

**POLIMORFISMOS TET2 RS3733609 E TERT RS2736100 ASSOCIAM-SE À MUTAÇÃO JAK2V617F EM PACIENTES COM NEOPLASIA MIELOPROLIFERATIVA BCR::ABL1-NEGATIVA EM COORTE BRASILEIRA**

RS Tristão<sup>a</sup>, SLAP Filho<sup>a</sup>, BGS Macedo<sup>a</sup>,  
FB Silva<sup>a</sup>, PMM Garibaldi<sup>a</sup>, LC Palma<sup>a</sup>,  
LLF Pontes<sup>a</sup>, JA Machado-Neto<sup>b</sup>, F Traina<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP),  
Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP,  
Brasil

<sup>b</sup> Instituto de Ciências Biomédicas (ICB),  
Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP,  
Brasil

**Objetivos:** O polimorfismo TERT rs2736100 A>C é associado a aumento do risco ao desenvolvimento de neoplasias mielo-proliferativas (NMP) potencialmente ligado ao ganho de função da enzima TERT e aumento do comprimento telomérico leucocitário. O polimorfismo TET2 rs3733609 C>T é particularmente pouco estudado, mas é relacionado como fator predisponente ao desenvolvimento de NMP JAK2V617F -positiva além de parecer conferir ganho proliferativo à linhagem eritroide. Este trabalho tem por objetivo descrever a coorte de pacientes NMP BCR::ABL1 -negativas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) e investigar se o status polimórfico dos pacientes repercute sobre seus aspectos clínicos, laboratoriais, citogenéticos e moleculares. **Materiais e métodos:** O trabalho conta com análise retrospectiva de prontuários de 245 pacientes adultos com diagnóstico de NMP BCR::ABL1 -negativas clássicas, mielofibrose primária (MFP), policitemia vera (PV) e trombocitemia essencial (TE), em seguimento no HCFMRP-USP entre 2006 a 2019. Análise citogenética revisada segundo o Sistema Internacional para Nomenclatura Citogenômica Humana (ISCN, 2017) conforme praticável; e genotipagem baseada em qPCR e sondas de hidrólise. **Resultados:** 245 pacientes foram avaliados, 123 do sexo masculino e 122 do sexo feminino, mediana de idade de 73 anos. Cento e dezanove pacientes tiveram diagnóstico de MFP, sendo a mutação JAK2V617F detectada em 71, mutação CALR em 25, mutação MPL em 5, e 18 considerados triplo-negativos; 72 PV sendo JAK2V617F detectado em 64, mutação JAK2 éxon 12 em 1 paciente e JAK2 selvagem em 7 pacientes; e 54 TE dos quais a mutação JAK2V617F foi detectada em 25, mutação CALR em 12 pacientes e 17 triplo-negativos. Da perspectiva citogenética, 124 dos 245 foram avaliados, os 121 restantes não obtiveram metáfases ou não foram submetidos à análise citogenética. Dos 124, 107 apresentaram cariótipo normal. Entre 17 portadores de alterações citogenéticas, 10 tiveram diagnóstico de MFP sendo um destes cariótipo complexo. A alteração mais frequentemente observada foi a trissomia do cromossomo 8. Dos 245 pacientes, 227 foram genotipados para TET2 rs3733609, 36 portaram o alelo polimórfico (T), dos quais 4 eram homozigotos. Para TERT rs2736100, 242 foram genotipados. Destes, 152 portaram o alelo polimórfico (C) dos quais 33 pacientes eram homozigotos. Nenhuma associação foi estabelecida entre a presença do alelo polimórfico e os aspectos clínicos, laboratoriais e

citogenéticos supracitados, salvo a detecção da associação molecular entre a presença dos polimorfismos e a mutação JAK2V617F (TET2 rs3733609,  $p = 0.02$ ; TERT rs2736100,  $p = 0.02$ ). **DISCUSSÃO:** A associação entre os polimorfismos TET2 rs3733609 ; TERT rs2736100 e a mutação JAK2V617F encontrada nesta coorte reforça os achados já descritos na literatura compreendendo a outras populações e os aspectos anteriormente descritos neste resumo. **Conclusão:** A associação com uma importante entidade molecular de ordem etiológica para as NMP BCR::ABL1 -negativas pode representar o envolvimento de fatores germinativos dignos de investigação não apenas para prática da genética médica, mas também pela dinâmica de aquisição da mutação condutora ao fenótipo neoplásico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.364>

**INFLAMMATORY CYTOKINES PERTURB NK CELL FUNCTION AND GENE SIGNATURE IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA**

V Kuznetsova<sup>a</sup>, S Patel<sup>a</sup>, AFO Costa<sup>b</sup>, F Luca<sup>a</sup>,  
A Franceski<sup>a</sup>, P Goel<sup>a</sup>, R Welner<sup>a</sup>

<sup>a</sup> University of Alabama, Birmingham, United States

<sup>b</sup> Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

**Objectives:** Natural killer (NK) cells have the capacity to eliminate malignant cells by releasing cytotoxic granules, which makes them a potent anti-cancer immunotherapeutic. NK cells' mature phenotype and counts positively correlate with prolonged treatment-free survival in chronic myeloid leukemia (CML), while dysfunctional NK cells are predictive of relapse in CML patients. The molecular drivers of this impairment during leukemic progression remain unclear. Given the established role of inflammatory cytokines (namely IL1 $\beta$ , IL-6, GM-CSF, TNF $\alpha$ ) in driving myeloid malignancies, we aimed to define their effect on NK cell phenotype and function using a unique pre-clinical chimeric mouse model of CML. We hypothesize that leukemic cytokines impede NK cell maturation and cytotoxicity and shift NK cells toward a pro-tumor cytokine-producing phenotype. **Methods:** We establish a chimeric mouse model of CML by transplanting bone marrow BCR-ABL+ CD45.2 cells into sub-lethally irradiated CD45.1 C57BL/6 wild-type mice. For controls, mice are transplanted with non-mutant cells. Such chimeras represent a robust model to study the exposure of non-transformed host cells to leukemia. At the endpoint, splenic, blood, and bone marrow NK cells are harvested and profiled by flow cytometry, RT-qPCR, scRNA-seq, or used for degranulation assay. Blood samples are collected to obtain serum. **Results and Discussion:** Consistent with clinical observations, NK cells are severely reduced in numbers and frequencies and display an immature phenotype and diminished expression of activating receptors (Nkp46, Ly49D) while upregulating inhibitory molecules (Lag-3, TIGIT, NKG2A) during leukemia. Moreover, CML-exposed NK cells have a higher proliferation rate and a greater cell death indicating perturbed homeostasis. We

revealed a preferential loss of terminally mature CD27–CD11b + NK subset in CML mice, suggesting a functional shift from cytotoxic phenotype toward the immature cytokine-producing. In agreement, CML-exposed NK cells show impaired cytotoxicity as measured by target-specific degranulation *ex vivo*. Next, we mapped the transcriptional landscape of CML-exposed NK cells using single-cell RNA-sequencing. We confirmed decreased gene expression of NK maturation and cytotoxicity markers (*Itgam*, *Cx3cr1*, *Prf1*, *Gzma*) and upregulation of inhibitory molecules (*Tigit*, *Lag-3*, *Pdcd1lg1/2*) and proteins involved in the cell cycle and senescence (*Mki67*, *Ccna*, *Ccnb*). Importantly, CML-exposed NK cells had significantly increased mRNA levels of inflammatory cytokines including IL1 $\beta$ , TNF, GM-CSF; cytokine receptors Il6st, Il-2Ra; and negative regulators of STAT signaling SOCS1/2/3 and CIS. Furthermore, IL-6-STAT3 and IL1 $\beta$ /TNF-signaling gene signatures were enriched in CML-exposed NK cells – an effect that is likely to be triggered by inflammatory cytokines. Thus, we next found that peripheral blood serum from CML mice dampens healthy NK cell degranulation *ex vivo*, compared to serum from control mice. Further ELISA analysis revealed elevated levels of IL-6, IL-1, TNF, and GM-CSF in CML serum samples. Some of these cytokines might be secreted by functionally skewed NK cells, as suggested by gene expression analysis. **Conclusion:** Altogether, our data suggest that leukemic cytokines contribute to NK cell dysfunction and polarize them toward a pro-inflammatory phenotype, representing optimal targets for NK-boosting CML immunotherapies.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.365>

#### THE INFLUENCE OF THE JAK2V617F MUTATION ON CLINICAL, LABORATORIAL, AND MORPHOLOGICAL VARIABLES IN BCR-ABL NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

MAM Pereira<sup>a</sup>, SB Nascimento<sup>a</sup>, BCR Monte-Mor<sup>b</sup>, AHD Gabriel<sup>a</sup>, HC Kang<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brazil

<sup>b</sup> Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

**Objective/Aim:** Investigate the correlation between the presence of the JAK2V617F mutation and laboratorial, morphological and clinical findings. **Methods:** This is a retrospective, observational, single-center cohort-study involving adults with classic BCR-ABL negative MPN and myelofibrosis secondary to them (n = 119), in a Brazilian university hospital. It were evaluated hematological parameters and nonspecific inflammatory biomarkers such as LDH, CRP, ESR, and ferritin, in peripheral blood, as well as the occurrence of thrombo-hemorrhagic events or death, by consulting medical records. **Results:** Patients diagnosed with ET (n = 75), and JAK2V617F-positive (n = 69; 92,0%) had significantly higher values of marrow cellularity, hemoglobin, hematocrit, neutrophil to lymphocyte ratio (N/L ratio), ferritin, also higher RBC and WBC

counts. Besides a higher occurrence of thrombotic and/or hemorrhagic events (p = 0.006). A positive correlation (Spearman) was observed between the JAK2V617F mutation and thrombo-hemorrhagic events, bone marrow cellularity, RBC count, hemoglobin concentration, hematocrit, WBC count, N/L ratio, and ferritin dosage. **Discussion:** Patients with ET positive for JAK2V617F mutation showed a “PV-like” profile with higher values of hemoglobin, hematocrit, hematimetry, LDH, and higher medullary cellularity in addition to, lower platelet values and higher incidence of thrombotic events, as suggested by previous studies. After all, JAK2V617F status is incorporated into the International Prognostic Score for Thrombosis in ET (IPSET). Besides demonstrating the clinical, epidemiological, laboratory profile, and mutational status in Brazilian patients in a university hospital, our study points to the need to reinforce the orientation about certain exams. It is essential to evaluate not only the incorporation of ESR in the routine investigation of patients in whom there is suspicion of classic MPN BCR-ABL negative, especially PV, but also the inclusion of CRP dosage in the prognostic evaluation of patients with ET and PV. **Conclusion:** There is a correlation between the JAK2V617F mutation and higher values of RBC count, WBC count, N/L ratio, and ferritin, in addition to greater cellularity in the bone marrow. A “PV-like” profile was also observed in JAK2-positive TE patients.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.366>

#### AValiação da Reativação de Hepatites B e C em Pacientes com Leucemia Mieloide Crônica Tratados com Inibidores de Tirosinoquinase

NSO Silva<sup>a</sup>, SRCD Reis<sup>b</sup>, GO Duarte<sup>b</sup>, SS Medina<sup>b</sup>, FVP Souza<sup>b</sup>, CA Souza<sup>b</sup>, KBB Pagnano<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

<sup>b</sup> Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

**Introdução:** A reativação de hepatite B e C pode ocorrer durante o tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC) com inibidores de tirosinoquinase (ITQ). **Objetivos:** Avaliar a prevalência de hepatite B (HBV) e C (HCV) em pacientes com LMC e a taxa de reativação de hepatite nesta população durante o tratamento com ITQ, tendo em vista o aumento da prevalência de LMC e a ausência de dados brasileiros sobre a reativação. **Materiais e métodos:** Foram incluídos no estudo todos os pacientes portadores de LMC tratados com ITQ em um único centro entre 2000 e 2022. Foram coletados dados prontuários sobre o status sorológico da HBV e HCV ao diagnóstico da LMC e sobre a ocorrência de reativação durante o tratamento. Foram colhidas novas sorologias de hepatite (ELISA) nos pacientes com mais de 5 anos de uso de ITQ. **Resultados:** Entre outubro de 2019 e fevereiro de 2022, foram analisados 249 pacientes (56 óbitos, 5 perdas de seguimento e