

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia

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

^b Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Objetivos: Avaliar a eficácia de um protocolo de descontinuação de inibidores de tirosina quinase (ITQ) precedido de uma fase de descalonamento de dose antes da interrupção do tratamento. O objetivo primário é a avaliação da sobrevida livre de tratamento (SLT) aos 12 meses após a descontinuação do ITQ. **Materiais e métodos:** Estudo multicêntrico, prospectivo em andamento. Critérios de inclusão: LMC em fase crônica, com transcritos BCR-ABL típicos, em tratamento com ITQ por no 3 anos, com resposta molecular profunda (RM4.5) por 2 anos. Foram excluídos pacientes em fase avançada prévia ou atual, com resistência prévia ou mutações do ABL. Antes da suspensão do tratamento, foi realizado o descalonamento do ITQ para 50% da dose atual por 6 meses. Durante a fase de descalonamento foi realizado monitoramento de PCR quantitativo para BCR-ABL (PCRq) mensal. Após a descontinuação do ITQ o paciente foi monitorado com avaliações clínicas, hemograma e PCRq a cada 4 semanas por 6 meses, a cada 2 meses nos meses 7-24 e depois a cada 3 meses. A terapia foi reiniciada na perda de RMM (PCRq < 0.1%). A SLT foi avaliada a partir da data da descontinuação até a recaída molecular, reintrodução do tratamento ou morte por causas relacionadas a LMC. **Resultados:** Entre setembro de 2020 e julho de 2022 28 pacientes foram incluídos no estudo, um apresentou falha de screening. A mediana de idade dos 27 participantes foi 62 anos (35-87), 59,3 homens, 42,3 % Sokal baixo risco ao diagnóstico, 46,2% intermediário, 11,5% alto; 80% com transcrito BCR-ABL do tipo b3a2; 81,5% estavam em uso de Imatinibe, 7,4% Dasatinibe, 7,4% Nilotinibe e 3,7% Bosutinibe. A mediana da duração do tratamento com ITQ até o início do descalonamento foi de 134 meses (39-224); a duração da RM 4.5 foi de 101 meses (25-168). Sete pacientes encontram-se na fase de descalonamento, 12 estão em fase de descontinuação da terapia e 7 perderam a RMM, sendo necessário reintrodução do tratamento. Um paciente perdeu RMM na fase de descalonamento e não prosseguiu para a fase de descontinuação. Seis de 26 (23%) pacientes perderam RMM na fase de descontinuação (2 casos em segunda tentativa de descontinuação). O tempo mediano entre a descontinuação e a perda da RMM foi de três meses (0-3). A SLT foi de 56% para todo o grupo e 64% para os pacientes na primeira tentativa de descontinuação ($P < 0,001$). Todos os pacientes recuperaram MR4.0 após a reintrodução do ITQ. Uma paciente idosa faleceu por quadro sepse após infecção urinária (não relacionada a LMC), sem perda da resposta molecular. Seis dos 19 pacientes que descontinuaram o tratamento (31,5%) tiveram sintomas relacionados à síndrome de retirada da medicação (grau 1 e 2). Não houve nenhum caso de progressão da doença. **Discussão:** A descontinuação da terapia é atualmente um dos objetivos do tratamento da LMC. No estudo DESTINY o descalonamento de dose foi feito por 12 meses, e a SLT aos 36 meses foi de 72% nos pacientes com RM4.0. Nos resultados preliminares do presente estudo, 6 pacientes perderam RMM após a descontinuação, e dois destes pacientes estavam em

segunda tentativa de descontinuação, onde é esperado uma menor taxa de sucesso. **Conclusões:** até o momento, a taxa de SLT foi semelhante a outros estudos. O estudo está em fase de recrutamento de pacientes e o benefício clínico da estratégia de redução de ITQ por 6 meses antes da interrupção do tratamento serão avaliados no seguimento. **Financiamento:** CNPQ.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.381>

EVOLUÇÃO CLÍNICA DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA COM MUTAÇÃO T315I

BA Murbach ^a, VHL Guidini ^b, GC Pavan ^a, IM Toni ^a, CA Souza ^a, AC Vigorito ^a, KBB Pagnano ^{a,b}

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

^b Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Objetivos: Avaliar a evolução clínica dos pacientes com LMC com mutação T315I com as opções terapêuticas disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS). **Materiais e métodos:** foram coletados dados clínicos e laboratoriais de pacientes com LMC resistentes a pelo menos um ITQ e que apresentassem a mutação T315I. A pesquisa de mutações foi realizada pela técnica de sequenciamento (Sanger). A sobrevida global (SG) foi calculada a partir da data da detecção da mutação até óbito ou último seguimento. **Resultados:** Entre setembro de 2004 e junho de 2022 foram identificados 12 pacientes com a mutação T315I entre 37 casos de LMC (32,4%) onde foram pesquisadas mutações do ABL. Em dois casos outras mutações (M351T e E255K) precederam o aparecimento da T315I; 66,6% eram homens, a mediana de idade ao diagnóstico da mutação foi de 58,8 anos (33 – 64), 50% com transcrito BCR-ABL do tipo b3a2 e 20% do tipo b2a2; 50% estavam em fase crônica, 33,3% na fase acelerada e 16,6% em crise blástica. Tratamentos prévios: todos foram tratados com imatinibe e 10 pacientes foram tratados previamente com hidroxiureia; 33,3% receberam tratamento com Interferon. Um paciente foi tratado com Interferon após a detecção da mutação. Todos os pacientes apresentaram resistência ao imatinibe, com perda de resposta hematológica e citogenética. A mediana de tempo entre o diagnóstico da doença e a detecção da mutação foi de 43,4 meses (8-151); a mediana da duração do tratamento com imatinibe até a detecção da mutação foi de 20,8 meses (2-149). Após a falha ao imatinibe, 50% receberam Dasatinibe, 33,3% Nilotinibe como segunda linha de tratamento e 8,33% usaram ambas as terapias. Medicamento em uso na detecção da mutação: imatinibe (50%), dasatinibe (30%), nilotinibe (20%) e Hidroxiureia (8,3%). Três pacientes (25%) foram submetidos a transplante alogênico de medula óssea, e um paciente aguarda a realização do procedimento. Houve um sucesso no tratamento; 66,6 % dos participantes tiveram progressão da doença, 83,3% foram a óbito por progressão de doença. A SG

em 80 meses foi de 8,7%. **Discussão:** Apesar da excelente sobrevida que a maioria dos pacientes com LMC apresenta com os ITQ, cerca de 30% apresentam falha ao tratamento. Um dos mecanismos mais frequentes de mutação são as mutações que ocorrem no domínio da tirosina quinase do ABL. A mutação T315I afeta o sítio de ligação do ATP e confere resistência a todos os ITQ aprovados, com exceção do ponatinibe. O asciminibe é um novo inibidor do sítio miristoil do ABL que também demonstrou eficácia contra essa mutação. Cerca de 41% de pacientes resistentes com mutação T315I obtiveram resposta molecular maior e 29% de pacientes com T315I tratados previamente com ponatinibe apresentaram resposta. No entanto, esses inibidores ainda não estão disponíveis no SUS, sendo a única alternativa para a mutação T315I o transplante de medula óssea, nem sempre viável dependendo da idade, comorbidades do paciente ou da disponibilidade do doador. Somente dois pacientes foram submetidos ao transplante e somente um obteve boa resposta. Em 50% dos casos houve progressão da doença e em 83,3% óbito, relacionado ou não à doença. **Conclusões:** A mutação T315I ainda é um desafio no tratamento da LMC no SUS, pela indisponibilidade de drogas mais eficazes, conferindo ao paciente um prognóstico desfavorável. O transplante de medula óssea permanece no momento como única alternativa de tratamento nessa situação.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.382>

ANALYTICAL PERFORMANCE OF A DNA/RNA-BASED NEXT-GENERATION SEQUENCING (NGS) PANEL FOR MYELOID NEOPLASMS

FK Marques^{a,b}, FLO Marinho^a, SSS Araújo^c, AP Sabino^b

^a Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

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

^c Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

Myeloid neoplasms (MNs) are a heterogeneous group of neoplasms including acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndrome, myeloproliferative neoplasms and myelodysplastic syndrome/myeloproliferative neoplasms. MNs show a complex genetic basis, and the number of alterations to be analyzed for risk diagnostic, stratification and management of patients increases continuously. Consequently, there is a demand for multiple molecular and cytogenetic techniques with the aim of detecting a wide variety of genetic abnormalities. Since conventional techniques are insufficient to study all such abnormalities, the NGS panel has become a useful tool for broad characterization of the spectrum of mutations in MNs. However, before NGS panels can be introduced in the laboratory routine, their performance should be evaluated. In this context, we describe the analytical performance of the OncoPrintTM Myeloid Research Assay (OMA) (Thermo Fisher), a DNA/RNA-based amplicon sequencing panel, that evaluated simultaneously 40 genes (17 full genes and 23 hotspots genes) and 29

fusions drivers genes (over 600 partners) known to be recurrently mutated in MNs. Commercial controls Seraseq Myeloid Mutation DNA and the Seraseq Myeloid Fusion RNA were used for sensitivity, specificity, accuracy, repeatability, reproducibility and limit of detection (LoD) testing. Prospective sequencing was performed for samples from 34 patients presenting with suspected or confirmed MN. Libraries were prepared by manual method and sequenced by the Ion S5 Sequencer. Data obtained were analysed on Ion Reporter 5.18 software. The OMA assay showed good performance in terms of depth of coverage, on-target reads, and uniformity. The mean reads length ranged from 223 to 231 bp for DNA sample and from 88 to 124 bp for RNA, within the expected standard for the panel. The panel achieved 98,8% and 100% concordance with DNA and RNA controls, reaching analytical sensitivity of 99% and 100% for DNA and RNA, respectively. Regarding the type of DNA mutation: single nucleotide variants (SNP), indels or indels hot spots, the sensitivity found was 100%, 96% and 95%, respectively. The accuracy and analytical specificity was 100% for DNA panel. The LoD was 5% variant allele fraction (VAF) for DNA (SNP and indel) and 1-log reduction from initial number of reads counts for RNA fusion genes. Repeatability and reproducibility were 98% for DNA and 100% for RNA. However, the coefficient of variation (CV) within-run and between-run in VAF was >20% for large indels in CALR, FLT3 (ITD) and SRSF2. The vertical coverage of each sample was inspected with a coverage threshold of 100X. Some amplicons in the assay failed repeatedly (ASXL1_1.875, BCOR_8.202477, BRAF_18.30633, CEBPA_1.1.86676, PRPF8_12.173121, SH2B3_1.85663). However, the OMA is unable to detect specific variants in ASXL1 (c.1900_1922del23 and c.1934_1935insG) and CEBPA (c.68_69insC). This is a known limitation of the Ion Torrent chemistry for accurate sequencing of large homopolymers and high GC content regions. Of the 34 patient samples, 28 (87.5%) had at least one reportable variant. A total of 58 DNA variants and six gene fusions were detected. Some variants were confirmed by orthogonal techniques. In conclusion, OMA is a highly accurate and reproducible NGS panel for the detection of common genetic abnormalities in MNs.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.383>

RELATO DE CASO: LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA RESISTENTE AO TRATAMENTO

MV Diniz^{a,b}, AP Silva^{a,b}, DRC Silva^a, GS Arcanjo^{b,c}, RA Brandão^a, BLD Hatzlhofer^{c,d}, ARL Araújo^{b,c}, MAC Bezerra^{b,c}

^a Hospital das Clínicas (HC), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^b Programa de Pós-Graduação em Genética (PPGG), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^c Laboratório Central (LABCEN), Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^d Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil