeno nas células por até meses após o tratamento. Nesse cenário, são necessárias novas estratégias diagnósticas, como o uso do nanoanticorpo CD38 (VHH), que é uma alternativa promissora, por ser capaz de reconhecer epítopos não bloqueados pela imunoterapia com Daratumumabe. **Relato de caso:** A medula óssea de dois pacientes com MM foi avaliada para DRM por IFC: (1) paciente feminina com 57 anos, diagnosticada com MM (IgG/kappa) em abril/2022; e (2) paciente masculino com 64 anos, diagnosticado com MM (IgA/kappa) em maio/2022. Os pacientes foram tratados com bortezomib-ciclofosfamida-dexametasona (VCD) e submetidos a transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas. Após progressão da doença, iniciaram protocolo com isatuximabe-carfilzomibe-dexametasona. Para avaliação de DRM foi realizado procedimento bulk lysis, seguido pela marcação das células com os anticorpos monoclonais cyKappa, cyLambda, CD56, CD138, CD27, CD28, CD117, CD19, CD38 (clone T16, Beckman Coulter) e CD45; e nanoanticorpo CD38 (VHH) (clone JK36, Beckman Coulter). Foram adquiridos mais de 3.000.000 de eventos com o citômetro de fluxo DxFlex (Beckman Coulter). As análises foram realizadas com o software Kaluza (Beckman Coulter) e não foi identificada

população compatível com DRM nas amostras. No paciente 1 foram identificados 0,02% de plasmócitos dentre as células nucleadas, com relação kappa/lambda de 1,0:1. No paciente 2 foram identificados 0,005% de plasmócitos, com relação kappa/lambda de 1,2:1. Os plasmócitos de ambos pacientes expressaram CD138 e CD38 e ausência de expressão do nanoanticorpo CD38 JK36. **Discussão:** O nanoanticorpo CD38 JK36 se liga ao epítipo 3 do CD38, enquanto o Daratumumabe tem como alvo o epítipo 1, permitindo a identificação do antígeno CD38 nas análises de IFC após o tratamento com esse imunoterápico. O Isatuximabe (reconhecido como SAR650984, Sanofi, Cambridge, MA, EUA) é uma opção terapêutica para pacientes com MM reincidente e refratário. Ele consiste em um anticorpo monoclonal IgG que se liga a um epítipo específico de CD38, distinto de outras terapias anti-CD38. Estudos da estrutura de CD38 ligado à nanoanticorpos e anticorpos terapêuticos sugerem que o Isatuximabe se ligue ao epítipo 3, semelhante ao nanoanticorpo CD38 JK36. Apesar dessa possibilidade não ter sido testada experimentalmente, é consistente com os achados dos dois casos reportados. **Conclusão:** O Isatuximabe como opção de tratamento para MM é recente, e com isso, a literatura carece de estudos capazes de sustentar que a ligação deste anticorpo e do nanoanticorpo CD38 JK36 tenham como alvo o mesmo epítipo. Apesar disso, a ausência da expressão de CD38 (VHH) JK36 após o uso de Isatuximabe sugere que ambos possuem como alvo o mesmo epítipo celular. Neste contexto, o uso prévio de Isatuximabe pode exigir estratégias diferenciadas para identificação de plasmócitos na avaliação de DRM de MM.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.324>

COMPARAÇÃO ENTRE ANÁLISE MANUAL E AUTOMÁTICA POR CITOMETRIA DE FLUXO COM O PAINEL MM MRD EUROFLOW

ABDS Salgado^a, ES Barbosa^a, EMD Couto^a, RM Pontes^b, RJP Magalhães^c, A Maiolino^{a,d,e}, ES Costa^{a,f}

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

^b Laboratório de Pesquisa translacional, Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB), Brasília, DF, Brasil

^c Serviço de Hematologia Clínica, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^d Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^e Instituto Américas de Ensino e Pesquisa, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

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

Objetivo/Introdução: A avaliação de doença residual mensurável por citometria (DRM) de fluxo de alta sensibilidade (Next Generation Flow - NGF) trouxe padronização, reprodutibilidade e alta sensibilidade para o acompanhamento dos pacientes com mieloma múltiplo (MM). Amplamente utilizada no monitoramento de MM, a DRM é um fator prognóstico independente, e sua correlação com a sobrevida permite que seja utilizada como *end-point* de estudos clínicos. Recentemente, para mitigar diferenças que podem ocorrer entre análises inter-operador, o grupo EuroFlow desenvolveu uma técnica de análise automatizada (*automated database-guided gating and identification* - AGI), utilizando uma base de dados como referência para identificar e classificar cada população da amostra, agrupar as populações e colocar para a revisão as diferentes do padrão normal, como por exemplo plasmócitos clonais. Com base no exposto acima, o objetivo desse trabalho é comparar os resultados de DRM/NGF realizados manual e automaticamente nos casos de MM no período de 100 dias (D100) após o transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas (TACTH). **Metodologia:** Foram selecionadas retrospectivamente 47 amostras de DRM/NGF no D100 após o TACTH. Todas as amostras de MO foram submetidas à lise celular em massa e marcadas com uma combinação de 10 anticorpos monoclonais otimizados em 2 tubos (8 cores) - Painel EuroFlow MM DRM e Adquiridas 10⁷ de células por amostra utilizando o equipamento FACS Canto II (BD). Os dados gerados foram analisados manualmente por um expert e comparados com a análise automática utilizando o software Infinicyt 2.1. **Resultados:** A análise automática conseguiu identificar as populações da amostra em 100% dos casos. Do total de amostras analisadas, 19/47 (40%) delas alcançaram DRM⁻ pela análise manual (AM), enquanto 20/47, 42% pela análise automatizada (AA). Apenas um caso divergente 1/47 (2,1%) que apresentou DRM⁺ pela análise manual e DRM⁻ pela análise automática, a paciente em questão não apresentou progressão de doença em 67 meses de acompanhamento. A concordância de DRM entre AA e AM para DRM MM foi de 97,8%. A comparação dos resultados analíticos entre os dados obtidos manual e automaticamente mostrou a mediana dos valores percentuais de plasmócitos normais (nPC) de 0,126 vs 0,12 para análise manual e automática respectivamente (teste de correlação de Spearman = 0,8 p = 0,000). Comparando a análise dos plasmócitos patológicos (pPC) a mediana foi de: 0,049 vs 0,05 para análise manual e automática respectivamente (teste de correlação de Spearman = 0,9 p < 0,001). Foi feito comparações entre AM e AA das demais populações da medula óssea com a correlação de 0,9 p < 0,001 para neutrófilos; 0,5 p = 0,001 para monócitos; 0,9 p < 0,001 para eosinófilos; 0,9 p < 0,001 para eritroblastos; 0,9 p < 0,001 para linfócitos B maduros; 0,9 p < 0,001 para linfócitos B precursores; 0,9 p < 0,001 para mastócitos e 0,7 p < 0,001 para precursor mieloide. O tempo médio que durou a análise automática foi de 3 minutos com mais 10 minutos para revisão dos “checks” enquanto a análise manual durou em média 45 minutos. **Conclusão:** Com base nos resultados obtidos, podemos observar que análise automática é uma ferramenta segura, que confere padronização às análises por citometria de fluxo para detecção de DRM no MM e demais populações medulares além de conferir celeridade para as análises imunofenotípicas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.325>