

pequenas estruturas liberadas por diversos tipos celulares mediante ativação e que são descritas como possíveis biomarcadores de gravidade clínica em diferentes doenças. Níveis elevados de MVs de plaquetas e de células endoteliais foram descritos na TE e as MVs de plaquetas foram associadas a risco trombótico na doença. Alguns trabalhos mostram que os níveis de MVs variam de acordo com a mutação existente nos genes JAK2, CARL e MPL, que estão relacionados a esse distúrbio, e que a terapia citorrredutora com hidroxiureia pode modular essa contagem. Neste trabalho, investigamos os níveis de MVs de plaquetas e de plaquetas ativadas no plasma de pacientes com TE e sua associação com a mutação JAK2. Foram incluídos no estudo 16 pacientes com TE (11 com presença da mutação em JAK2 e 5 sem). Dentre os 16 pacientes estudados, 10 estavam em tratamento com hidroxiureia. O sangue foi coletado para o isolamento de MVs do plasma seguindo o protocolo descrito por nosso grupo (Olatunya et al., 2019). A quantificação das MVs foi realizada por citometria de fluxo. A população de MVs foi identificada pela marcação duplo-positiva de lactaderina+calceína e os números de MVs de plaquetas e plaquetas ativadas foram avaliados pela marcação com CD41 e CD41+CD62P, respectivamente. Os dados obtidos mostram que os pacientes com TE sem a mutação em JAK2 possuem níveis maiores de MVs de plaquetas ativadas em comparação ao grupo com a mutação ($2,32 \times 10^6 \pm 182866$ vs $1,68 \times 10^6 \pm 185198$ /mL, respectivamente $p=0,047$). Não houve diferença nos níveis de MVs de plaquetas nos dois grupos estudados ($3,00 \times 10^6 \pm 1,127 \times 10^6$ vs $5,948 \times 10^6 \pm 1,678 \times 10^6$ /mL, respectivamente). Alguns trabalhos relacionaram a presença da mutação em JAK2 nos pacientes com TE a números elevados de MVs circulantes. Os nossos dados mostram que, na população estudada, os níveis de MVs de plaquetas ativadas parecem ser maiores nos pacientes que não possuem a mutação em JAK2. A possível relação da presença ou não da mutação com a modulação dos níveis de MVs na TE permanece desconhecida. Considerando a relevância dos estudos com MVs como possíveis biomarcadores de gravidade clínica, os dados obtidos podem fornecer novos insights para explorar a relação das mutações envolvidas nas síndromes mieloproliferativas e sua relação com os níveis de MVs liberados na circulação.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.216>

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DAS CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS MULTIPOTENTES NA PROLIFERAÇÃO DE LINHAGENS CELULARES JAK2V617F+ MUTADAS

GM Berbel, JG Cominal, FA Castro, MC Cacemiro

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas (NMP) BCR-ABL1-negativas clássicas caracterizam-se pelo aumento da proliferação de células mieloides precursoras e maduras. Nesse estudo, foi avaliado o efeito das células mesenquimais

multipotentes (MSC) normais (HS-5), na proliferação da linhagem celular HEL 92.1.7 JAK2V617F+. As células mesenquimais constituem uma população de células não hematopoéticas presentes no nicho da medula óssea. As MSC proporcionam o microambiente medular ideal para a célula tronco hematopoética manter seu potencial de auto-renovação e as protegem de estímulos pró-apoptóticos, além de desempenharem um papel imunoregulador. **Material e métodos:** Células da linhagem HEL 92.1.7 JAK2V617F positiva (ATCC®TIB-180™), provenientes de paciente com policitemia vera que progrediu para leucemia mieloide aguda foram cocultivadas com células HS-5. As MSC na concentração de 5×10^4 células por poço foram plaqueadas em placas de 6 poços, seguido da adição de 1×10^5 células HEL.92.1.7 por poço, marcadas com o fluorocromocell-trace violet (CTV). Um milhão e duzentas mil células foram marcadas com $1 \mu\text{L}$ de CTV, por 30 minutos a 37°C na ausência de luz. Em seguida o CTV não ligado foi inativado pela adição de 5 mL de meio RPMI com 10% de soro bovino fetal seguida pela centrifugação das células a $400 \times g$ por 5 minutos e o precipitado celular foi ressuspenso em meio RPMI. O cocultivo foi realizado por 24, 48 e 72 horas. A proliferação das células HEL.92.1.7 foi analisada pela diminuição da fluorescência do CTV, por meio da análise em citômetro de fluxo (FACSCanto, BD). **Resultados:** Os resultados observados indicam que as células HEL.92.1.7 cultivadas na presença da HS-5 proliferaram menos do que células cultivadas sem a interação com as células mesenquimais HS-5 nos tempos de 24, 48 e 72 horas ($p=0,0004$; $p=0,0185$; $p=0,0224$, respectivamente). **Discussão:** As células mesenquimais parecem desempenhar um papel imunossupressor sobre as células JAK2V617F positivas, diminuindo sua proliferação celular. **Conclusão:** As células estromais mesenquimais multipotentes representam uma ferramenta atraente para reduzir a resposta e proliferação de células positivas JAK2V617F. Financiamento: CAPES (código 001), CNPq and FAPESP (2018-01756-5; 2018/19714-7). Palavras chave: neoplasias mieloproliferativas, células estromais mesenquimais multipotentes, HEL 92.1.7, mutação JAK2V617F, proliferação celular.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.217>

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DE 24 PACIENTES PORTADORES DE MASTOCITOSE SISTÊMICA (MS): ESTUDO UNICÊNTRICO

LL Marchi, L Nardinelli, L Bassoli, MD Jacomassi, EA Rosseto-Welter, V Rocha, EDRP Velloso

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

Objetivos: Analisar as características clínicas e laboratoriais de pacientes portadores de mastocitose sistêmica (MS). **Material e métodos:** Estudo observacional retrospectivo, de 01/03/19 a 28/02/21, incluiu pacientes com diagnóstico de MS em seguimento no ambulatório da hematologia do HC FMUSP. Realizada análise de prontuários, entrevistas presenciais,



dosagem da triptase, coleta de material para estudo de mutação KITD816V por PCR digital e aplicação do escore Mastocytosis Activity Score adaptado (MASadp, F Siebenhaar · 2018). Foram considerados apenas os dados válidos para as análises. **Resultados:** Foram encontrados 24 pacientes com MS. Mediana da idade ao diagnóstico de 45,4 anos (13 – 64), 70,8% do sexo feminino, 87,5% brancos e 62,4% com ao menos ensino médio completo. Ao diagnóstico, sintomas mais relatados foram: lesões de pele (87%), sintomas alérgicos (65%) e diarreia (43%), gatilhos foram: fricção (85%), alteração da temperatura (70%) e água quente (65%). A mediana do tempo do início dos sintomas até o diagnóstico foi de 10 anos (3 – 30) e 41,2% dos pacientes apresentaram episódio de anafilaxia prévio. O MASadp teve mediana de 8 (0 – 27). A mediana do valor da triptase sérica foi 59,7 ng/mL (16,7 – 228). A pesquisa da mutação D816V foi positiva (89%). Infiltrados densos de mastócitos em medula óssea (61%), imunofenótipo anômalo dos mastócitos (70,4%) e mielograma com presença de mastócitos em (38%). Em relação à classificação da OMS, foi evidenciado apenas subtipo indolente (62,5%) e agressivo (37,5%). Os sistemas mais acometidos foram: tegumentar (91,7%), hematopoiético (87,5%) e esquelético (50%). O escore prognóstico clínico da clínica de Mayo demonstrou a predominância dos pacientes com baixo risco (64%). Tratamento sintomático foi realizado com anti-histamínicos (95,8%) e antileucotrienos (20,8%). Durante o acompanhamento 8 pacientes fizeram tratamento citoreduzidor, o interferon foi a medicação mais utilizada (2 em tratamento ativo e 4 prévios) e dois pacientes em uso de midostaurin. **Discussão:** O presente trabalho fez um dos raros levantamentos de características clínicas e laboratoriais dos pacientes com MS no Brasil. Por ser uma doença rara e pouco difundida, o diagnóstico da MS ainda é feito tardiamente, evidenciando mediana de 120 meses do início dos sintomas até o diagnóstico, resultado similar encontrado na literatura. Em semelhança com a corte história da clínica Mayo, os valores de triptase, escore prognóstico e a idade apresentaram distribuição similar a nossa casuística. Em contraste, houve diferença da distribuição dos subtipos clínicos e a predominância do gênero feminino. **Conclusão:** As características clínicas e laboratoriais da MS na população brasileira ainda permanecem desconhecidas. A realização de registro nacional pode auxiliar na compreensão do comportamento clínico e laboratorial desta doença rara em nossa população e auxiliar no manejo clínico desses pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.218>

CLINICAL, CYTOGENETIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF BRAZILIAN COHORT PATIENTS WITH PRIMERY MYELOFIBROSIS AND MYELOFIBROSIS POST-POLYCYTHEMIA VERA AND POST-ESSENTIAL THROMBOCYTHEMIA

RS Tavares^a, NCD Clementino^b, MRM Conchon^c, KBB Pagnano^d, SA Santana^b, ACKVD Nascimento^e, VAM Funke^f,

RT Centrone^g, FS Seguro^h, JAP Bortoliniⁱ, DA Silveira^h, I Bendit^h

^a Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brazil

^b Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

^c Hospital Santa Marcelina (HSM), São Paulo, SP, Brazil

^d Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^e Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^f Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

^g Instituto Hemomed de Oncologia e Hematologia, São Paulo, SP, Brazil

^h Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

ⁱ Centro de Pesquisas Oncológicas (CEPON), Florianópolis, SC, Brazil

Introduction: Myelofibrosis (MF) is the most severe myeloproliferative neoplasia (MPN), with a very variable survival, which can be beyond 20 years to less than two years. The only curative treatment is allogeneic bone marrow transplantation (ABMT), but this is restricted to patients of less advanced age and is associated with significant mortality and disease relapse. Adequate prognostic characterization is essential for therapeutic decision-making, and modern prognostic indexes using molecular and cytogenetic data have been replacing the traditional indexes. **Materials and methods:** Clinical and laboratory data were evaluated, bone marrow and peripheral blood karyotype were studied, and BCR-ABL1, JAK2, CALR, MPL, ASXL1, SRSF2, EZH2, IDH1, IDH2, U2AF1 mutations were investigated. The classic IPSS, DIPSS, DIPSS plus, and the most recent MIPSS70, MIPSS70 plus, MIPSS 70 plus 2.0, GIPSS, and MYSEC-PM indexes were applied to a population of 230 patients from 8 Brazilian institutions with primary myelofibrosis (MFP) and secondary myelofibrosis polycythemia vera (PV-MF) and essential thrombocythemia (TE-MF) and compared among themselves. **Results and conclusions:** The median-age was 65 years-old, the overall survival was 8.1 years (CI 95%, 7,2 – 10,7), with a 5 years estimated survival of 61% (53 – 70). Comparing the prognostic indexes with each other identified a greater accuracy of the prognostic indexes that use mutational and cytogenetic data on the classic prognostic indexes. In the univariate analysis, advanced age, male gender, spleen size, hemoglobin, white blood cell count, peripheral blood blast percentage, SRSF2 mutation, triple-negative patients, IPSS, DIPSS and DIPSS plus stratification, MIPSS70 high risk and MIPSS70 plus high and very high risk showed impact in survival. In the multivariate analysis, triple-negative for JAK2 V617F, CARL, and MPL ($p=0,002$) and stratification by IPSS ($p < 0,0001$) maintained significance as risk factors for overall survival. The present study is the most extensive Brazilian cohort study of patients with MF evaluating these variables.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.219>

