

progredir para investigações adicionais (PCR e SNG) que ofereceram a resposta, qual seja, dois transcritos raros e não detectáveis pelo RT-qPCR. Com relação ao SNG, a sensibilidade da detecção de mutantes, usando um painel de genes, é reduzida já que as sequências são derivadas de células leucêmicas e não leucêmicas. Esta é uma metodologia a ser usada para diagnóstico de LMC em casos de carga leucêmica alta. No entanto, devido ao seu elevado custo em comparação com as demais metodologias existentes, tem sido usada para pesquisas de mutações pós terapias anti-TK para acompanhamento da evolução da doença. **Conclusão:** Graças à redundância de métodos para pesquisa de Ph+ usadas no diagnóstico, foi possível identificar o Ph+ pelo cariótipo e as variantes e14a2 e e14a3 por SNG, evidenciando um caso de transcritos raros.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.377>

POLICITEMIA VERA JAK2 V617F NÃO MUTADO, COM MUTAÇÃO DA CALRETICULINA TIPO 2: RELATO DE CASO

FG Porto, IGHL Metze, PM Campos, GB Oliveira,
GBD Amarante, IBR Filgueiras, EPS Silva,
CC Barbosa, AA Schenka, KBB Pagnano

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
Campinas, SP, Brasil

Objetivo: A policitemia vera (PV) é uma neoplasia mieloproliferativa crônica, que se apresenta mais comumente em homens idosos, com média de idade aos 70 anos. É um importante diagnóstico diferencial de poliglobulia e está associada a predominantemente à mutação do V617F JAK2. Os critérios definidores da doença pela OMS em 2016 são divididos em critérios maiores: Hemoglobina (Hb) > 16,5 g/dL em homens; Biópsia de Medula Óssea (BMO) característica; Presença de mutação do JAK2 V617F ou JAK2 exon 12, e critérios menores: eritropoetina (EPO) suprimida. O diagnóstico requer a presença dos três critérios maiores ou dos dois primeiros maiores associados ao menor. O objetivo deste trabalho é o relato de um paciente com PV sem mutação do JAK2 V617F. **Relato de caso:** Paciente, masculino, 57 anos. Encaminhado para avaliação hematológica em função de plaquetose e hemoglobina no limite superior da normalidade observada em hemograma de seguimento. (Hb: 16,9 Leuco: 9940 Seg: 6150 Linf: 2.500 Pla: 1.133.000). Achado não acompanhado de outras alterações laboratoriais ou clínicas. Realizado mielograma com medula óssea normomaturativa e hiperclerular para a idade, às custas de série eritroide, granulocítica e megacariocítica. A biópsia de medula óssea foi levemente hiperclerular, com relação G/E aumentada e retardo maturativo da série eritrocítica. Série megacariocítica hiperclerular, com intenso pleomorfismo e hemossiderose ausente, com reticulogênese grau 1. O cariótipo foi normal (46XY) e nas análises moleculares a pesquisa da mutação V617F, mutação do exon 12 do JAK-1 e do BCR-ABL foram negativas. Foi detectada a mutação da calreticulina (CALR) tipo 2. Evoluiu durante o seguimento com poliglobulia (Hb: 16,9). Foi iniciado hidroxiureia com aumento progressivo da dose, sendo obtido sucesso

na redução da plaquetose e da poliglobulia, esta sem necessidade de sangria. Diante dessas características, aliadas à raridade da mutação da CALR na PV, foi solicitado dosagem da EPO, que mostrou valor inferior ao da normalidade (3,6 - Referência: 4,3 - 29,0). A análise conjunta da morfologia de medula óssea com os demais critérios da WHO, possibilitaram confirmar o diagnóstico de PV. **Conclusão:** O caso relatado expõe um caso atípico de PV sem mutação do JAK-2, com mutação da CALR. Apesar da raridade da presença da mutação da CALR na PV, faz-se necessário considerar sua pesquisa nos pacientes com poliglobulia sem mutações do JAK-2, mas com outros critérios definidores da doença.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.378>

FOCAL ADHESION KINASE INHIBITION DECREASES CELL VIABILITY AND INDUCES APOPTOSIS IN SET-2 CELLS

ACMM Valente^a, MBM Pereira^b, RT Ribeiro^c

^a Programa Multicêntrico de Pós-graduação em
Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM),
Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF),
Governador Valadares, MG, Brazil

^b Departamento de Ciências Básicas da Vida,
Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF),
Governador Valadares, MG, Brazil

^c Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas,
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade
Federal de Alfenas (UNIFAL), Alfenas, MG, Brazil

Myeloproliferative Neoplasms (MPN) are diseases characterized by accumulation of myeloid cells. Polycythemia vera (PV), Essential Thrombocythemia (TE) and Primary Myelofibrosis (MF) are MPN BCR-ABL negative and mutations in JAK2, MPL and CALR genes are involved in their pathophysiology. For some PV and PMF patients, Ruxolitinib, a JAK inhibitor, has been used, leading to an improvement of constitutional symptoms. However, the allele burden is not completely reduced, and bone marrow transplantation is still the only curative option. Therefore, more studies are necessary to elucidate the mechanisms involved in these diseases. The Focal Adhesion Kinase (FAK) is a tyrosine kinase which participates in adhesion and migration and also has been described as participating in proliferation, cell survival and apoptosis process mainly by activating SRC kinase. FAK has been described as overexpressed in many types of cancer, including acute myeloid leukemia. Moreover, FAK seems to participate in inflammatory process. The aims of this study was to verify the participation of FAK protein in cell viability and apoptosis of SET-2 cells. With this purpose, SET-2 cells, a JAK2V617F positive cell line, were treated with the FAK inhibitor PF-562,271 at 5 μ M and 10 μ M for 72h and cell viability and apoptosis were evaluated. The concentration that inhibits 50% of cell viability (IC50) was also determined. DMSO was used as negative control and Doxorubicin 10 μ M (DOXO) as positive control. SET-2 cells were also treated with Ruxolitinib at 300 nM for 72h. The cell viability and IC50 value for PF-562,271 were evaluated using MTT assay and cleaved PARP and

cleaved Caspase 3 expression were detected by Western Blotting to verify apoptosis. P-SRC and SRC detection was performed to verify whether FAK inhibition inhibited SRC phosphorylation. The IC50 determined was 3,215 μ M. PF-562,271 reduced SET-2 cells viability by 70,2% and 85,4% at 5 μ M and 10 μ M, respectively. Ruxolitinib reduced cell viability by 88,4% at 300nM, compared to DMSO. It was possible to observe that cleaved PARP and cleaved CASP3 expression was increased in SET-2 cells treated with PF-562,271 at 5 μ M and 10 μ M compared to DMSO and also compared to Ruxolitinib 300nM. Therefore, it was possible to verify that FAK participate in cell viability and apoptosis of SET-2 cells. Considering that many studies have demonstrated that in MPN occurs modifications in bone marrow microenvironment, involving inflammation, resistance to apoptosis and excess of proliferation, FAK may participate in the deregulation of this process, justifying more studies regarding signaling pathways involving FAK in MPN. **Funding:** FAPEMIG (APQ02185/16); CT_IN-FRA2013/FINEP; ACMMV receives master's scholarship from FAPEMIG.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.379>

ESTUDO DE DESCONTINUAÇÃO DE FASE I/II DE IMATINIBE APÓS PIOGLITAZONA (EDI-PIO) EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM RESPOSTA MOLECULAR PROFUNDA SUSTENTADA – ANÁLISE DE 5 ANOS DE SEGUIMENTO

KBB Pagnano^a, ABP Lopes^a, EC Miranda^a, GO Duarte^a, MT Delamain^b, SS Medina^a, FV Pericole^a, GBD Amarante^a, BK Duarte^a, GCP Furlin^a, IM Toni^a, EV Paula^a, CA Souza^a

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), SP, Brasil

^b Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais (FCM-MG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Objetivos: avaliar a eficácia e segurança da pioglitazona utilizada concomitante ao imatinibe antes da descontinuação do tratamento. **Métodos:** EDI-PIO (do Estudo de Descontinuação de Imatinibe em Português após Pioglitazona) é um estudo prospectivo, aberto, de braço único, fase I/II de descontinuação. Critérios de inclusão: LMC em fase crônica, tratada com imatinibe por pelo menos 3 anos, com MR 4.5 (Escala Internacional) por 2 anos. Os pacientes receberam pioglitazona 30 mg/dia por via oral por três meses antes da descontinuação do imatinibe. Após a descontinuação, os níveis de BCR-ABL foram medidos por PCR quantitativo em tempo real mensalmente por 12 meses, a cada dois meses no segundo ano e depois a cada três meses. O tratamento com imatinibe foi reiniciado na recidiva molecular (amostra única com valor de PCR >0,1% ou duas amostras consecutivas >0,01%). A sobrevida livre de terapia (SLT) foi calculada a partir da descontinuação do imatinibe até a recaída molecular, progressão ou morte por causas relacionadas à LMC. A sobrevida global (SG) foi calculada a partir da

descontinuação do imatinibe até a última consulta ou data de óbito por qualquer causa. Registro: Clinicaltrials.gov, NCT02852486. **Resultados:** Entre junho/2016 e janeiro/2019, foram incluídos 32 pacientes com LMC, com idade mediana de 54 anos (29-77), tratados com imatinibe por um tempo mediano de 9,5 anos (3-16). A duração mediana de MR4 e MR4.5 foi de 106 e 93 meses, respectivamente. A data de corte desta análise foi 1º de julho de 2022. Um paciente deixou o estudo antes da descontinuação do imatinibe e não foi analisado para SLT e SG. Não houve eventos adversos de grau 3 ou 4 relacionados à pioglitazona. A mediana de seguimento dos 31 pacientes que descontinuaram a terapia foi de 61 meses (37-69). 15/31(48%) pacientes apresentaram sintomas relacionados à síndrome de retirada da medicação. Doze pacientes apresentaram recidiva molecular após uma mediana de 5 meses (2-30). Nove recaídas ocorreram nos primeiros seis meses e três em 7, 13 e 30 meses após a interrupção do imatinibe. Todos os pacientes com recaída alcançaram resposta molecular maior numa mediana de 3 meses (1,8-4,1). Um paciente desenvolveu um adenocarcinoma do canal anal no terceiro ano após a descontinuação e foi tratado com cirurgia e quimioterapia. A SLT foi 71%, 67%, 61% e 61% aos 6,12, 30 e 60 meses, respectivamente. A SG aos 60 meses foi de 95% (IC 95%: 85-100%). Houve 5 casos de COVID-19 entre os 19 pacientes em descontinuação (26%) e dois suspeitos. Quatro casos foram leves e um paciente em MR4.5 morreu devido a COVID-19 grave. O escore de Sokal baixo risco e a duração do MR4.5 foram fatores significativos para SLT prolongada (P=0,032 e 0,012, respectivamente). **Discussão:** A descontinuação do tratamento com ITQ na LMC é bem-sucedida em aproximadamente 40-60% dos pacientes que atingem uma resposta molecular profunda e sustentada. Recaídas podem ocorrer devido à persistência de células-tronco leucêmicas quiescentes (CTL). A pioglitazona, um medicamento usado no tratamento do diabetes, é um agonista de PPAR gama e reduz a atividade de STAT5, e seus alvos a jusante, HIF2 α e CITED2, principais guardiões das CTL quiescente. As CLT residuais podem ser gradualmente purgadas dos nichos da medula óssea pela pioglitazona, sendo o racional para a associação da pioglitazona nesse estudo. **Conclusões:** a combinação de pioglitazona e imatinibe foi segura, sem eventos adversos graves. O seguimento a longo prazo de 5 anos demonstrou respostas moleculares duradouras e estáveis. **Financiamento:** CAPES (bolsa de mestrado ABPL).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.380>

DESCONTINUAÇÃO DE INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA COM RESPOSTA MOLECULAR PROFUNDA SUSTENTADA APÓS UMA FASE DE DESCALONAMENTO DE DOSE (DES-LMC) - RESULTADOS PRELIMINARES

BA Murbach^a, GO Duarte^a, L Palma^b, GBD Amarante^a, SS Medina^a, FVP Souza^a, GC Pavan^a, IM Toni^a, CA Souza^a, F Traina^b, LLF Pontes^b, KBB Pagnano^a