

**PERFIL CLÍNICO E LABORATORIAL DE PACIENTES POSITIVOS PARA
BCR-ABL1 NO ESTADO DO AMAZONAS.**

THAINÁ CRISTINA CARDOSO COSTA

**MANAUS
2020**

THAINÁ CRISTINA CARDOSO COSTA

**PERFIL CLÍNICO E LABORATORIAL DE PACIENTES POSITIVOS PARA
BCR-ABL1 NO ESTADO AMAZONAS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia da Universidade do Estado do Amazonas em Convênio com a Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas para obtenção do grau de *Mestre em Ciências Aplicadas à Hematologia*.

Orientador (a): Prof^a. Dra. Adriana Malheiro Alle Marie

Coorientador (a): Prof^a Dra. Andréa Monteiro Tarragô

**Manaus
2020**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

C837pp Costa, Thainá Cristina Cardoso
Perfil clínico e hematológico de pacientes positivos para
BCR-ABL1 no Amazonas / Thainá Cristina Cardoso
Costa. Manaus : [s.n], 2020.
72 f.: color.; 7 cm.

Dissertação - PGSS - Ciências Aplicadas à Hematologia
(Mestrado) - Universidade do Estado do Amazonas,
Manaus, 2020.

Inclui bibliografia

Orientador: Marie, Adriana Malheiro Alle

Coorientador: Tarragô, Andréa Monteiro

1. NMP. 2. transcritos. 3. BCR-ABL1. I. Marie,
Adriana Malheiro Alle (Orient.). II. Tarragô, Andréa
Monteiro (Coorient.). III. Universidade do Estado do
Amazonas. IV. Perfil clínico e hematológico de pacientes
positivos para BCR-ABL1 no Amazonas

Elaborado por Jeane Macelino Galves - CRB-11/463



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS À HEMATOLOGIA – UEA/HEMOAM**



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 011/2020

Ao vigésimo primeiro dia do mês de agosto do ano de 2020, às 09h00, realizou-se na Sala de Aula Nº 10, Bloco E, 1º andar da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas – HEMOAM, sito Av. Constantino Nery, 4397 – Chapada, a Defesa de Dissertação de Mestrado da discente **Thainá Cristina Cardoso Costa** sob o título “**Perfil Clínico e Hematológico de Pacientes Positivos para BCR-ABL1 no Amazonas**”, tendo como orientadora a Profa. Dra. **Adriana Malheiro Alle Marie** e como coorientadora a Profa. Dra. **Andréa Monteiro Tarragô** segundo encaminhamento do Prof. Dr. Nelson Abrahim Fraiji, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Hematologia e de acordo com os registros constantes na Secretaria Geral da Universidade do Estado do Amazonas, a Banca julgadora foi composta pelos seguintes componentes, que deram o parecer final sobre a Defesa, tendo sido atribuído ao aluno o conceito discriminado no parecer da referida Comissão.

Membros	Parecer	Assinatura
Prof. Dr. Allyson Guimarães da Costa – Presidente	Aprovado(a) <input checked="" type="checkbox"/> Reprovado(a) <input type="checkbox"/>	Assinatura: <u>Allyson G. Costa</u> CPF: <u>887.165.932-87</u>
Prof. Dr. Francisco Erivaldo Vidal Barros- UFAM	Aprovado(a) <input checked="" type="checkbox"/> Reprovado(a) <input type="checkbox"/>	Assinatura: <u>Francisco Erivaldo Vidal Barros</u> CPF: <u>830.626.293-04</u>
Profa. Dra. Lucivana Prata de Souza Mourão - UEA	Aprovado(a) <input checked="" type="checkbox"/> Reprovado(a) <input type="checkbox"/>	Assinatura: <u>Lucivana Mourão</u> CPF: <u>600.903.572-15</u>

O parecer final da Defesa de Dissertação foi:

Aprovado

Não Aprovado

Allyson G. Costa
Presidente da Banca Examinadora

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha **família**, principalmente a minha mãe **Dalva Cardoso** e avó **Heraldina Cardoso** pelo apoio incondicional em todos os momentos difíceis da minha trajetória acadêmica e por serem as duas maiores incentivadoras das realizações dos meus sonhos. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Neste momento, após longas orientações, choros, estresses e noites mal dormidas, finalizo mais uma etapa da minha vida. O mestrado em Hematologia era um objetivo a ser alcançado desde a época que eu era uma aluna de iniciação científica, um sonho que, por muitas vezes, parecia impossível e inalcançável.

Diante dessa conquista agradeço primeiramente a **Deus**, que me deu o dom da vida, e a força necessária para lutar pelos meus objetivos.

À minha **família** que é o pilar de toda a minha estrutura, meu alicerce e é nela que encontro forças todos os dias para seguir em frente. Muito obrigada meus amores.

Ao amor da minha vida, meu mundo, minha mãe **Dalva Regina Cardoso Costa** por ser uma mulher maravilhosa que sacrificou seus sonhos em prol dos meus e participou de cada decepção, superação e conquistas na minha vida, a você meu amor e exemplo de vida, agradeço a possibilidade de realizar este grande sonho e outros que virão, a vitória é nossa. Te amo!

À minha orientadora, **Profa. Dra. Adriana Malheiro Alle Marie**, por aceitar me orientar no mestrado e ser essa mulher esplêndida e de fibra, por ter contribuído com meu crescimento pessoal e profissional.

À minha coorientadora, **Prof. Andréa Monteiro Tarragô**, uma mulher maravilhosa e incrível, agradeço por ter compartilhado comigo seus conhecimentos em hematologia, por toda paciência, compreensão e zelo, enfim, por toda a contribuição para meu crescimento pessoal e profissional. Você é um exemplo a ser alcançado!

À Doutora **Nadja Pinto Garcia** por ter confiado e acreditado que eu pudesse desenvolver um projeto com leucemia.

Aos amigos **Lilyane Xabregas, Geyse Adriana, Yanna Vieira, Thaís Maquiné e Salete Vieira** por todo apoio pessoal e profissional nos momentos em que mais precisei. Vocês são maravilhosos!

Às minhas meninas superpoderosas **Juliana Affonso e Keyla Sousa**, que foram maravilhosas comigo desde o início. Obrigada por todo apoio e cuidado. Vocês são únicas!

Às alunas de iniciação científica **Alicia Cacau e Miliane Araújo** pela ajuda na obtenção de dados, sem vocês eu não teria conseguido. Obrigada!

Aos amigos que o HEMOAM me proporcionou, **Hiochelson, Stephanny, Alexander, Allyson, Péricles**. Quando eu mais precisava, vocês sempre estavam ali com uma palavra de conforto, muito obrigado pela força, contem sempre comigo!

Aos amigos da **Pós-Graduação em hematologia (PPGH-UEA)**, conseguimos galera!

Aos meus amigos do **Núcleo de Apoio ao Ensino e Pesquisa NAEP-HEMOAM** pelos momentos inesquecíveis que passei com vocês.

A todos do **Laboratório Genômica - LABGEN**, por me receber de braços abertos no laboratório, por toda ajuda e momentos maravilhosos que passei com vocês.

A todos do **Laboratório de Análises Clínicas – LAC** por conceder ajuda na parte do projeto.

A todos os docentes do **Programa de Pós-Graduação em hematologia** por todos os ensinamentos e pela excelência do Programa.

A todos os Pacientes da **Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM)**, pois sem eles esta pesquisa não teria sido concretizada.

À **Universidade do Estado do Amazonas (UEA)** pela oportunidade de cursar o mestrado em Hematologia.

À **Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM)** por ceder o laboratório genômica para eu executar parte do projeto.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, a **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)** e a **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM)** pela Bolsa de Mestrado e auxílio financeiro concedidos.

EPÍGRAFE

“Quando acordei hoje de manhã, eu sabia quem eu era, mas acho que já mudei muitas vezes desde então”.

Lewis Carroll.

RESUMO

Introdução: Atualmente, sabe-se que as Neoplasias Mieloproliferativas Crônicas (MPNs) estão associadas com anormalidades clonais, sendo uma delas o BCR-ABL1. A oncoproteína BCR-ABL1 é resultante de uma translocação recíproca dos cromossomos 9 e 22 e, apresenta uma constitutiva atividade de tirosinoquinase (TK). Frequente em mais 95% de pacientes com leucemia mieloide crônica, também pode estar presente em outras MPNs. Apesar de haver estudos científicos nacionais e internacionais sobre a frequência do BCR-ABL1 em pacientes MPNs, não foram encontrados na literatura pesquisas referentes a distribuição e tipos de transcritos BCR-ABL1 na região do estado do Amazonas. **Objetivos:** Descrever o perfil clínico, laboratorial e as principais comorbidades de pacientes positivos para BCR-ABL1 p210 qualitativo atendidos na Fundação HEMOAM. **Material e Métodos:** Realizou-se um estudo retrospectivo e transversal, utilizando dados clínicos e laboratoriais de 135 pacientes sob suspeita de leucemia mieloide crônica, atendidos no HEMOAM. Utilizou-se o teste de *Mann Whitney* para comparar os grupos estudados. Para a análise de sobrevida foi utilizado o método de *Kaplan-Meier* (teste de log-rank) para demonstrar o tempo de óbito em 16 meses após o resultado do exame qualitativo para BCR-ABL1. **Resultados:** Dos 135 pacientes estudados, 97 (71,9%) foram positivos para BCR-ABL1, 29 (21,5%) negativos para BCR-ABL1 e 9 (6,6%) foram excluídas amostras de pacientes que não apresentaram - se satisfatórias para análise. 71 (56,3%) pacientes eram do sexo masculino e 59 (43,7%) do sexo feminino. A média de idade entre os grupos que variou em torno de 48.95 ± 19.24 (BCR-ABL1+) e 53.41 ± 17.43 (BCR-ABL1-). Também notou - se que o transcrito b3a2 (63,9%) foi o mais frequente, seguido do transcrito b2a2 (32%), b3a3 (2,1%), b3a2/b2a2 (1%) e b3a2/b3a3 (1%). Foi observado no perfil hematológico e bioquímico que os leucócitos ($p < 0,0077$), blastos ($p < 0,0140$), promielócitos ($p < 0,0478$), metamielócitos ($p < 0,0290$), neutrófilo bastão ($p < 0,0061$), basófilos ($p < 0,0027$) e plaquetas ($p < 0,0352$) foram significativamente mais elevados nos pacientes BCR-ABL1+ em comparação com pacientes BCR-ABL1-. Já na análise entre os transcritos b3a2 e b2a2, foi observado um aumento estatístico significativo no percentual de mielócitos ($p < 0,0181$) e metamielócitos ($p < 0,0256$) no grupo b3a2 em relação ao grupo b2a2. Quanto as outras variáveis dos perfis, não houve diferenças estatísticas notáveis em todos os grupos estudados. Em relação a presença de comorbidades, a Hipertensão Arterial e Diabetes Mellitus foram as mais frequentes em todos os grupos estudados. Não observamos uma significância estatística na comparação entre os grupos BCR-ABL1+ e BCR-ABL1- na análise de sobrevida. **Conclusão:** O transcrito b3a2 é o mais frequente dentro da população de pacientes BCR-ABL1-positivo no estado do Amazonas e parece está mais associado a um maior perfil leucocitário (mielócitos e metamielócitos), visto que apresenta uma atividade tirosinoquinase inferior ao transcrito b2a2. Além disso, a hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus parecem ser mais frequentes nesses pacientes.

Palavras-chave: BCR-ABL1, b3a2, b2a2, NMP, LMC, transcritos, Amazonas.

ABSTRACT

Introduction: Currently, it is known that Chronic Myeloproliferative Neoplasms (MPNs) are associated with clonal abnormalities, one of which is BCR-ABL1. The oncoprotein BCR-ABL1 is the result of a reciprocal translocation of chromosomes 9 and 22 and has a constitutive tyrosine kinase (TK) activity. Common in over 95% of patients with chronic myeloid leukemia, it can also be present in other NPMs. Although there are national and international scientific studies on the frequency of BCR-ABL1 in MPN patients, no research was found in the literature regarding the distribution and types of BCR-ABL1 transcripts in the region of the state of Amazonas.

Objectives: To describe the clinical, laboratory and main comorbidities of patients positive for qualitative BCR-ABL1 p210 treated at the HEMOAM Foundation. **Material and Methods:** A retrospective and cross-sectional study was carried out, using clinical and laboratory data from 135 patients under suspicion of chronic myeloid leukemia, seen at HEMOAM. The MannWhitney test was used to compare the groups studied. For the survival analysis, the Kaplan- Meier method (log-rank test) was used to demonstrate the time of death in 16 months after the result of the qualitative examination for BCR-ABL1. **Results:** The 135 patients studied, 97 (71.9%) were positive for BCR-ABL1, 29 (21.5%) negative for BCR-ABL1 and 9 (6.6%) samples from patients who did not present - if satisfactory for the analysis. 71 (56.3%) patients were male and 59 (43.7%) female. The mean age between the groups was around 48.95 ± 19.24 (BCR-ABL1 +) and 53.41 ± 17.43 (BCR-ABL1-). It was also noted that the transcript b3a2 (63.9%) was the most frequent, followed by the transcript b2a2 (32%), b3a3 (2.1%), b3a2 /b2a2 (1%) and b3a2 / b3a3 (1%). It was observed in the hematological and biochemical profile that leukocytes ($p < 0.0077$), blasts ($p < 0.0140$), promyelocytes ($p < 0.0478$), metamyelocytes ($p < 0.0290$), neutrophil rod ($p < 0.0061$), basophils ($p < 0.0027$) and platelets ($p < 0.0352$) were significantly higher in BCR-ABL1 + patients compared to BCR-ABL1- patients. In the analysis between the transcripts b3a2 and b2a2, a statistically significant increase was observed in the percentage of myelocytes ($p < 0.0181$) and metamyelocytes ($p < 0.0256$) in the b3a2 group in relation to the b2a2 group. As for the other variables in the profiles, there were no notable statistical differences in all groups studied. Regarding the presence of comorbidities, Arterial Hypertension and Diabetes Mellitus were the most frequent in all studied groups. We did not observe statistical significance when comparing the groups BCR-ABL1 + and BCR-ABL1- in the analysis of survival. **Conclusion:** The b3a2 transcript is the most frequent within the population of BCR-ABL1-positive patients in the state of Amazonas and seems to be more associated with a higher leukocyte profile (myelocytes and metamyelocytes), since it has a lower tyrosine kinase activity than the b2a2 transcript. In addition, systemic arterial hypertension and diabetes mellitus seem to be more frequent in these patients.

Keywords: BCR-ABL1, b3a2, b2a2, MPN, LMC, transcripts, Amazonas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cascata hematopoiética.....	3
Figura 2 : Translocação t (9;22) (q34; q11).....	6
Figura 3 : Principais vias ativadas por BCR-ABL	7
Figura 4: Ação dos inibidores de tirosina quinase no BCR-ABL.....	11
Figura 5 : Percentual de sobrevivência de pacientes BCR-ABL1+ e BCR-ABL1-	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 : Análise diagnóstica para leucemia mieloide crônica de acordo com as novas recomendações do European LeukemiaNet 2020	10
Tabela 2 : Prováveis mecanismos de resistência ao TKI.....	13
Tabela 2 : Definição de Resposta Hematológica, Citogenética e Molecular....	14
Tabela 4 : Definições para tratamento de LMC expressa em BCR-ABL1 de acordo com as novas recomendações da European LeukemiaNet 2020.....	15
Tabela 5 : Dados sociodemográficos e clínicos de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1	23
Tabela 6 : Dados sociodemográficos e clínicos de pacientes com transcritos b3a2 e b2a2	24
Tabela 7 : Distribuição de distúrbios hematológicos de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1	24
Tabela 8 : Perfil Hematológico e Bioquímico de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1.....	26
Tabela 9 : Perfil Hematológico e Bioquímico de pacientes com transcritos b3a2 e b2a2	27
Tabela 10 : Distribuição de comorbidades de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1.....	29
Tabela 11 : Distribuição de comorbidades de pacientes com os transcritos b3a2 e b2a2	30
Tabela 12 : Frequência de transcritos b3a2 e b2a2 em diferentes países.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADE DE MEDIDA

ABL1	<i>do inglês 'Abelson leukemia virus1'</i>
ATP	<i>do inglês 'Adenosine triphosphate'</i>
BCR	<i>do inglês breakage cluster region</i>
BCR-ABL1	<i>gene de fusão formado pelos genes bcr e abl</i>
CB	<i>Crise blástica</i>
cDNA	<i>DNA complementar</i>
Cg	<i>Citogenética</i>
c-kit	<i>do inglês 'tyrosine-protein kinase Kit'</i>
DEPC	<i>Dietilpirocarbonato</i>
DNA	<i>do inglês 'deoxyribonucleic acid'</i>
dNTP	<i>deoxinucleotídeo trifosfato</i>
EDTA	<i>do inglês 'Ethylenediamine tetraacetic acid'</i>
ERK	<i>do inglês 'extracellular-signal-regulated kinases'</i>
FA	<i>Fase acelerada</i>
FC	<i>Fase crônica</i>
FT	<i>Falha terapêutica</i>
GELN	<i>grupo europeu LeukemiaNet</i>
INCA	<i>Instituto Nacional de Câncer</i>
JAK	<i>do inglês 'janus kinase'</i>
LMC	<i>leucemia mielóide crônica</i>
MAPK	<i>do inglês 'mitogen-activated protein kinases'</i>
M-bcr	<i>do inglês 'major bcr'</i>
m-bcr	<i>do inglês 'minor bcr'</i>
μ-bcr	<i>do inglês 'micro bcr'</i>
MDR-1	<i>do inglês 'multidrug resistance protein 1'</i>
MO	<i>Medula óssea</i>
MPN	<i>do inglês 'myeloproliferative neoplasms'</i>
PCR	<i>do inglês 'polymerase chain reaction'</i>
PDGFR	<i>do inglês 'platelet-derived growth factor receptor'</i>
Ph	<i>cromossomo 'Philadelphia'</i>
PI3K	<i>do inglês 'phosphatidylinositol 3-kinase'</i>
P-loop	<i>do inglês 'phosphate-binding loop'</i>
Primer	<i>do inglês 'short DNA fragment'</i>
RAS	<i>do inglês 'rat sarcoma virus'</i>
RH	<i>resposta hematológica</i>
RHC	<i>resposta hematológica completa</i>
RCg	<i>resposta citogenética</i>
RCgC	<i>resposta citogenética completa</i>
RCgP	<i>resposta citogenética parcial</i>
RCgMe	<i>resposta citogenética menor</i>
RCgMi	<i>resposta citogenética mínima</i>
RCgN	<i>resposta citogenética nula</i>
RM	<i>Resposta molecular</i>
RMC	<i>resposta molecular completa</i>
RMM	<i>resposta molecular maior</i>
RNA	<i>do inglês 'ribonucleic acid'</i>

RNAase	<i>do inglês 'ribonuclease'</i>
RNA_m	<i>RNA mensageiro</i>
RS	<i>Resposta subótima</i>
RT	<i>do inglês 'reverse transcriptase'</i>
RT-PCR	<i>do inglês 'Reverse transcription polymerase chain reaction'</i>
SRC	<i>do inglês 'short for sarcoma'</i>
STAT5	<i>do inglês 'signal transducer and activator of transcription 5'</i>
SUS	<i>Sistema Único de Saúde</i>
TK	<i>do inglês 'tyrosine-kinase'</i>
TKI	<i>do inglês 'tyrosine-kinase inhibitors'</i>
TMO	<i>transplante de medula óssea</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Hematopoese.....	2
1.2. Neoplasias mieloproliferativas crônicas	3
1.2.1. Leucemia mieloide crônica	4
1.2.2. Gene BCR	7
1.2.3. Gene ABL	8
1.2.4. Gene BCR-ABL1	8
1.2.5. Manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento.....	9
1.3. Inibidores de tirosina quinase (TKIs).....	10
1.4. Mecanismo de resistência.....	12
1.5. Resposta ao tratamento com Inibidores de tirosina quinase.....	14
1.6. Monitoramentos do tratamento com inibidores de tirosina quinase.....	15
2. OBJETIVO.....	19
2.1. Objetivo geral	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1. Aspectos éticos	20
3.2. Modelo de Estudo	20
3.3. Critérios de Inclusão e Exclusão	20
3.4. Coleta de Dados.....	20
3.5. Análises Estatísticas	21
4. RESULTADOS.....	22
4.1. Dados demográficos e características clínico-epidemiológicas.....	22
4.2. Dados do perfil hematológico e bioquímico de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1	25
4.3. Distribuição das principais comorbidades encontradas nos pacientes analisados.....	29
4.4. Sobrevida global de pacientes BCR-ABL1+ e BCR-ABL1	31
5. DISCUSSÃO	32
6. CONCLUSÃO.....	37
7. REFERÊNCIAS	38
8. ANEXOS.....	51

1. INTRODUÇÃO

1.1. Hematopoese

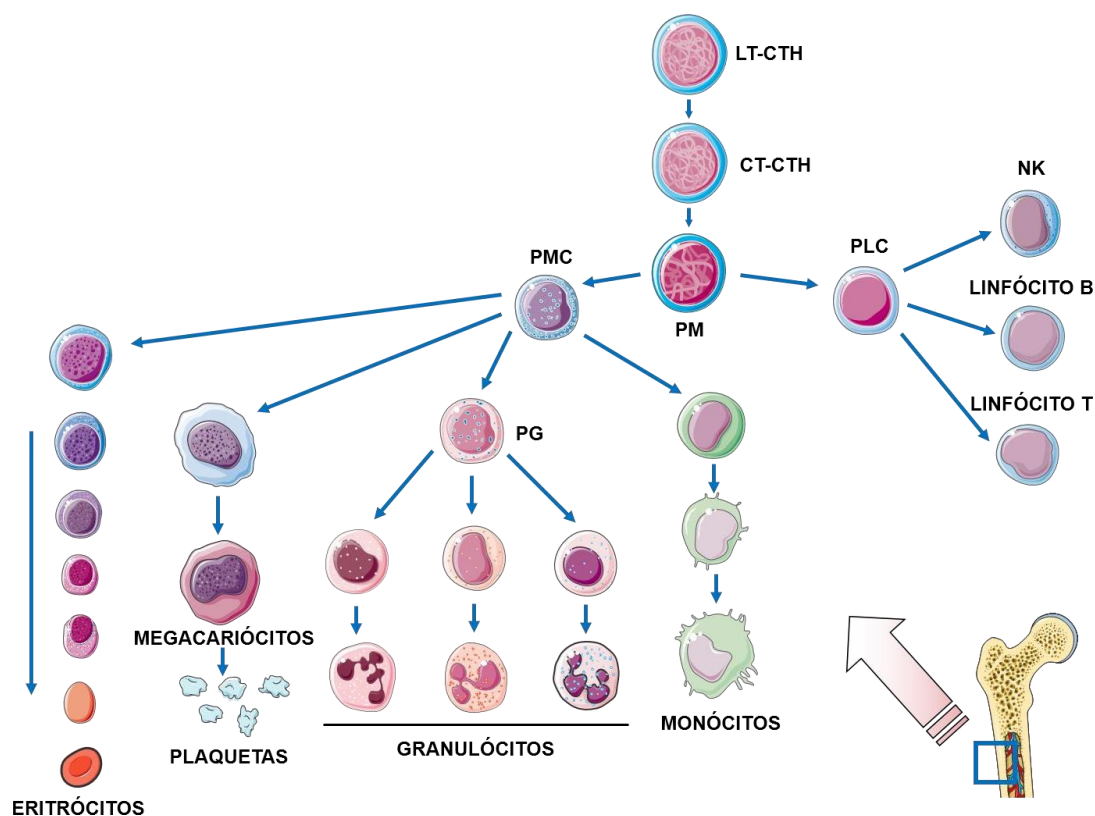
A hematopoese é o processo biológico de autorrenovação celular que acontece através das etapas de produção, diferenciação e maturação de células sanguíneas, ocorrendo sobretudo na medula óssea em adultos ^(1,98). A medula óssea fornece constantemente à circulação periférica células maduras e pode aumentar a produção celular se as condições hematológicas forem desfavoráveis, proporcionando sítios hematopoiéticos extramedulares como fígado e baço ^(1, 98).

Esse processo inicia-se durante a vida embrionária e deve perdurar por toda a fase adulta ocorrendo diariamente, através de respostas de citocinas e hormônios que atuam como reguladores da cascata hematopoiética, ligando-se a receptores específicos nas superfícies das células-tronco e células progenitoras exercendo atividades modulatórias sobre elas ^(98, 99, 100).

A manutenção do grupo das células que iniciam essa cascata, se dá através da autorrenovação das células-tronco hematopoiéticas de longo tempo (LT-CTHs) processo pelo qual essa célula gera uma célula-tronco hematopoiética (CTH) filha idêntica e com a mesma capacidade de autorrenovação ^(98, 99, 100). Ademais, através de divisão assimétrica a LT-CTH, além da célula-filha idêntica, também dá origem a células-tronco hematopoiéticas de curto tempo (CT-CTH) que possui menor capacidade de autorrenovação e se diferencia em progenitor multipotente (PM); este por sua vez, diferencia-se progressivamente em progenitores mais comprometidos até originar as linhagens linfóide, mieloide e eritrocítica ^(98, 99, 100)

Na medula óssea normalmente se encontram todas as linhagens celulares hematopoiéticas (linhagens eritrocítica, mieloide e linfóide), maduras e imaturas, não obstante no sangue periférico em condições normais quase sempre se encontra células maduras. No entanto, em situações particulares (fisiológicas ou patológicas) onde ocorre uma desregulação da hematopoese, pode ocorrer uma superprodução de células maduras ou imaturas originando distúrbios hematológicos, como nas neoplasias, síndromes mielodisplásicas ou leucemias ^(1, 98, 99).

Figura 1: Cascata hematopoiética.



LT-CTH= células-tronco hematopoiéticas de longo tempo; ST-CTH= células-tronco de curto tempo, LT-CTH, PM= Progenitor Multipotente. PMC= Progenitor Mieloide Comum. PLC= Progenitor Linfóide Comum, PG= Progenitor de Granulócitos, NK= células *Natural Killer*. **Fonte:** Adaptado de EAVES, 2015.

1.2. Neoplasias mieloproliferativas crônicas

As Neoplasias mieloproliferativas crônicas (MPNs) são desordens hematopoiéticas clonais de células-tronco caracterizadas pela excessiva proliferação de uma ou mais linhagens mielóides (granulocítica, eritroide e megacariocítica), sendo elas atualmente, Leucemia Mieloide Crônica BCR-ABL1-positiva e as BCR-ABL negativas: Policitemia Vera (PV), Mielofibrose Primária (MP), Trombocitemia Essencial (TE), leucemia eosinofílica crônica, leucemia neutrofílica crônica e neoplasia mieloproliferativa inclassificável ⁽¹⁾.

Apesar de apresentar progressão lenta de início e o princípio de benignidade, cada MPN possui um potencial de sofrer uma progressão gradual que pode terminar em falência medular devido a mielofibrose, hematopoiese ineficaz, ou transformação para uma fase aguda de explosão (fase blástica).

Rastreios durante exames de evolução genética geralmente notifica a progressão da doença, como aumento ou diminuição da contagem sanguínea, mielofibrose e o início da mielodisplasia, o achado de 10-19% de explosões na região periférica do sangue ou medula óssea, geralmente significa fase acelerada da doença e uma proporção 20% é suficiente para o diagnóstico de fase de agudização ⁽¹⁾.

Atualmente, sabe-se que as MPNs estão associadas com anormalidades clonais envolvendo genes que codificam a nível citoplasmático ou proteína receptora tirosina quinase (resultando na ativação constitutiva de substâncias oncogênicas nas vias de sinalização) ou ainda, ocorrendo nos reguladores dessas vias. As anormalidades descritas até o momento incluem translocações, inserções, exclusões e mutações pontuais de genes resultando em proteína anormal ativada constitutivamente que ativam o sinal das vias de transdução, levando a alterações na proliferação, sendo elas: JAK2-V617F, MPL, CALR e BCR-ABL1. Em certas circunstâncias, essas anormalidades genéticas, como o BCR-ABL1, gene de fusão presente na leucemia mieloide crônica (LMC), estão associados a dados clínicos, laboratoriais e morfológicos, o que permite seu uso como principais critérios de classificação ⁽¹⁾.

1.2.1. Leucemia mieloide crônica

A LMC é uma neoplasia mieloproliferativa crônica que corresponde a cerca de 15% dos casos de leucemias em adultos ^(7,8,9), apresentando uma incidência de 1 a 2 casos para cada 100.000 pessoas, prevalecendo entre a quinta e sexta décadas de vida, sendo rara em crianças ⁽⁴⁾. Casuísticas nacionais mostram que a idade média para o diagnóstico dos pacientes está em torno de 45 anos ^(4,8). Em alguns países, como o Brasil, os levantamentos apontam para uma diminuição na idade de incidência da LMC ⁽¹⁰⁾. Existe uma leve predominância em pacientes do sexo masculino, sendo a proporção de 1,2–2,1 casos em homens para um caso em mulheres ^(7,11). Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2018 a estimativa de novos casos de leucemias foi de 10.800 casos, sendo 5.940 homens e 4.860 mulheres. Na

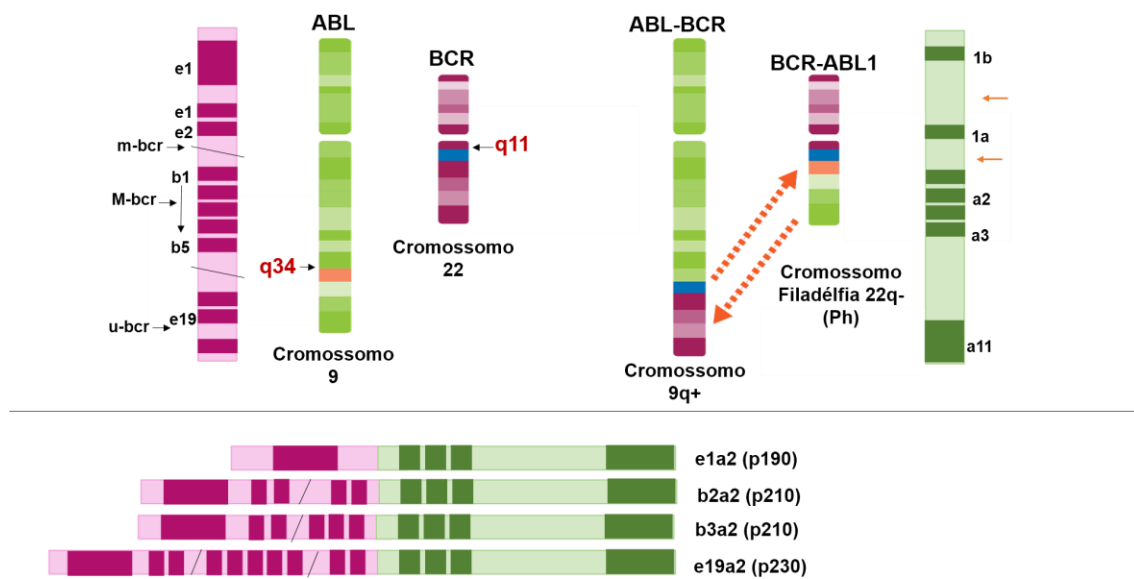
região norte, a leucemia em homens é a sexta mais frequente e, para mulheres, a sétima ⁽³²⁾.

Classicamente, a LMC é uma doença que apresenta uma evolução de curso clínico trifásico: fase crônica (FC), fase acelerada (FA) e fase blástica (FB), entretanto, em alguns casos, o paciente pode desenvolver um curso clínico bifásico, ou seja, passa diretamente da FC para FB (2). Durante a FC, o desenvolvimento da doença tem progressão lenta com expansão anormal de células granulocíticas que contribui para um aumento de leucócitos circulantes no sangue periférico, a maioria dos pacientes são diagnosticados nessa fase e podem apresentar sintomas comuns como, fadiga, mal-estar, perda de peso, sudorese noturna, anemia e cerca de 50% dos pacientes apresentam esplenomegalia palpável ^(1,32) e pode progredir para a FA, que tem como característica a resistência a medicamentos, e uma redução gradativa da diferenciação celular.

Por fim, sem uma terapia eficaz, o paciente pode progredir para a FB que apresenta uma duração de 3 a 6 meses, onde são caracterizados clinicamente pelo declínio status de desempenho, presença de febre e perda de peso, e sintomas relacionados à anemia grave, trombocitopenia e leucocitose. Além disso, os pacientes com LMC podem apresentar um quadro de infiltrado extramedular de blastos, levando o doente a apresentar leucemia aguda, resultando na maioria dos casos em morte dos pacientes com LMC ^(1, 2, 31,32).

A nível molecular, a doença é resultante de uma translocação recíproca dos cromossomos 9 e 22 – t (9;22) formando o cromossomo *Philadelphia (Ph)* (Figura 2) ⁽³⁾. Essa translocação da origem ao gene BCR-ABL formado pela fusão do gene *Abelson murine leukemia viral oncogene homolog (ABL1)*, localizado no cromossomo 9, com o gene *breakpoint clusterregion (BCR)*, localizado no cromossomo 22 ^(4,5), codificando uma oncoproteína que possui uma elevada atividade tirosina quinase e que desregula vias de sinalização ligadas a proliferação, apoptose e diferenciação celular ⁽³⁴⁾.

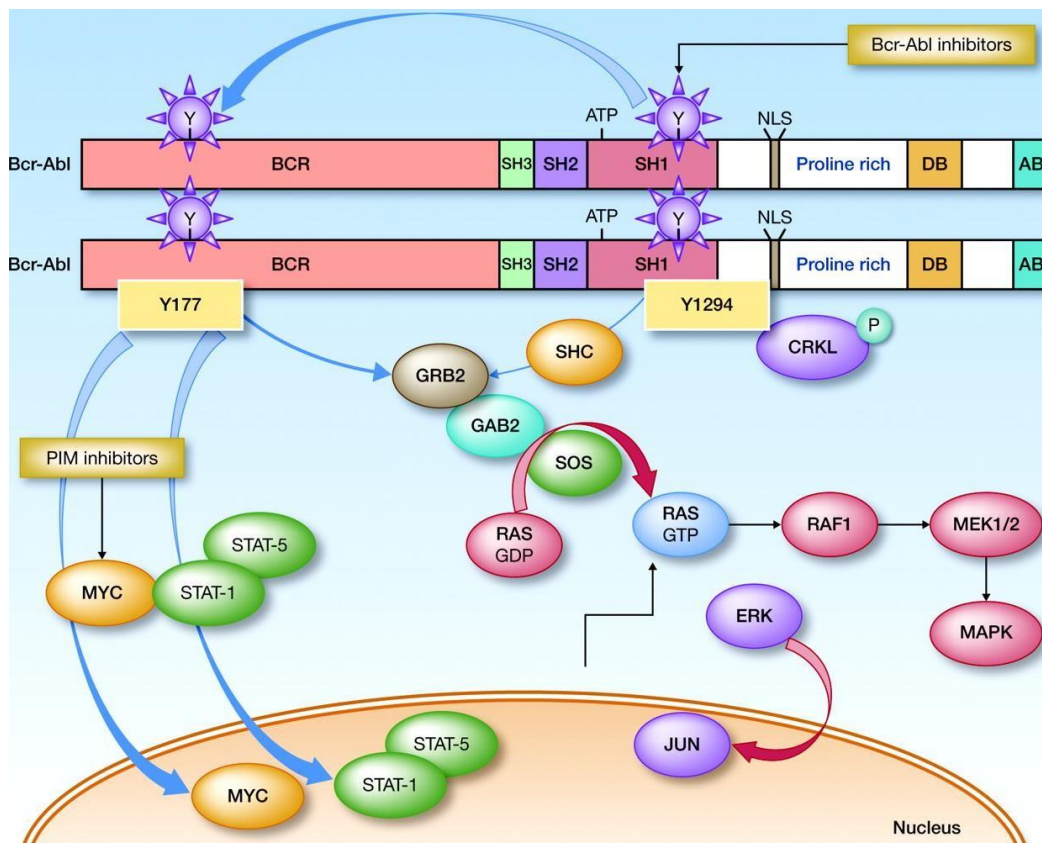
Figura 2 : Translocação t (9;22) (q34; q11). Os cromossomos 9 e 22 normais carregam os genes c-ABL e c-BCR, respectivamente.



Fonte: Adaptado de SMITH *et. al.*, 2003.

As principais vias implicadas na sinalização e ativadas direta ou indiretamente a partir da ativação da proteína quinase BCR-ABL estão ligadas às alterações características da LMC e em geral são: *RAS* (*rat sarcoma virus*) leva ao aumento da proliferação celular; *MAPK* (*mitogen-activated protein kinases*); *ERK* (*extracellular-signal-regulated kinases*), *PI3K* (*phosphatidylinositol 3-kinase*); *Jak* (*janus kinase*); *STAT5* (*signal transducer and activator of transcription 5*) levando a diminuição da apoptose; desregulação da citoadesão celular, havendo liberação prematura de células mieloides imaturas na circulação (efeito da CRKL); alterações na angiogênese; e aumento da instabilidade genética responsável pela progressão da doença (16,17). Algumas destas vias são ativadas por mecanismos independentes da tirosina quinase BCR-ABL (figura 2) (35, 36, 37).

Figura 3 : Principais vias ativadas por BCR-ABL.



Fonte: CILLONI, 2012.

1.2.2. Gene BCR

A proteína BCR (*Breakpoint Cluster Region Protein*) possui 160 kDa de peso molecular e é expressa de forma ubíqua pelos tecidos, sendo codificada pelo gene BCR localizado no cromossomo 22 (22q11) ⁽³⁹⁾. Estruturalmente, o gene BCR tem um tamanho total de 135 Kb e possui vários pontos funcionais ⁽⁴⁰⁾. No terminal amínico (N), encontra-se um domínio que permite a dimerização in vivo e outro que confere a atividade de quinase de serina- treonina. Os únicos substratos conhecidos para esta quinase são elementos da família das proteínas 14-3-3. A parte central do gene codifica um fator de troca de guanosinas, o *GEF* - *Guanine Nucleotide Exchange Factors*, cuja função é mediar a ativação da RHO, uma proteína envolvida na ativação de fatores de transcrição, como o *NF-κB*. O terminal carboxílico (C) codifica uma GTPase com atividade na proteína RAC, que por sua vez se encontra envolvida na regulação da polimerização da actina e da atividade da NADPH oxidase das células fagocíticas ⁽⁴²⁾.

1.2.3. Gene ABL

O gene ABL tem 11 exons possuindo o tamanho de 255kb, sendo o seu peso molecular de 145 kDa e em condições normais codifica a proteína ABL que apresenta três domínios de homologia SRC (short for sarcoma) (SH1, SH2, SH3), que regulam a atividade de tirosina quinase e um local de miristoilação, que permite a associação da proteína codificada com outras proteínas da membrana. A zona central e o terminal carboxílico incorporam locais de ligação a diferentes estruturas, como o ADN e a actina. O domínio SH1 exerce a função de tirosina quinase, enquanto os domínios SH2 e SH3 permitem a interação com outras proteínas e regulam a atividade tirosina quinase do gene ABL ⁽³⁸⁾. As alterações nos domínios SH3 e SH2 interferem com o potencial de transformação e malignidade da proteína, aumentando-o ou reduzindo-o ⁽³⁸⁾. A proteína apresenta duas isoformas que se distinguem pelo seu tamanho e localização: a isoforma A, que se encontra no citoplasma, é ligeiramente menor, pois não apresenta o local de miristoilação, contrariamente à isoforma B, localizada no núcleo ^(39,40). A proteína ABL normal é expressa de forma ubíqua, ou seja, de forma geral e, encontra-se envolvida na regulação do ciclo celular, na resposta ao estresse genotóxico e na transmissão de informação com o microambiente celular ^(38,41).

1.2.4. Gene BCR-ABL1

Na formação do gene de fusão BCR-ABL1 o local da quebra em ABL é pouco variável e ocorre dentro de um segmento com mais de 300kb na região 5' terminal, podendo ocorrer entre o exon 1b e exon 1a, em direção 5' ao exon 1b, ou em direção 3' ao exon 1a ^(42,43). A região de quebra do gene BCR é mais variável podendo ocorrer em três diferentes regiões. Na maioria dos pacientes com LMC o gene bcr apresenta ponto de quebra numa região de 5,8kb, conhecida como major-bcr (M-bcr) entre os exons 12-16 (conhecidos como b1-b5) ^(2, 43). A maioria das quebras associadas ao M-bcr acontecem entre o exon 13 ou 14 (conhecidos como b2-b3). Os demais pontos de quebra ocorrem no exon 1 (e1a2), em uma região conhecida como minor-bcr (m-bcr) e entre o exon 19 e 20 (e19a2) na região micro-bcr (μ -bcr) ⁽⁴³⁾. Independentemente da

localização exata do ponto de quebra do gene *abl*, o splicing alternativo do RNAm resulta na fusão do gene *bcr* ao exon 2a do gene *abl*, formando um RNAm do tipo e13a2 (isoforma b2a2) e/ou e14a2 (isoforma b3a2), ambas as isoformas codificam uma proteína quimérica de 210kd (p210-BCR-ABL1) ⁽⁴⁸⁾

1.2.5. Manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento

A maioria das pessoas não diagnosticadas com LMC não apresentam sintomas no momento do diagnóstico ^(18,19). Entre os sintomáticos, os principais sintomas característicos de LMC são a sensação de cansaço, fadiga, sudorese noturna, perda de peso, febre, dores ósseas, aumento do baço, sensação de saciedade após uma pequena refeição. Mas esses sintomas também podem aparecer em outras doenças ^(1,18). A sintomatologia da LMC pode estar ligada à diminuição da produção do perfil mieloide da medula óssea e sangue periférico, que ocorre quando as células da linhagem mieloide imatura leucêmica assume o lugar das células normais. Esta escassez é detectada nos exames de sangue e pode causar sintomas como anemia, leucopenia, neutropenia, trombocitopenia ⁽¹⁸⁾.

A LMC é frequentemente diagnosticada durante consultas rotineiras e quando um médico suspeita de leucemia e solicita exames de sangue. Mesmo quando os sintomas estão presentes, eles são muitas vezes, vagos e inespecíficos ⁽¹⁹⁾. Para diagnosticar a leucemia mieloide crônica, é necessário um aspirado de medula óssea para a avaliação morfológica, uma vez que a proporção de células blásticas e de basófilos é de grande importância para distinguir a FC da fase acelerada (FA), da crise blástica (CB) e da citogenética ⁽²⁰⁾.

Ademais, uma biópsia nuclear pode ser realizada para avaliar o grau de fibrose que tem importância prognóstica e ajuda a identificar células blásticas não evidentes no aspirado ^(20, 68). A citogenética deve ser realizada por CBA de metáfases coradas por *Giemsa* a partir de células da medula óssea. Consequentemente, uma PCR qualitativa da transcriptase reversa deve ser realizada obrigatoriamente em células sanguíneas periféricas para identificar o

tipo de transcritos BCR-ABL1 que podem ser monitorados adequadamente na avaliação da resposta à terapia com TKI (tabela 1) ^(20,68).

Tabela 1 : Análise diagnóstica para leucemia mieloide crônica de acordo com as novas recomendações do *European LeukemiaNet* 2020.

ANÁLISE DIAGNÓSTICA

Exame físico com palpação para avaliar o tamanho do baço e do fígado.

Contagem completa de células sanguíneas com diferencial microscópico.

Aspirado de medula óssea para exame citológico e citogenético; biópsia.

Análise de bandas cromossômicas (CBA).

Hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) apenas em caso de negatividade Ph.

Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa qualitativa (RT-PCR) para a detecção de transcritos BCR-ABL1 e identificação do tipo de transcrição.

Eletrocardiograma.

Perfil bioquímico padrão com sorologia para hepatite B.

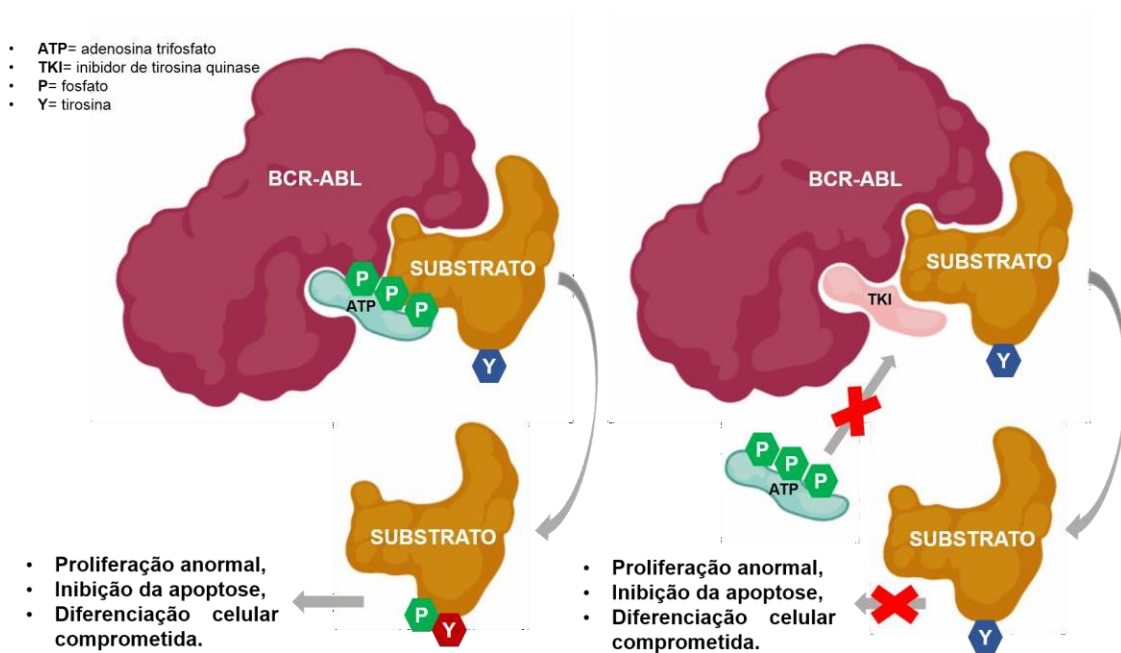
A LMC pode ser tratada por terapia medicamentosa com inibidores de tirosina quinase como imatinibe, dasatinibe, nilotinibe, hidroxiureia, alfa-interferona isolada e por meio de transplante de medula óssea alogênico (TCTH-A), o qual é considerado hoje como o único tratamento curativo da LMC ^(21,22). O mesilato de imatinibe (MI), o medicamento de primeira linha terapêutica, é um inibidor seletivo da BCR-ABL1 tirosina quinase, que induz uma resposta hematológica e citogenética na LMC. Quando o paciente apresenta resistência ou intolerância ao imatinibe, o paciente passa a usar os medicamentos de segunda linha terapêutica, dasatinibe e nilotinibe ⁽²³⁾. O medicamento de escolha vai depender da fase da doença, resposta citogenética e molecular ⁽²²⁾.

1.3. Inibidores de tirosina quinase (TKIs)

O domínio quinase da proteína apresenta uma estrutura bilobal (lobo N-terminal e lobo C-terminal) e entre os dois lobos situa-se o local de ligação para adenosina trifosfato (ATP). Dentro do domínio quinase, quando a alça de ativação é fosforilada, determina-se que a proteína quinase está ativa ^(1, 2, 44). Em tirosinas quinases, o sítio de ativação da fosforilação geralmente é um resíduo de tirosina localizada no meio da alça, que uma vez fosforilada pode

interagir eletrostaticamente com resíduos de arginina vizinhos, resultando na estabilização e abertura da conformação da alça ⁽⁴⁹⁾. Essa conformação da alça permite acesso do peptídeo ao sítio de ligação ^(41, 44). Quando a alça de ativação não é fosforilada (sua forma inativa) pode assumir várias conformações estáveis, geralmente bloqueando o sítio de ligação do peptídeo e inibindo a habilidade de ligação ao ATP ⁽⁴⁴⁾.

Figura 4: Ação dos inibidores de tirosina quinase no BCR-ABL.



Fonte: Adaptado do Lee et al., 2011.

O imatinibe atua através da inibição competitiva pelo sítio de ligação da (ATP) ao domínio quinase BCR-ABL1 na sua conformação inativa. Isso conduz à inibição da fosforilação de proteínas tirosinas quinases envolvidas na transdução de sinais decorrentes da ativação da proteína BCR-ABL1. A atividade tirosina quinase do PDGFR (*platelet-derived growth factor receptor*) e do *c-kit* (*tyrosine-protein kinase kit*) também pode ser inibido pelo imatinibe ⁽⁴⁵⁾.

Dasatinibe (Sprycel[®], Bristol-Myers Squibb) e Nilotinibe (Tasigna[®], Novartis) são TKIs de segunda geração, aprovados para o tratamento, em segunda linha, de pacientes que apresentaram resistência ou intolerância ao tratamento com imatinibe ⁽⁴⁶⁾. O dasatinibe inibe a tirosina quinase BCR-ABL, as quinases da família SRC (*short for sarcoma*), do PDGFR e do receptor *c-kit*. Ele atua no sítio do ATP em ABL e não depende, para a sua ação, se a

proteína está na forma ativa ou inativa, sendo 325 vezes mais potente que o imatinibe em células que expressam o gene BCR-ABL1 ^(37,47,48).

O nilotinibe foi desenvolvido com uma estrutura derivada do imatinibe. Portanto, o nilotinibe se liga a uma conformação inativa da proteína BCR-ABL, ocupando uma região análoga ao que seria ocupada pelo ATP na conformação ativa da enzima. Assim como o imatinibe, o nilotinibe também inibe a atividade tirosina quinase do PDGFR e do receptor *c-kit*. Em células que expressam o gene BCR-ABL1, o nilotinibe é 20 vezes mais potente que o imatinibe ^(49,50). Semelhante ao imatinibe e o dasatinibe, o nilotinibe também é metabolizado pelo fígado, principalmente pelo citocromo P450, apresentando potencial para interações medicamentosas ⁽⁵¹⁾.

Algumas mutações no domínio quinase conferem resistência elevada a um ou mais TKIs. Em particular, a mutação T315I confere resistência aos três TKIs (imatinibe, nilotinibe e dasatinibe). A localização da mutação T315I elimina a ligação de ponte de hidrogênio necessária para a alta afinidade do imatinibe, nilotinibe e dasatinibe, além de alterar a topografia do sítio de ligação do ATP. Na busca de um TKI que atue na presença da mutação T315I, o ponatinibe foi desenvolvido com a incorporação de múltiplos pontos de contato para a conformação inativa do ABL e para a mutação T315I, conferindo uma alta afinidade e potência. Também atua contra outras mutações resistentes ao imatinibe e inibe a família SRC quinase, do PDGFR e *c-kit* ⁽⁵²⁾.

1.4. Mecanismo de resistência

A resistência ao imatinibe pode ser dividida em primária (refratariedade ou intolerância) quando se observa falta de eficácia a partir do início do tratamento com imatinibe e secundária (adquirida) quando uma resposta inicial é perdida devido à perda de eficácia durante o tempo de tratamento com imatinibe ⁽⁵³⁾. Aproximadamente 35% dos pacientes com LMC desenvolvem resistência durante o tratamento com imatinibe ^(25,26, 54).

Uma série de mecanismos foi proposta para explicar a resistência ao imatinibe e aos outros TKIs, como por exemplo, aumento do número de cópias

do gene BCR-ABL1, mutação no domínio quinase BCR-ABL1, inibição incompleta da proteína BCR-ABL1, super expressão de MDR-1 (*multidrug resistance protein 1*) e redução do transportador OCT-1 (*ornithine carbamoyltransferase*) (Tabela 1) ^(26,55).

Tabela 2 : Prováveis mecanismos de resistência ao TKI.

Independente do gene BCR-ABL1	Dependente do gene BCR-ABL1
Redução do transportador OCT1	Aumento da expressão do gene <i>BCR-ABL1</i>
Aumento da expressão do gene <i>BCR-ABL1</i>	Mutação no domínio quinase <i>BCR-ABL1</i>
Aumento de MDR-1	Dependente do gene BCR-ABL1

Fonte: MILOJKOVIC & APPERLEY, 2009.

Apesar de múltiplos fatores contribuírem para a resistência ao imatinibe, a presença de mutação no domínio quinase BCR-ABL1 é mais prevalente e tem sido o mais investigado ⁽⁵⁷⁾. Apesar de mais de noventa diferentes substituições de aminoácidos tenham sido descritas, aproximadamente 85% dos casos positivos para mutação apresentam um dos quinze tipos de mutação relacionados: T315I, Y253F/H, E255K/V, M351T, G250E, F359C/V, H396R/P, M244V, E355G, F317L, M237I, Q252H/R, D276G, L248V, F486S ⁽⁵⁵⁾.

As mutações podem ser classificadas em quatro grupos, com base na estrutura cristalográfica do ABL: a) mutações que prejudicam diretamente a ligação do imatinibe ao domínio catalítico da proteína tirosina quinase BCR-ABL1; b) mutações na alça de fosfato (loop-P); c) mutações na alça de ativação, impedindo que a proteína tirosina quinase BCR-ABL1 atinja a conformação inativa necessária para ligação ao imatinibe; e d) mutações dentro do domínio catalítico com impacto sobre a atividade da proteína tirosina quinase BCR-ABL1. A propósito, mesmo mutações fora do domínio quinase podem levar a autofosforilação, por estabilizarem a molécula na conformação ativa que impede a ligação ao imatinibe ^(27,58).

A identificação de algumas mutações pode influenciar a escolha da terapia subsequente porque no caso de uma mutação T315I, que é altamente resistente ao imatinibe, dasatinibe e nilotinibe, o único tratamento

farmacológico é o ponatinibe. Nas mutações V299L, T315A, ou F317L/V/I/C, nilotinibe é provavelmente mais eficaz do que o dasatinibe. Nas mutações Y253H, E255K / V, ou F359V/C/I, dasatinibe é provavelmente mais eficaz do que nilotinibe. Nas outras mutações provavelmente o dasatinibe e nilotinibe são igualmente eficazes ⁽²⁸⁾.

1.5. Resposta ao tratamento com Inibidores de tirosina quinase

A resposta ao tratamento da LMC com imatinibe é avaliada com os seguintes critérios, sendo a principal, a resposta molecular:

Tabela 3 : Definição de Resposta Hematológica, Citogenética e Molecular.

Resposta Hematológica	Resposta Citogenética	Resposta Molecular
RHC	RCgC: 0% Ph	RMM: Razão BCR-ABL/ABL <0,1% (Queda de 3 LOG)
Leucócitos <10x10 ⁹ /L	RCgP: 1-35% Ph	RM4: Razão BCR-ABL/ABL <0,01% (Queda de 4 LOG)
Basófilo <5%	PCgMe: 36-65% Ph	RM4,5: Razão BCR-ABL/ABL <0,0032% (Queda de 4,5 LOG)
Ausência de mielócito, promielócito e mieloblasto na contagem diferencial	RCgMi: 66-95% Ph	RM5: Razão BCR-ABL/ABL <0,001% (Queda de 5 LOG)
Plaquetas <450x10 ⁹ /L	RCgN: >95% Ph	

Abreviaturas: RHC: resposta hematológica completa, RCgC: resposta citogenética completa, RCgP: resposta citogenética parcial, RCgMe: resposta citogenética menor, RCgMi: resposta citogenética mínima, RCgN: resposta citogenética nula, Ph: cromossomo Philadelphia, RMC: resposta molecular completa, RMM: resposta molecular maior, RM4: resposta molecular com redução ≥ 4 log, RM4,5: resposta molecular com redução $\geq 4,5$ log e RM5: resposta molecular com redução ≥ 5 log.

Fonte: BACCARANI et al., 2009; CROSS et al., 2012.

Um resultado de BCR-ABL1 $\leq 1\%$ (menor que 1%) equivale à remissão citogenética completa, RCgC ⁽⁶⁸⁾. O nível de transcrição BCR-ABL1 $\leq 0,1\%$ é definido como resposta molecular maior (RMM). Presença de transcrito de BCR-ABL1 $\leq 0,01\%$ ou doença indetectável em cDNA com >10.000 transcritos de ABL1 é definido como RM4. Um nível de transcrição BCR-ABL1 $\leq 0,0032\%$ ou por doença indetectável em cDNA com >32.000 transcritos ABL1 no mesmo volume de cDNA usado para testar BCR-ABL1 é definido como RM4,5. A

sensibilidade do ensaio deve ser definida de maneira padronizada quando o mRNA de BCR-ABL1 é indetectável (tabela 2) ^(68,69).

1.6. Monitoramentos do tratamento com inibidores de tirosina quinase

Com o decorrer do tratamento, o paciente alcança diversos tipos de respostas ao TKI em diferentes momentos, sendo elas: Resposta Ótima, Alerta e Falha Terapêutica (tabela 3).

Tabela 4 : Definições para tratamento de LMC expressa em BCR-ABL1 de acordo com as novas recomendações da European LeukemiaNet 2020.

	Resposta Ótima	Alerta	Falha Terapêutica
Linha base	-	ACA de alto risco, escore ELTS de alto risco	-
3 meses	≤10%	> 10%	>10% se confirmado dentro de 1 a 3 meses
6 meses	≤1%	> 1–10%	> 10%
12 meses	≤0,1%	> 0,1-1%	> 1%
A qualquer momento	≤0,1%	>0,1-1%, perda de ≤0,1% (RMM)	>1%, mutações de resistência, ACA de alto risco

Abreviaturas: ACA: anormalidades cromossômicas adicionais nas células Ph +.

A resposta ótima significa que não há indicação de que uma mudança no tratamento possa melhorar a sobrevida. O alerta significa que o paciente ainda poderá ter um benefício a longo prazo, permanecendo com o mesmo tratamento, mas com chances reduzidas de alcançar uma resposta ótima, sendo passível da introdução de uma outra abordagem terapêutica. A falha terapêutica significa que é improvável que o paciente tenha uma resposta favorável, sendo considerado resistente ao tratamento com imatinibe ⁽⁶³⁾.

A análise de mutação é recomendada em pacientes recém-diagnosticados em FA ou CB, no caso de falha terapêutica e em caso de alerta ao imatinibe ⁽²⁷⁾. Os parâmetros atuais definem como falha do tratamento e resistência aos

inibidores de tirosina-quinase são a ausência de alguma resposta hematológica (RH) aos três meses, ausência de resposta hematológica completa (RCC) ou qualquer resposta citogenética aos seis meses, ausência de resposta citogenética maior aos 12 meses e RCC aos 18 meses, além de perda da RH e RCC e mutações com alto grau de insensibilidade ao mesilato de imatinibe (MI) (26,27).

Quando ocorre a falhas de tratamento, a pesquisa de mutações é importante para saber qual é a resistência e identificar a sensibilidade a determinado inibidor de tirosina quinase, avaliando o quanto a droga é capaz de inibir a mutação (27). Se a concentração inibitória (CI 50) for maior, a mutação se torna mais resistente, porque vai ser preciso mais medicamentos para inibição da tirosina quinase (27,62).

A contagem de células sanguíneas e a contagem diferencial de células são necessárias a cada 2 semanas até que uma resposta hematológica completa seja alcançada ou, mais frequentemente, no caso de toxicidade hematológica (62,63). O qPCR nas células sanguíneas, expresso como BCR-ABL1% de acordo com a escala internacional (IS), deve ser realizado pelo menos a cada 3 meses, mesmo após a obtenção e confirmação de um RMM, pois é necessário um monitoramento rigoroso da resposta molecular para avaliar a elegibilidade para a descontinuação do tratamento (62).

A citogenética, pela CBA das metáfases das células da medula, pode ser útil quando realizada, mas sozinha não é suficientemente sensível para monitorar a resposta. No entanto, citogenética deve ser realizada em pacientes com translocações atípicas, transcritos raros ou atípicos de BCR-ABL1 que não podem ser medidos por qPCR, falha / resistência ao tratamento para excluir ACA e com progressão para PA ou PA (62,63).

Com relação ao monitoramento, deve ser pelos níveis de transcrição BCR-ABL1 de acordo com IS aos 3, 6 e 12 meses (tabela 3), avaliando se o tratamento atual deve ser continuado (resposta ideal), alterado (falha / resistência) ou cuidadosamente considerado para continuação ou mudança, dependendo das características, comorbidades e tolerância dos pacientes (aviso). Testes adicionais de qPCR podem ser indicados se a cinética da

resposta não for clara ou se a toxicidade ou intolerância causar interrupções ou reduções de dose. As mesmas definições são recomendadas para o tratamento de segunda linha. Atingir um RMM (BCR-ABL1 \leq 0,1%) prevê uma sobrevida específica da LMC próxima a 100%, pois a progressão da doença é incomum quando esse nível de citorredução for alcançado ⁽⁶²⁾.

Além disso, o hemograma é realizado a cada quinze dias até que a RHC seja alcançada e depois a cada três meses. A citogenética é necessária aos três e seis meses de tratamento e a cada seis meses até o alcance da RCgC. A técnica de análise de bandas de células em metáfase da medula óssea é preferida a hibridização in situ com fluorescência (FISH) porque os tipos de RCg foram definidos através da análise de banda. A quantificação nos níveis de transcrito BCR-ABL1 através do PCR (*Polymerase chain reaction*) quantitativo em tempo real (RQ-PCR) é recomendada a cada três meses até o alcance de uma RMM e também é para monitoramento da cinética dos transcritos ⁽⁶⁴⁾.

Pacientes em alerta precisam de uma monitoração mais frequente. Para monitoração do tratamento com TKIs de segunda e terceira geração, os exames necessários são os mesmos, mas uma maior frequência dos exames pode ser apropriada devido às respostas serem alcançadas mais rapidamente ⁽⁶⁴⁾. A análise de mutação não é útil em pacientes recém-diagnosticados com LMC e em pré-terapia com TKI. Já em pacientes com níveis de BCR-ABL crescente ou resistente à terapia com TKI, a análise de mutação pode identificar uma mutação desfavorável e contribuir para definição da próxima conduta ⁽⁶⁵⁾.

Foi demonstrado que a detecção do gene de fusão BCR-ABL1 em células do sangue periférico e/ou medula óssea faz parte dos critérios essenciais para o diagnóstico da LMC e fundamental para exclusão de outras neoplasias mieloproliferativas crônicas. No entanto, existem estudos que descrevem a presença do gene BCR-ABL1 em outros distúrbios hematológicos em baixos níveis de detecção ou concomitante com outras mutações, reforçando a ideia de realizar pesquisas alusivas ao perfil clínico e epidemiológico de pacientes com essas descrições ^(101, 102, 103).

Apesar de haver diversas referencias científicas nacionais e internacionais sobre a frequência do BCR-ABL1 em pacientes com LMC e outras MPNs ph-negativas, não foram encontrados na literatura pesquisas referentes a distribuição e tipos de transcritos BCR-ABL1 nos pacientes tratados no estado do Amazonas. Uma vez que, a região carece de estudos científicos de perfis clínicos e laboratoriais da população, torna-se necessário um estudo aprofundado a fim de fornecer dados científicos e contribuir para um melhor entendimento da frequência da oncoproteína na região e conhecer o quadro geral clínico dos pacientes atendidos da Fundação HEMOAM.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral

Descrever o perfil clínico, laboratorial e principais comorbidades de pacientes positivos para BCR-ABL1 p210 qualitativo atendidos na Fundação HEMOAM.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever o perfil clínico e laboratorial dos pacientes positivos para BCR-ABL1 atendidos na Fundação HEMOAM no período de 2017 a 2019;
- Correlacionar a presença de transcritos com o perfil clínico e laboratorial em pacientes positivos para BCR-ABL1 atendidos na Fundação HEMOAM;
- Descrever a distribuição das principais comorbidades encontradas nos pacientes positivos para BCR-ABL1 atendidos na Fundação HEMOAM.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (CEP-HEMOAM), CAAE N° 93598718.1.0000.0009.

3.2. Modelo de Estudo

O modelo do estudo é do tipo retrospectivo, transversal, o qual foi realizado com dados de 135 pacientes sob suspeita de leucemia mieloide crônica, atendidos na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas no período de fevereiro de 2017 a dezembro de 2019.

3.3. Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos no estudo pacientes de ambos os sexos e que tiveram as amostras encaminhadas ao laboratório genômica sob suspeita de leucemia mieloide crônica. Foram excluídas amostras de pacientes que não apresentaram - se satisfatórias para a análise.

3.4. Coleta de Dados

Os dados clínicos e laboratoriais foram obtidos a partir dos prontuários os quais ficam disponíveis no Sistema de Atendimentos Médicos e Estatísticos (SAME) e pelo Sistema de Prontuário Eletrônico (iDOCTOR). Foram coletados dados sociodemográficos (idade e gênero), laboratoriais (hemograma, exames bioquímicos e mielograma) e clínicos (presença de transcritos, comorbidades e outras neoplasias).

3.5. Análises Estatísticas

A análise descritiva e estatística dos dados foi realizada por meio do programa *GraphPad Prism* (v6.0) com a utilização de um intervalo de confiança de 95% e os dados considerados com significância estatística foram os que apresentaram *p valor* <0,05. Para a análise das variáveis quantitativas com dois grupos foi usado o teste de *Mann Whitney*. Para a análise de sobrevida foi utilizado o método de *Kaplan-Meier* para demonstrar o tempo de óbito em 16 meses após o resultado do exame qualitativo para BCR-ABL1. A análise estatística foi realizada com o teste log-rank para comparação entre os grupos BCR-ABL1+ e BCR-ABL1-.

4. RESULTADOS

4.1. Dados demográficos e características clínico-epidemiológicas

Foram coletados os dados dos prontuários de 135 pacientes com suspeita de neoplasia mieloproliferativa atendidos na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas no período de fevereiro de 2017 a dezembro de 2019. Dos 135 pacientes estudados, 97 (71,9%) foram positivos para BCR-ABL1, 29 (21,5%) negativos para BCR-ABL1 e foram excluídas 9 (6,6%) amostras pois não se apresentaram satisfatórias para a análise (Tabela 5).

Quanto a distribuição por gênero, 71 (56,3%) pacientes eram do sexo masculino e 59 (43,7%) do sexo feminino. Em relação ao grupo dos pacientes positivos para BCR-ABL1, o sexo masculino (59,8%) apresentou - se mais frequente que o sexo feminino (40,2%), enquanto no grupo dos pacientes negativos para BCR-ABL1, o sexo feminino (55,2%) foi mais predominante que o sexo masculino (44,8%) (Tabela 5).

No que se refere a distribuição por idade, os grupos foram divididos em menores de cinquenta (<50) anos e maiores ou igual a cinquenta (≥50) anos. Sendo assim, foram mais frequentes pacientes ≥50 anos em ambos os grupos positivos (55,7%) e negativos (65,5%). A média de idade entre os grupos que variou em torno de 48.95 ± 19.24 (BCR-ABL1+) e 53.41 ± 17.43 (BCR-ABL1-) (tabela 5).

A respeito da presença de transcritos, notou - se que o transcrito b3a2 (63,9%) foi o mais frequente, seguido do transcrito b2a2 (32%), b3a3 (2,1%), b3a2/b2a2 (1%) e b3a2/b3a3 (1%). Além disso, foi observado que ambos grupos, BCR-ABL1+ (70,1%) e BCR-ABL- (82,8%), apresentavam alguma comorbidade (Tabela 5).

Tabela 5 : Dados sociodemográficos e clínicos de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1.

Variáveis	BCR-ABL1+ n (%)	BCR-ABL1- n (%)
Gênero	97 (100)	29 (100)
F	39 (40,2)	16 (55,2)
M	58 (59,8)	13 (44,8)
Idade	97 (100)	29 (100)
<50	43 (44,3)	10 (34,5)
≥50	54 (55,7)	19 (65,5)
Média ± DP	48.95 ± 19.24	53.41 ± 17.43
Transcrito	97 (100)	-
b3a2	62 (63,9)	-
b2a2	31 (32)	-
b3a3	2 (2,1)	-
B3a2 e b2a2	1 (1)	-
b3a2 e b3a3	1 (1)	-
Comorbidades	97 (100)	29 (100)
Sim	68 (70,1)	24 (82,8)
Não	29 (29,9)	5 (17,2)

Ademais, foi realizada análise da distribuição sociodemográfica entre os transcritos mais frequentes, divididos nos grupos b3a2 e b2a2. Dos pacientes estudados, observou-se que o sexo masculino é mais frequente tanto no grupo b3a2 (58,1%) quanto no grupo b2a2 (64,5%). Acerca da distribuição por idade, observou-se a predominância de pacientes ≥50 anos no grupo b3a2 (56,5%) e no grupo b2a2 (54,8%). No que se refere a presença de comorbidades, foi observado que o maior número de pacientes nos grupos b3a2 (72,6%) e b2a2 (64,5%) apresentavam alguma doença associada (tabela 6).

Tabela 6 : Dados sociodemográficos e clínicos de pacientes com transcritos b3a2 e b2a2.

Variáveis	b3a2 n (%)	b2a2 n (%)
Gênero	62 (100)	31 (100)
F	26 (41,9)	11 (35,5)
M	36 (58,1)	20 (64,5)
Idade	62 (100)	29 (100)
<50	27 (43,5)	14 (45,2)
≥50	35 (56,5)	17 (54,8)
Média ± DP	48.47 ± 20.07	49,94 ± 18.46
Comorbidades	62 (100)	31 (100)
Sim	45 (72,6)	20 (64,5)
Não	17 (27,4)	11 (35,5)

Com relação a distribuição dos distúrbios hematológicos, percebeu-se que no grupo BCR-ABL1+ a maioria dos pacientes foram diagnosticados LMC(67%) seguido de outros distúrbios (20,6%) distribuídos na tabela 7 e, 12,4% não apresentavam um diagnóstico definitivo. Quanto ao grupo BCR-ABL1-, notou-se que 13,8% dos pacientes tinham Trombocitemia Essencial - TE, 10,4% Leucemia Mieloide Crônica - LMC, 10,4% Leucemia Linfóide Aguda - LLA e 30,9% apresentavam outros distúrbios hematológicos. Além disso, 34,5% não possuíam um diagnóstico definido.

Tabela 7 : Distribuição de distúrbios hematológicos de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1.

Distúrbios Hematológicos	BCR-ABL1+ n=97	BCR-ABL1- n=29
LMC, n (%)	65 (67)	3 (10,4)
LLA n (%)	6 (6,2)	3 (10,4)
LMA n (%)	-	2 (6,9)

LLC, n (%)	-	1 (3,4)
LMC/LLA n (%)	1 (1)	-
LMA/LLA, n (%)	-	1 (3,4)
LMMC/Síndrome Mielodisplásica, n (%)	-	1 (3,4)
Policitemia Vera n (%)	3 (3,1)	-
Síndrome Mielodisplásica n (%)	3 (3,1)	-
Trombocitemia Essencial n (%)	3 (3,1)	4 (13,8)
Mielofibrose Primária n (%)	2 (2,1)	2 (6,9)
Trombocitopenia Persistente n (%)	1 (1)	-
Anemia Aplástica Idiopática n (%)	1 (1)	-
Trombocitose Leve e Persistente n (%)	-	2 (6,9)
Sem diagnóstico definitivo n (%)	12 (12,4)	10 (34,5)

4.2. Dados do perfil hematológico e bioquímico de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1.

No que concerne ao perfil hematológico e bioquímico, foi feita uma comparação entre os grupos BCR-ABL1+ e BCR-ABL1- para melhor compreensão. À vista disso, foi observado no perfil hematológico que a quantidade de leucócitos presente nos pacientes foram significativamente mais altos no grupo BCR-ABL1+ quando comparado com o grupo BCR-ABL1- ($p < 0,0077$) (Tabela 8).

Ao analisar o perfil leucocitário, notou-se que percentual de blastos ($p < 0,0140$), promielócitos ($p < 0,0478$), metamielócitos ($p < 0,0290$), neutrófilo bastão ($p < 0,0061$) e basófilos ($p < 0,0027$) foram notadamente mais elevados no grupo BCR-ABL1+ em relação ao grupo BCR-ABL1-. Além disso, percebeu-se que o número de plaquetas foi expressivamente mais alto no grupo BCR-ABL1+ em comparação ao grupo BCR-ABL1- ($p < 0,0352$). As demais variáveis do perfil hematológico e bioquímico presentes na tabela 8 não apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos.

Tabela 8 : Perfil Hematológico e Bioquímico de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1.

Variáveis	BCR-ABL1 + n=97	BCR-ABL1 – n=29	P Value
PERFIL HEMATOLÓGICO	(Média ± DP)	(Média ± DP)	(p<0,05)
Hemácias (/mm ³)	3.64 ± 1.20	3.62 ± 1.10	0,7447
Hemoglobina (g/dL)	10.37 ± 2.88	10.10 ± 2.96	0,6763
Hematócrito (%)	31.76 ± 8.83	30.97 ± 8.93	0,8134
VCM (fL))	88.30 ± 7.40	87.08 ± 11.48	0,3700
HCM (pg)	29.06 ± 3.11	28.36 ± 3.61	0,3419
CHCM (g/dL)	32.86 ± 2.24	32.60 ± 1.43	0,8954
RDW (%)	18.71 ± 3.34	18.02 ± 3.12	0,4695
Leucócitos (/mm ³)	93.05 ± 110.3	27.61 ± 33.71	0,0077
Blastos (%)	5.83 ± 14.01	2.33 ± 6.38	0,0140
Promielócitos (%)	2.72 ± 4.51	0.88 ± 1.81	0,0478
Mielócitos (%)	4.09 ± 5.80	2.28 ± 4.27	0,1306
Metamielócitos (%)	5.38 ± 6.39	2.53 ± 3.41	0,0290
Neutrófilos Bastão (%)	7.32 ± 7.79	2.66 ± 3.36	0,0061
Neutrófilos Segmentados (%)	40.51 ± 20.16	47.95 ± 24.36	0,093
Linfócitos (%)	0.47 ± 16.61	19.08 ± 17.05	0,4766
Linfócitos Atípicos (%)	0.40 ± 1.88	0.28 ± 0.81	0,2945
Monócitos (%)	3.49 ± 3.03	4.62 ± 3.98	0,1375
Eosinófilos (%)	5.67 ± 7.21	4.58 ± 5.42	0,5803
Basófilos (%)	3.40 ± 4.81	0.66 ± 1.29	0,0027
Plaquetas (/mm ³)	501.9 ± 393.6	328.0 ± 290.0	0,0352
VPM (fL)	8.94 ± 1.87	8.77 ± 1.64	0,9571
PERFIL BIOQUÍMICO	(Média ± DP)	(Média ± DP)	(p<0,05)
LDH (U/L)	724.2 ± 498.9	771.9 ± 673.6	0,9276
Glicose mg/dL)	114.1 ± 54.62	109.6 ± 50.26	0,9673

Ureia (mg/dL)	35.31 ± 14.23	30.29 ± 13.39	0,0968
Creatinina (mg/dL)	0.90 ± 0.25	0.84 ± 0.27	0,3221
Ácido Úrico (mg/dL)	6.03 ± 3.74	4.89 ± 1.59	0,0916
TGO (U/L)	32.24 ± 31.35	29.96 ± 14.04	0,651
TGP (U/L)	32.08 ± 33.16	26.60 ± 20.41	0,6127
Gama GT (U/L)	74.64 ± 58.57	64.58 ± 57.14	0,314
Fosfatase Alcalina (U/L)	111.2 ± 85.46	115.7 ± 64.39	0,5688
Bilirrubina Total (mg/dL)	0.58 ± 0.70	0.57 ± 0.28	0,0668
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0.16 ± 0.22	0.17 ± 0.13	0,141
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	0.42 ± 0.53	0.39 ± 0.19	0,1435
Colesterol Total (mg/dL)	149.4 ± 54.82	143.3 ± 35.48	0,7716
Triglicerídeos (mg/dL)	207.1 ± 129.1	165.7 ± 93.76	0,0599

Além disso, foi analisado o perfil hematológico e bioquímico entre os transcritos mais frequentes, divididos nos grupos b3a2 e b2a2. Das variáveis estudadas, foi observado um aumento estatístico considerável no percentual de mielócitos ($p < 0,0181$) e metamielócitos ($p < 0,0256$) no grupo b3a2 quando comparado com o grupo b2a2. Em relação as outras variáveis do perfil hematológico e bioquímico, não houve diferenças estatísticas entre os grupos estudados (Tabela 9).

Tabela 9 : Perfil Hematológico e Bioquímico de pacientes com transcritos b3a2 e b2a2.

Variáveis	b3a2 n=62	b2a2 n=31	P Value
PERFIL HEMATOLÓGICO	(Média ± DP)	(Média ± DP)	($p < 0,05$)
Hemácias (/mm³)	3.67 ± 1.32	3.66 ± 0.92	0,5065
Hemoglobina (g/dL)	10.34 ± 2.97	10.56 ± 2.65	0,5039
Hematócrito (%)	31.61 ± 9.24	32.49 ± 7.93	0,4485
VCM (fL))	87.47 ± 7.42	88.73 ± 5.58	0,4215
HCM (pg)	28.73 ± 3.05	29.40 ± 3.14	0,505

CHCM (g/dL)	32,84 ± 1.93	32.98 ± 2.88	0,6378
RDW (%)	18.71 ± 3.01	18.28 ± 3.55	0,4559
Leucócitos (/mm³)	106.9 ± 131.6	88.89 ± 121.6	0,309
Blastos (%)	5.80 ± 14.06	6.25 ± 14.86	0,835
Promielócitos (%)	2.64 ± 4.20	2.66 ± 4.56	0,5729
Mielócitos (%)	5.06 ± 6.37	1.85 ± 3.24	0,0181
Metamielócitos (%)	6.54 ± 6.79	3.26 ± 5.11	0,0256
Neutrófilos Bastão (%)	7.37 ± 7.44	7.36 ± 5.50	0,7684
Neutrófilos Segmentados (%)	40.78 ± 21.17	40.00 ± 18.87	0,9502
Linfócitos (%)	0.47 ± 16.61	19.08 ± 17.05	0,2784
Linfócitos Atípicos (%)	0.54 ± 2.30	0.16 ± 0.64	0,7858
Monócitos (%)	3.20 ± 2.40	4.02 ± 3.70	0,4684
Eosinófilos (%)	5.74 ± 7.75	6.00 ± 6.43	0,5274
Basófilos (%)	3.56 ± 4.75	3.17 ± 5.06	0,6629
Plaquetas (/mm³)	536.1 ± 421.1	462.4 ± 358.5	0,4288
VPM (fL)	8.99 ± 1.81	8.74 ± 2.05	0,3908

PERFIL BIOQUÍMICO	(Média ± DP)	(Média ± DP)	(p<0,05)
LDH (U/L)	768.5 ± 501.4	589.9 ± 455.8	0,0724
Glicose mg/dL)	113.2 ± 50.81	117.2 ± 65.44	0,5462
Ureia (mg/dL)	35.10 ± 14.87	35.47 ± 12.56	0,6552
Creatinina (mg/dL)	0.89 ± 0.26	0.91 ± 0.24	0,6616
Ácido Úrico (mg/dL)	5.77 ± 4.33	6.45 ± 2.00	0,0577
TGO (U/L)	32.68 ± 34.52	32.53 ± 26.77	0,8838
TGP (U/L)	32.30 ± 33.99	33.82 ± 33.82	0,8443
Gama GT (U/L)	71.98 ± 55.19	80.45 ± 67.19	0,6921
Fosfatase Alcalina (U/L)	101.1 ± 55.88	127.1 ± 125.0	0,6147
Bilirrubina Total (mg/dL)	0.58 ± 0.77	0.58 ± 0.57	0,3314
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0.16 ± 0.25	0.14 ± 0.13	0,7247
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	0.42 ± 0.57	0.42 ± 0.46	0,4235
Colesterol Total (mg/dL)	144.0 ± 44.71	162.4 ± 67.89	0,6571

4.3. Distribuição das principais comorbidades encontradas nos pacientes analisados.

Para melhor compreensão do perfil clínico dos pacientes estudados, foi realizada a distribuição das principais comorbidades encontradas. Dos dados analisados, a hipertensão arterial sistêmica – HAS (12,6%), diabetes mellitus – DM (1,9%), esteatose hepática (6,3%) e doenças renais (6,3%) foram as comorbidades clínicas mais frequentes nos pacientes do grupo BCR-ABL1+, enquanto HAS (18,9%), insuficiência cardíaca congestiva/acidente vascular cerebral (ICC/AVC) (11,3%) e DM (9,4%) foram mais frequentes nos pacientes do grupo BCR-ABL1-. Em relação as comorbidades psicológicas mais frequentes nos pacientes BCR-ABL1+ e BCR-ABL1-, pode-se observar respectivamente que o tabagismo (11,9%; 13,2%) e o etilismo (11,2%; 13,2%) se apresentaram mais frequentes independentemente dos resultados para BCR-ABL1 (Tabela 10).

Tabela 10: Distribuição de comorbidades de pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1.

Comorbidades	BCR-ABL1+ n=143	BCR-ABL1- n=53
Clínicas, n (%)	101 (70,6)	38 (71,7)
HAS, n (%)	18 (12,6)	10 (18,9)
DM, n (%)	17 (11,9)	5 (9,4)
Esteatose Hepática, n (%)	9 (6,3)	0 (0)
Doenças Renais, n (%)	9 (6,3)	3 (5,7)
Doenças Infecciosas, n (%)	6 (4,2)	3 (5,7)
ICC/AVC, n (%)	6 (4,2)	6 (11,3)
Hipotireoidismo, n (%)	6 (4,2)	2 (3,8)
Dislipidemias, n (%)	5 (3,5)	1 (1,9)
Outros, n (%)	25 (17,5)	8 (15,0)

Psicológicas, n (%)	42 (29,4)	15 (28,3)
Tabagismo, n (%)	17 (11,9)	7 (13,2)
Etilismo, n (%)	16 (11,2)	6 (11,3)
Depressão/Ansiedade, n (%)	6 (4,2)	0 (0)
Outros, n (%)	3 (2,0)	2 (3,8)

Abreviaturas: HAS-Hipertensão Arterial Sistêmica; DM-Diabetes Mellitus; ICC/AVC-Insuficiência Cardíaca Congestiva/Acidente Vascular Cerebral; n-número.

Além disso, foi realizada a análise da distribuição de comorbidades nos grupos b3a2 e b2a2, evidenciando que das comorbidades clínicas analisadas, a HAS (14,7%; 7,5%) e DM (12,6%; 12,5%) foram as mais frequentes em ambos os grupos. Similarmente, as comorbidades psicológicas mais frequentes foram tabagismo (9,5%; 17,5%) e etilismo (8,4%; 17,5%) em ambos os grupos (tabela 11).

Tabela 11 : Distribuição de comorbidades de pacientes com os transcritos b3a2 e b2a2.

Comorbidades	b3a2 n=95	b2a2 n=40
Clínicas, n (%)	71 (74,7)	25 (62,5)
HAS, n (%)	14 (14,7)	3 (7,5)
DM, n (%)	12 (12,6)	5 (12,5)
Esteatose Hepática, n (%)	7 (7,4)	2 (5,0)
Doenças Renais, n (%)	7 (7,4)	1 (2,5)
Doenças Infecciosas, n (%)	3 (3,2)	2 (5,0)
ICC/AVC, n (%)	4 (4,2)	2 (5,0)
Hipotireoidismo, n (%)	4 (4,2)	2 (5,0)
Dislipidemias, n (%)	3 (3,2)	2 (5,0)
Outros, n (%)	17 (17,8)	6 (15,0)
Psicológicas, n (%)	24 (25,3)	15 (37,5)

Tabagismo , n (%)	9 (9,5)	7 (17,5)
Etilismo , n (%)	8 (8,4)	7 (17,5)
Depressão/Ansiedade , n (%)	5 (5,3)	1 (2,5)
Outros , n (%)	2 (2,1)	0 (0)

Abreviaturas: HAS-Hipertensão Arterial Sistêmica; DM-Diabetes Mellitus; ICC/AVC-Insuficiência Cardíaca Congestiva/Acidente Vascular Cerebral; n-número.

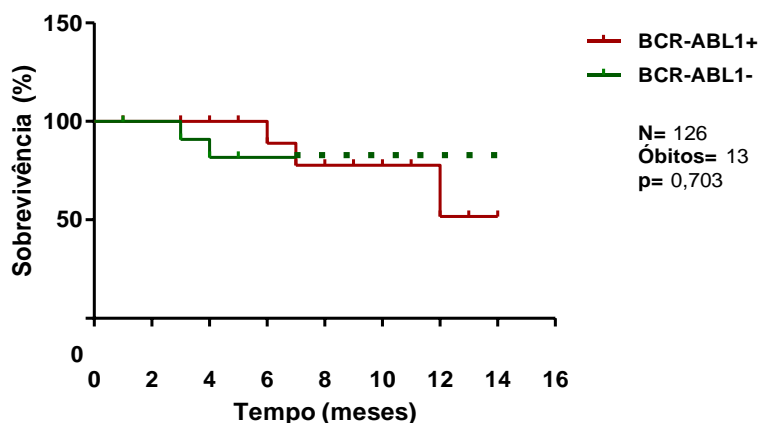
4.4. Sobrevida global de pacientes BCR-ABL1+ e BCR-ABL1-.

A respeito do número de óbitos, foi observado que 6 pacientes evoluíram para óbito no grupo de pacientes BCR-ABL1+, sendo que 5 apresentavam o transcrito b3a2 e 1 apresentava o transcrito b2a2. Dos pacientes que tinham b3a2, 1 estava acometido por LMC, 2 LLA e 2 LMA, e foram a óbito entre 23 dias a 12 meses a partir da data do exame BCR-ABL qualitativo ao diagnóstico. Quanto ao paciente com b2a2, ele possuía LLA e foi a óbito em 2 meses depois da data do exame BCR-ABL qualitativo ao diagnóstico.

Em relação ao grupo BCR-ABL1-, 8 pacientes foram a óbito em um período entre 2 dias a 6 meses após a data do BCR-ABL qualitativo, sendo que 3 possuíam LMA, 3 LLA, 1 LMC e 1 com perfil bifenotípico LMA/LLA, o último não apresentava data do óbito.

A taxa de sobrevida global foi comparada entre os grupos BCR-ABL1+ e BCR-ABL1-. Não foi observado uma significância estatística na comparação entre os grupos estudados ($p=0,703$).

Figura 5 : Percentual de sobrevivência de pacientes BCR-ABL1+ e BCR-ABL1-.



5. DISCUSSÃO

Este estudo retrospectivo permitiu uma análise concisa do perfil clínico e laboratorial de pacientes atendidos na fundação HEMOAM sob suspeita de leucemia mieloide crônica. Além disso, este é o primeiro trabalho que avaliou a presença de transcritos do BCR-ABL1 relacionando-os com parâmetros laboratoriais e comorbidades no estado do Amazonas, após 3 anos da implantação do PCR qualitativo para detectar a presença do BCR-ABL1. A implantação da técnica permitiu auxiliar em um diagnóstico mais rápido e um tratamento precoce e adequado desses pacientes visto que, anteriormente era necessário o envio da amostra para um laboratório particular fora do estado para diagnosticar.

Os aspectos sociodemográficos, como idade e gênero e, perfil clínico, como presença de transcrito e comorbidades foram semelhantes aos encontrados em outros estudos ^(65, 66, 67, 68). A média de idade dos pacientes se aproxima aos valores encontrados em pesquisas de outras instituições ^(67,68).

Vários estudos foram publicados sobre a frequência de transcritos em diversos países, a maior parte deles demonstra que o transcrito b3a3 é o mais frequente ^(70, 71, 72, 73), o que corrobora com os nossos dados. Alguns estudos de frequência dos transcritos na população brasileira, também demonstram dados similares ao nosso, explicitando ainda mais a frequência do b3a2 ⁽⁷⁴⁾.

No entanto, em alguns estudos foi observado uma maior frequência do transcrito b2a2, os mecanismos para essas diferenças são desconhecidos, mas podem ser devidos a peculiaridades genéticas e/ou étnicas na população-alvo ^(75, 76, 77). A frequência dos transcritos do gene BCR-ABL1 dos pacientes em diferentes países é mostrada na Tabela 14.

Tabela 12 : Frequência de transcritos b3a2 e b2a2 em diferentes países.

Fonte	Países	N	b3a2 (%)	b2a2(%)
Presente estudo	Brasil	135	58,5	29,3

Vasconcelos et al.,2017	Brasil	203	64	34
Hanfstein et al., 2014	Alemanha	1.105	44,89	40,81
Kagita et al., 2018	Índia	170	63,53	36,36
(Jain et al., 2016)	USA	481	41	42
Al - Achkar et al., 2016	Síria	45	51,1	46,7
Kazaal et al.,2019	Iraque	100	59	39
Owojuyigbe et al., 2020	Nigéria	230	35,7	49,6
Irshad, Butt & Joyia, <u>2012</u>	Paquistão	23	26	65

Em nossos dados, o gênero masculino se apresentou mais frequente nos transcritos b3a2 e b2a2 em comparação com o gênero feminino. Esses resultados são semelhantes aos relatados por Polampalli e colaboradores ⁽⁸³⁾. No entanto, pesquisas feitas por Adler e colaboradores e Osman e colaboradores relataram que o gênero masculino apresenta maior tendência para expressar b2a2 e o gênero feminino maior tendência para b3a2 ^(84, 85, 97). As razões para essas tendências ainda não foram totalmente elucidadas, mas supõem-se que hormônios sexuais podem influenciar na presença do transcrito

^(85,93,94,95,96).

No presente estudo, a maioria dos pacientes da população-alvo com translocação BCR-ABL1 estava acometido por LMC (67%), mas também foi encontrado em pacientes com neoplasias mieloproliferativas ph-negativo como: Trombocitemia essencial (3,1%), policitemia vera (3,1%) mielofibrose primária (2,1%) e em outros distúrbios como síndrome mielodisplásica (3,1%), trombocitopenia persistente (1%) e LLA (6,2%). Além disso, foi observado um paciente do sexo masculino com diagnóstico para policitemia vera, apresentando a presença do BCR-ABL1 (b3a2) concomitante com a mutação JAK2.

A translocação BCR-ABL1 está presente na maior parte da população de pacientes com LMC, no entanto, pode ser encontrada em outras neoplasias mieloproliferativas combinada ou não com outras mutações ou translocações ^(78, 79). As MPNs negativas para cromossomo *philadelphia* (Ph) estão associadas a mutações, como *JAK2*, *CALR* e *MPL*. A mutação *JAK2-V617F* é

a mais frequente e está presente em mais de 90% dos pacientes com Policitemia Vera (PV) e em mais de 50% dos pacientes com Trombocitemia essencial (TE) ou Mielofibrose primária (MP) ⁽¹⁰⁴⁾. Já a mutação *CALR* está presente em 20-25% de TE e MP, e a mutação *MPL* é encontrada em 3% de TE e 7% de MP ⁽¹⁰⁵⁾.

Pesquisas científicas, relatam presença de BCR-ABL1 em MPNs ph-negativas ^(106, 107, 108, 109), no entanto, os níveis de transcrição BCR-ABL1 nos pacientes estudados são expressos em níveis marcadamente mais baixos do que seriam observados na LMC não tratada, provavelmente representando uma anormalidade de hematopoese clonal de potencial indeterminado (CHIP), termo utilizado para descrever indivíduos com mutação hematológica maligna somática no sangue ou na medula, mas sem nenhum outro critério para uma patologia hematológica maligna ^(110, 111).

Além disso, relatos sobre a transformação de fenótipos com segundas mutações genéticas, como o aparecimento de MPNs ph-negativo-JAK2 no decurso de uma LMC tratada com TKI ^(102, 112, 113), e/ou um diagnóstico de LMC no curso de um MPN ph-negativo ^(102, 114), podem estar relacionadas a presença de um clone dominante oculto anterior ou um novo devido à pressão seletiva que induzida por terapia direcionada poderá fornecer uma justificativa para tratamento de combinação para efetuar respostas ótimas ⁽¹¹⁴⁾.

Apesar do papel dos vários tipos de transcritos BCR-ABL1 no prognóstico do paciente é considerada uma questão controversa na comunidade científica, tentamos avaliar e comparar os mais frequentes transcritos através dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Dos resultados gerais da comparação entre os grupos BCR-ABL1+ e BCR-ABL1-, foram encontradas significância nos leucócitos, blastos, promielócitos, mielócitos, metamielócitos, neutrófilos bastões, basófilos e plaquetas, corroborando com dados presentes na literatura ^(70, 74).

Na avaliação hematológica e bioquímica entre os transcritos mais frequentes, foram encontradas variáveis significativas nos mielócitos e metamielócitos mais associados ao transcrito b3a2 quando comparado com o transcrito b2a2. No entanto, o significado pode ser superficial, pois o número de

pacientes com b3a2 é o dobro quando comparamos o número de pacientes com b2a2, e por isso, há uma necessidade de um estudo com um conjunto maior de amostras e equivalentes para comparar.

Dados prévios feitos por Devireddy e colaboradores, observaram que células tronco leucêmicas com presença de BCR-ABL1 positivo em modelo murino, expressaram de forma persistente a glicoproteína lipocalina, associada na regulação negativa do crescimento de células tronco. Além do mais, as células tronco leucêmicas, expressaram-se de forma reduzida o receptor de lipocalina permitindo, assim, o crescimento dessas células em relação a células tronco normais ⁽⁸⁶⁾

Um estudo realizado nos Estados Unidos e publicado em 2014, reportou que a presença de 25 aminoácidos extras codificados pelo éxon 14 do BCR, que está ausente no transcrito e13a2 (b2a2), promove alterações estruturais nos domínios de homologia SRC (SH1, SH2 e SH3) e no domínio de ligação ao DNA na oncoproteína BCR-ABL1 ⁽⁸⁷⁾. Acredita-se que estas alterações estruturais presentes nas proteínas codificadas pelos diferentes transcritos possam afetar a atividade tirosina quinase da proteína, uma vez que a determinação dessa atividade tem sido reportada ser maior nos pacientes com o transcrito b2a2 ⁽⁸⁸⁾.

Dessarte, podemos hipotetizar que nos pacientes em tratamento com TKI, as células tronco leucêmicas com presença de BCR-ABL1 e produtoras da glicoproteína lipocalina, coíbem o crescimento das células - tronco normais, dessa forma, os pacientes que possuem o transcrito b2a2, por apresentarem uma maior atividade tirosina quinase, demonstram uma maior habilidade de inibição das células tronco normais. Sendo assim, esses pacientes apresentam uma contagem de leucócitos (consequentemente os mielócitos e metamielócitos) inferiores em comparação com os pacientes que expressam o transcrito b3a2 ou ambos.

No que diz respeito a contagem de plaquetas, alguns estudos com dados de pacientes recém diagnosticados para LMC apresentaram valores maiores deste parâmetro nos pacientes que expressavam o transcrito b3a2 ^(72, 89, 90,). Em contradição, também há na literatura relatos de que esse parâmetro

funcione com um fator independentemente do tipo de transcrito expresso ou que o transcrito b2a2 apresente um número maior de plaquetas ^(70, 73).

Em nossos dados, não foi observada uma diferença na contagem de plaquetas entre os transcritos b3a2 e b2a2, sugerindo que a contagem de plaquetas é independente do tipo de transcrito expresso. Nesta circunstância, estudos sobre os mecanismos da via de sinalização intermediada pela oncoproteína BCR-ABL1 e sua interação com as vias envolvidas na trombopoese são de grande importância para melhor entender o comportamento deste parâmetro e elaborar intervenções terapêuticas para os pacientes que apresentem uma trombocitose.

Com relação a presença de comorbidades nos pacientes estudados, foi observado que a Hipertensão Arterial Sistêmica - HAS e Diabetes Mellitus - DM foram as mais frequentes. Em um estudo feito na Dinamarca, eles avaliaram o impacto de doenças cardiovasculares (incluindo a HAS) em pacientes com neoplasias mieloproliferativas crônicas - MPNs e observaram que o risco geral de 5 anos de doença vascular variou de 0,5% a 7,7% em pacientes com MPNs, o que era maior do que o risco na população em geral, esse percentual variou de acordo com o tipo de MPN ⁽⁹¹⁾. Dados do estudo conduzido por Bartoszko e colaboradores, avaliou a distribuição de comorbidades em pacientes em transformação leucêmica em mielofibrose e observaram que as comorbidades mais comuns captadas pela Avaliação de Comorbidade de Adultos 27 (ACE- 27) foram a HAS (22,3%) e DM (10,4%), corroborando com os nossos dados ⁽⁹²⁾.

6. CONCLUSÃO

No presente estudo, os dados apresentados evidenciaram importantes resultados sobre o perfil clínico e laboratorial dos pacientes analisados para BCR-ABL1, indicando que:

- O transcrito b3a2 é mais frequente dentro do grupo de pacientes analisados;
- Observou-se que a maioria dos pacientes positivos para BCR-ABL1 apresentavam leucemia mieloide crônica;
- Foi evidenciado que pacientes positivos para BCR-ABL1 tendem a apresentar um número aumentado de plaquetas e leucócitos, mais especificamente nos blastos, promielócitos, metamielócitos, neutrófilos bastões e basófilos da série leucocitária;
- Notou-se que numa comparação entre os transcritos mais frequentes, que pacientes que possuem o b3a2, tendem a apresentar mielócitos e metamielócitos aumentados;
- A Hipertensão Arterial Sistêmica e Diabetes são mais frequentes que outras comorbidades clínicas em pacientes positivos e negativos para BCR-ABL1.

Todavia, há uma necessidade de mais estudos sobre a proteína BCR-ABL1 e seus transcritos com uma avaliação de mutações para conhecer melhor o perfil desses pacientes na região do Amazonas.

7. REFERÊNCIAS

1. Vardiman JW, Melo JV, Baccarani M, Radich JP. Chronic Myeloid Leukemia, BCR-ABL1-positive. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Stein H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues WHO. 4th edition. World Health Organization (WHO). 2017; 2:30–36.
2. Randolph TR. Chronic Myelocytic Leukemia – Part I: History, Clinical Presentation and Molecular Biology. *Clinic Lab. Science*. 2005; 18(1):1-12.
3. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M; European Leukemia Net. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet*. 2007; 370: 342–350.
4. Perrotti D, Jamieson C, Goldman J, Skorski T. Chronic myeloidleukemia: mechanisms of blastic transformation. *Science in Medicine*. 2010; 120(7):2254-2264.
5. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2012 update on diagnosis, monitoring, and management. *American Journal of Hematology*. 2012; 87(11):1037-1045.
6. Funke VAM, Pasquini R. Leucemia Mieloide Crônica. In: Zago. *Tratado de Hematologia*. 1nd ed. São Paulo: Atheneu; 2013.p.419-429.
7. Leitner AA, Hochhaus A, Müller MC. Current Treatment Concepts of CML. *Current Cancer Drug Targets*. 2011; 11(1):31-43.
8. Campos MG, Arantes AM, Oliveira JSR. Considerações sobre idade e perfil de apresentação de leucemia mieloide crônica. *Rev Bras hematol hemoter*. 2006; (252):32-50.
9. Druker BJ. Chronic myelogenous leukemia. *American Society of Hematology Education Program*. 2001: 87-112.

10. Bortolheiro TC, Chiattonne CS. Leucemia Mieloide Crônica: história natural e classificação. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2008; (30):3-7.
11. Sharma P, Kumar L, Mohanty S, Kochupillai V. Response to Imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia patients with variant BCR-ABL fusion transcripts. *Annals of Hematology*. 2010; 89(3):241-247.
12. Hochhaus A, et al. Chronic myeloid leukemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2017; 28(suppl_7):72-7.
13. Chen Y, Wang H, Kantarjian H, Cortes J. Trends in chronic myeloid leukemia incidence and survival in the United States from 1975 to 2009. *Leuk Lymphoma*. 2013; 54(7):1411-7.
14. Cortes J. Natural history and staging of chronic myelogenous leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2004; 18(3):569-84.
15. Geary CG. The story of chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2000; 110(1):2-11.
16. Melo JV, Deininger MW. Biology of chronic myelogenous leukemia--signaling pathways of initiation and transformation. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2004; 18(3):545-68.
17. Deininger MW, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2004; 96(10):3343-56.
18. American Cancer Society (internet). Chronic Myeloid Leukemia. Atlanta GA: American Cancer Society. c2018-2019 (update 2019 Jan 9; cited 2019 Jan 25). About chronic myeloid leukemia. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/chronic-myeloid-leukemia.html>.

19. Hamerschlak N. Leucemia: fatores prognósticos e genética. *J pediatr.* 2008; 84(4):52-57.
20. Evolutivas F. Chronic Myeloid Leukemia. *Revista Brasileira De Cancerologia.* 2003; 49(1):5-8.
21. Bergantini, APF. Leucemia Mielóide Crônica e o sistema Faz-Fasl. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.* 2005; 27(2):120-125.
22. Lopes NR, Abreu MT. Inibidores de Tirocino Quinase na leucemia Mielóide crônica. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.* 2009; 31(6):23-29.
23. Diamond J, Silva MG. Mechanisms of Resistance to BCR-ABL Kinase Inhibitors. *Acta Med Port.* 2013; 26(4):402-408.
24. Hochhaus A, La Rosée P. Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: Strategies to avoid and overcome resistance. *Leukemia.* 2002; (16):2190-2196.
25. Pagnano P, Katia BB. Leucemia Mielóide crônica – causas de falha do tratamento com mesilato de imatinibe. *Chronic Myeloid Leukemia – causes of treatment failure with imatinib.* *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.* 2008; 30.
26. Soverini S. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloidleukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from anexpert panel on behalf of European LeukemiaNet. *Blood.* 2012; 118(5):1208-1215.
27. Narita M, Saito A, Kojima A, Iwabuchi M, Satoh N, Uchiyama T, et al. Quantification of BCR-ABL mRNA in plasma/serum of patients with chronic myelogenous leukemia. *Int J Med Sci.* 2012; 9(10):901-908.
28. Hanfstein B, Müller MC, Kreil S, Ernst T, Schenk T, Lorentz C, et al. Dynamics of mutant BCR-ABL-positive clones after cessation of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Haematologica.* 2011; 96(3):360-6.

29. Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 1999; 340(17):1330-1340.
30. Visani G. Dasatinib, even at low doses, is an effective second-line therapy for chronic myeloid leukemia patients resistant or intolerant to imatinib. Results from a real life-based Italian multicenter retrospective study on 114 patients. *American Journal of Hematology*. 2010; 85(12):960-963.
31. Inca (internet). Estatísticas de Câncer. Brasília-DF: Instituto Nacional do Câncer. c2018 (update 2018 Jan 9, cited 2019 Jan 26). Ministério da Saúde. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/>.
32. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127: 2391–2405.
33. Kang Z, Liu Y, Xu L. et al. The Philadelphia chromosome in leukemogenesis. *Chin J Cancer*. 2016; 35, 48.
34. Ren R. Mechanisms of BCR-ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia. *Nature*. 2005; 5(3):72-183.
35. O'hare. Pushing the limits of targeted therapy in chronic myeloid leukaemia. *Nature*. 2002; (12):513-526.
36. Faderl S. The biology of chronic myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 1999; 341(3):164-172.
37. Deininger MW, Goldman JV, Melo NM. "The molecular biology of chronic myeloid leukemia". *Blood*. 2000; 96(10):3343-3356.
38. Tefferi A, Gilliland DG. Oncogenes in Myeloproliferative Disorders. *Cell Cycle*. 2007; 6(5):550-566.

39. Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Cortes J. Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. *Cancer Control*. 2009; 16(2):122.
40. Advani AS, Pendergas AM. Bcr-Abl variants: biological and clinical aspects. *Leukemia Research*. 2002; 26(8):713-720.
41. Melo JV. The diversity of BCR-ABL fusion protein and their relationship to leukemia phenotype. *Blood*. 2006; (88):2375-2384.
42. Schindler T. Structural mechanism for STI-571 inhibition of Abelson tyrosine kinase. *Science*. 2000; (289):1938-1942.
43. Druker BJ, Lydon NB. Lessons learned from the development of an Abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. *The Journal of Clinical Investigation*. 2000; 105(1):3-7.
44. Eiring AM. Advances in the treatment of chronic myeloid leukemia. *BMC Medicine*. 2011; 9(99):1-6.
45. Lombardo L. Discovery of N-(2-Chloro-6-methylphenyl)-2-(6-(4-(20hydroxyethyl)-piperazin-1-yl)-2-methylprimidin-4-ylamino) thiazole-5-carboxamide (BMS-354825), a dual Src/Abl kinase inhibitor with potent antitumor activity in preclinical assays. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004; (47):6658-6661.
46. Schittenhelm MM. Dasatinib (BMS-354825), a Dual SRC/ABL Kinase Inhibitor, Inhibits the Kinase Activity of Wild-Type, Juxtamembrane, and Activation Loop Mutant KIT Isoforms Associated with Human Malignancies. *Cancer Research*. 2006; 66(1):473-481.
47. Golemovic M. AMN107, a Novel Aminopyrimidine Inhibitor of Bcr-Abl, Has In vitro Activity against Imatinib-Resistant Chronic Myeloid Leukemia. *Clinical Cancer Research*. 2005; 11(13):4941-47.
48. Weisberg E. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell*. 2005; (7):129-141.

49. McFarland KL, Wetzstein GA. Chronic Myeloid Leukemia Therapy: Focus on Second-Generation Tyrosine Kinase Inhibitors. *Cancer Control*. 2009; 16(2):132-140.
50. O'hare T. AP24534, a Pan-BCR-ABL Inhibitor for Chronic Myeloid Leukemia, Potently Inhibits the T315I Mutant and Overcomes Mutation-Based Resistance. *Cancer Cell*. 2009; 16(3):401–412.
51. Hochhaus A, La Rosée P. Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance. *Leukemia*. 2009; (18):1321-1331.
52. Hochhaus A. Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2009; 23(6):1054-61.
53. Apperley JF. Part I: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncology*. 2009; 8(11):1018-29.
54. Milojkovic D, Apperley J. Mechanisms of Resistance to Imatinib and second-generation Tyrosine Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia. *Clinical Cancer Research*. 2009; 15(24):7519-7527.
55. Soverini S. Choosing the best second-line tyrosine kinase inhibitor in imatinib-resistant chronic myeloid leukemia patients harboring Bcr-Abl kinase domain mutations: how reliable is the IC₅₀. *The Oncologist*. 2011; 16(6):868-76.
56. Ernst T. BCR-ABL Mutations in Chronic Myeloid Leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America Survey*. 2011; (25):997-1008.
57. O'hare T, Eide CA, Deininger MWN. Bcr-Abl kinase domain mutations, drug resistance, and the road to a cure for chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2007; 110(7):2242-49.

58. Redaelli S. Activity of Bosutinib, Dasatinib, and Nilotinib Against 18 Imatinib-Resistant BCR/ABL Mutants. *Journal Clinical Oncology*. 2009; 27(3):469-71.
59. Brandford S, Melo JV, Hughes TP. Selecting optimal second line tyrosine kinase therapy for chronic myeloid leukemia patients after imatinib failure: does the BCR-ABL mutation status really matter. *Blood*. 2009; 114(27):5426-34.
60. Cross NCP. Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012; (104):1-4.
61. Hochhaus A. Favorable long-term follow-up results over 6 years for response, survival, and safety with imatinib mesylate therapy in chronic phase chronic myeloid leukemia after failure of interferon- α treatment. *Blood*. 2008; 111(3):1039-1043.
62. Hochhaus, A., Baccarani, M., Silver, R.T. et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2020; 34, 966–984.
63. Kantarjian H, Cortes J. Considerations in the Management of Patients with Philadelphia Chromosome–Positive Chronic Myeloid Leukemia Receiving Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy. *Journal of Clinical Oncology*. 2011; 29(12):1512-1516.
64. Al-Achkar W, Moassass F, Youssef N, Wafa A. Correlation of p210 BCR-ABL transcript variants with clinical, parameters and disease outcome in 45 chronic myeloid leukemia patients. *J BUON*. 2016;21(2):444-449.
65. Bennour A, Ouahchi I, Achour B, et al. Analysis of the clinico-hematological relevance of the breakpoint location within M-BCR in chronic myeloid leukemia. *Med Oncol*. 2013; 30(1):348.
66. Arun AK, Senthamizhselvi A, Mani S, et al. Frequency of rare BCR-ABL1 fusion transcripts in chronic myeloid leukemia patients. *Int J Lab Hematol*. 2017; 39(3):235-242.

67. Adler, R., Viehmann, S., Kuhlisch, E., Martiniak, Y., Röttgers, S., Harbott, J., & Suttorp, M. Correlation of BCR/ABL transcript variants with patients' characteristics in childhood chronic myeloid leukemia. *European Journal of Haematology*, 2009; 82(2), 112–118.
68. Lauseker M, Hanfstein B, Haferlach C, Schnittger S, Pfirrmann M, Fabarius A, et al. Equivalence of BCR-ABL transcript levels with complete cytogenetic remission in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014; 140:1965–9.
69. Lauseker M, Hanfstein B, Haferlach C, Schnittger S, Pfirrmann M, Fabarius A, et al. Equivalence of BCR-ABL transcript levels with complete cytogenetic remission in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014; 140:1965–9.
70. Kazaal MS, Hamdan FB, Al-Mayah QS. Association of BCR/ABL transcript variants with different blood parameters and demographic features in Iraqi chronic myeloid leukemia patients. *Mol Genet Genom Med*, 2019; 7(8): e809.
71. Hanfstein B, Lauseker M, Hehlmann R., Saussele S., Erben P, Dietz C, Muller MC. Distinct characteristics of e13a2 versus e14a2 BCR-ABL1 driven chronic myeloid leukemia under first-line therapy with imatinib. *Haematologica*, 2014; 99(9), 1441–1447.
72. Kagita S, Mamidi, TK, Digumarti L, Gundeti S, & Digumarti R. Assessment of BCR-ABL1 fusion transcripts and their association with response to imatinib treatment in chronic myeloid leukemia patients. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*, 2018; 39(2), 165– 171.
73. Al-Achkar W, Moassass F, Youssef N & Wafa A. Correlation of p210 BCR-ABL transcript variants with clinical, parameters and disease outcome in 45 chronic myeloid leukemia patients. *Journal of Balkan Union of Oncology*, 2016; 21(2), 444–449.
74. Vasconcelos AP, Azevedo IF, Melo FCBC, Neves WB, Azevedo ACAC & Melo RAM. BCR-ABL1 transcript types showed distinct laboratory characteristics in patients with chronic myeloid leukemia. *Genetic and Molecular Research*, 2017; 16(2), 1–4.

75. Jain, P., Kantarjian, H., Patel, K. P., Gonzalez, G. N., Luthra, R., Shamanna, R. K., ... Cortes, J. Impact of BCR-ABL transcript type on outcome in patients with chronic-phase CML treated with tyrosine kinase inhibitors. *Blood*. 2016;127(10), 1269–1275.
76. Irshad, S., Butt, M. A., & Joyia, A. Frequency of different BCR-ABL fusion transcripts in chronic myelogenous leukemia patients in Pakistan. *International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences*. 2002; 6(6), 418–423.
77. Owojuyigbe, T.O., Durosinmi, M.A., Bolarinwa, R.A.A. et al. Distribution of BCR–ABL1 Transcript Variants in Nigerians with Chronic Myeloid Leukemia. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2020.
78. Hassan A, Dogara LG, Babadoko AA, Awwalu S, Mamman AI. Coexistence of JAK2 and BCR-ABL mutation in patient with myeloproliferative neoplasm. *Niger Med J*. 2015;56(1):74-76.
79. Soderquist CR, Ewalt MD, Czuchlewski DR, et al. Myeloproliferative neoplasms with concurrent BCR-ABL1 translocation and JAK2 V617F mutation: a multi-institutional study from the bone marrow pathology group. *Mod Pathol*. 2018;31(5):690-704.
80. Soliman DS, Abdulla MA, Sabbagh AA, Akiki S, Ibrahim F, et al. BCR/ABL-1-Positive Myeloproliferative Neoplasm Presenting with Isolated Remarkable Thrombocytosis with Atypical Clinicopathological Features: Discussion from Management Point of View. *J Bloodm Lymph*. 2019; 9: 243.
81. Zhou A, Knoche EM, Engle EK, Fisher DA, Oh ST. Concomitant JAK2 V617F-positive polycythemia vera and BCR-ABL-positive chronic myelogenous leukemia treated with ruxolitinib and dasatinib. *Blood Cancer J*. 2015;5(10): e351.
82. Campos, Mireille Guimarães Vaz de Chauffaille, Maria de Lourdes L. Ferrari, Rodrigues, Celso Arrais, Krum, Everson A., & Yamamoto, Mihoko. A rare case of Acute Lymphocytic Leukemia (ALL) presenting with double Philadelphia chromosome: relapse or secondary leukemia? *Genetics and Molecular Biology*, 2003; 26(3), 249-251.
83. Polampalli S, Choughule A, Negi N, Shinde S, Baisane C, Amre P, et al. Analysis and comparison of clinicohematological parameters and molecular and cytogenetic response of two Bcr/Abl fusion transcripts. *Genet Mol Res* 2008; 7:1138-49.

84. Osman EA, Hamad K, Elmula IM, Ibrahim ME. Frequencies of BCR- ABL1 fusion transcripts among Sudanese chronic myeloid leukaemiappatients. *Genet Mol Biol* 2010; 33:229-31.
85. Adler R, Viehmann S, Kuhlisch E, Martiniak Y, Röttgers S, Harbott J, et al. Correlation of BCR/ABL transcript variants with patients' characteristics in childhood chronic myeloid leukaemia. *Eur J Haematol* 2009; 82:112-8.
86. Devireddy, L. R. et al. A cell-surface receptor for lipocalin 24p3 selectively mediates apoptosis and iron uptake. *Cell*, 2005; v. 123, n. 7,p. 1293-1305.
87. Hail, A. et al. Differences in structural elements of Bcr-Abl oncoprotein isoforms in Chronic Myelogenous Leukemia. *Bioinformatics*, 2014; v. 10, n. 3, p. 108.
88. Lucas, C. M. et al. Chronic myeloid leukemia patients with the e13a2 BCR-ABL fusion transcript have inferior responses to imatinib compared to patients with the e14a2 transcript. *Haematologica*, 2009; v. 94, n. 10, p. 1362-1367.
89. JAIN, P.*et al.* Impact of BCR-ABL transcript type on outcome in patients with chronic-phaseCML treated with tyrosine kinase inhibitors. *Blood*, 2018; v. 127, n. 10, p. 1269-1275.
90. Azad NA, Shah ZA, Pandith AA, et al. Prognostic Implication of BCR-ABL Fusion Transcript Variants in Chronic Myeloid Leukemia (CML) Treated with Imatinib. A First of Its Kind Study on CML Patients of Kashmir Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP. 2018; (6):1479-1485.
91. Frederiksen, H et al. "Vascular Diseases In Patients With Chronic Myeloproliferative Neoplasms - Impact Of Comorbidity." *Clinical epidemiology* vol. 2019; 11 955-967.
92. Justyna Bartoszko, Tony Panzarella, Caroline Jane McNamara, Anthea Lau, Aaron D. Schimmer, Andre C. Schuh, Hassan Sibai, Karen W.L. Yee, Mark D. Minden, Rebecca Devlin, Vikas Gupta; Distribution and Impact of Comorbidities on Survival and Leukemic Transformation in Myeloproliferative Neoplasm (MPN)-Associated Myelofibrosis (MF). *Blood* 2016; 128 (22): 4264.

93. Mahmoud SF, McCobb DP. Regulation of Slo potassium channel alternative splicing in the pituitary by gonadal testosterone. *J Neuroendocrinol* 2004; 16:237–43.
94. Thakur MK, Mani ST. Estradiol regulates APP mRNA alternative splicing in the mice brain cortex. *Neurosci Lett* 2005; 381:154–7.
95. Zhu N, Eghbali M, Helguera G, Song M, Stefani E, Toro L. Alternative splicing of Slo channel gene programmed by estrogen, progesterone and pregnancy. *FEBS Lett* 2005; 579:4856–60.
96. Hull J, Campino S, Rowlands K, et al. Identification of common genetic variation that modulates alternative splicing. *PloS Genet* 2007; 3:1009–18.
97. Bacarani, M., Castagnetti, F., Gugliotta, G., Rosti, G., Soverini, S. Pffirmann, M. The proportion of different types of BCR-ABL1 transcription in chronic myeloid leukemia. An international vision. *Leukemia*, 2019.
98. Kfoury YF, Mercier DT. Scadden, SnapShot: The hematopoietic stem cell niche. *Cell*, 2014; 158(1): p. 228-228 e1.
99. Eaves CJ. Hematopoietic stem cells: concepts, definitions, and the new reality. *Blood*, 2015; 125(17), 2605–2613.
100. Wang LD, Wagers AJ. Dynamic niches in the origination and differentiation of haematopoietic stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011;12(10):643-55.
101. Wang X, Tripodi J, Kremyanskaya M, Blouin A, Roda P, Hoffman R, Najfeld V. BCR-ABL1 is a secondary event after JAK2V617F in patients with polycythemia vera who develop chronic myeloidleukemia. *Blood*. 2013; 121(7):1238–1239.
102. Zhou A, Knoche EM, Engle EK, Fisher DAC, Oh ST. Concomitant JAK2 V617F-positive polycythemia vera and BCR-ABL-positive

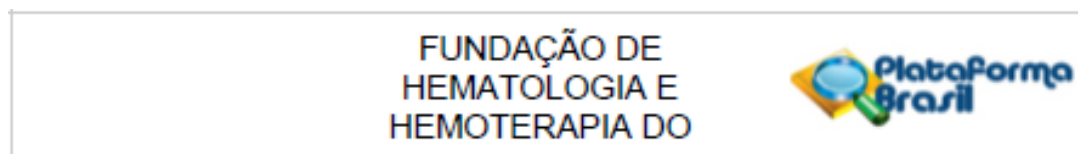
chronic myelogenous leukemia treated with ruxolitinib and dasatinib. *Blood Cancer*. 2015; J 5: e351.

103. Loghavi S, Pemmaraju N, Kanagal-Shamanna R, Mehrotra M, Medeiros LJ, Luthra R, Lin P, Huh Y, Kantarjian HM, Cortes JE, Verstovsek S, Patel KP. Insights from response to tyrosine kinase inhibitor therapy in a rare myeloproliferative neoplasm with CALR mutation and BCR-ABL1. *Blood*. 2015; 125(21):3360–3363.
104. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2017;92(1):94–108.
105. Grinfeld J, Nangalia J, Baxter EJ, Wedge DC, Angelopoulos N, Cantrill R, Godfrey AL. et al. Classification and personalized prognosis in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2018;379(15):1416–1430.
106. Pahore ZA, Shamsi TS, Taj M, Farzana T, Ansari SH, Nadeem M, Ahmad M. et al. A mutação JAK2V617F na leucemia mieloide crônica prediz a progressão inicial da doença. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2011; 21 (8): 472–475.
107. Hsu HC, Tan LY, Au LC, Lee YM, Lieu CH, Tsai WH, You JY, Liu MD, Ho CK. Detection of bcr-abl gene expression at a low level in blood cells of some patients with essential thrombocythemia. *J Lab Clin Med*. 2004; 143(2):125–129.
108. Damaj G, Delabesse E, le Bihan C, Asnafi V, Rachid M, Lefrere F, Radford-Weiss I, Macintyre E, Hermine O, Varet B. Typical essential thrombocythaemia does not express bcr-abelson fusion transcript. *Br J Haematol*. 2002; 116(4):812–816.
109. Yamada H, Murakami T, Kaneda T, Tadachi M, Utsumi M, Minami S, Hamaguchi M, Kasai M, Kodera Y, Ohashi H, Morishita Y, Terasawa T, Yamasaki Y, Kamiya Y, Hattori M, Yamanaka K, Tsushita K, Shimoyama M. Clinical significance of major and minor bcr/abl chimeric transcripts in essential thrombocythemia. *Jpn J Clin Oncol*. 2000; 30(11):472–477.

110. Boddu P, Chihara D, Masarova L, Pemmaraju N, Patel KP, Verstovsek S. A co-ocorrência de mutações condutoras em neoplasias mieloproliferativas crônicas. *Ann Hematol.* 2018; 97 (11): 2071–2080.
111. Hsu HC, Tan LY, Au LC, Lee YM, Lieu CH, Tsai WH, You JY, Liu MD, Ho CK. Detection of bcr-abl gene expression at a low level in blood cells of some patients with essential thrombocythemia. *J Lab Clin Med.* 2004; 143(2):125–129.
112. Cambier N, Renneville A, Cazaentre T, Soenen V, Cossement C, Giraudier S, Grardel N, Lai JL, Rose C, Preudhomme C. JAK2V617F-positive polycythemia vera and Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia: one patient with two distinct myeloproliferative disorders. *Leukemia;* 2008; 22(7):1454–1455.
113. DiNardo CD, Ravandi F, Agresta S, Konopleva M, Takahashi K, Kadia T, Routbort M, Patel KP, Mark Brandt, Pierce S, Garcia-Manero G, Cortes J, Kantarjian H. Characteristics, clinical outcome, and prognostic significance of IDH mutations in AML. *Am J Hematol.* 2015; 90(8):732–736.
114. Sidon P, el Housni H, Dessars B, Heimann P. The JAK2V617F mutation is detectable at very low level in peripheral blood of healthy donors. *Leukemia.* 2006; 20(9):1622.

8. ANEXOS

8.1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – CEPHEMOAM.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação das mutações no domínio quinase do BCR-ABL e a sua associação com a diminuição das respostas ao tratamento de pacientes com Leucemia Mielóide Crônica

Pesquisador: THAINA CRISTINA CARDOSO COSTA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 93598718.1.0000.0009

Instituição Proponente: Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMOAM

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.138.350

Apresentação do Projeto:

A leucemia mielóide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal, caracterizada pela excessiva proliferação de células da linhagem mielóide. A doença é resultante de uma translocação recíproca dos cromossomos 9 e 22 – t(9;22) codificando uma oncoproteína que possui uma elevada atividade tirosina quinase e que é responsável pela grande maioria dos efeitos clínicos na LMC. Durante o tratamento pode haver o desenvolvimento de resistência ao imatinibe que pode ser dividida em primária quando se observa a falta de eficácia no início do tratamento e secundária (adquirida) quando há uma perda da eficácia do tratamento como resposta inicial. Na maioria das vezes, essa resistência é provocada pelo aparecimento de mutações no gene BCR-ABL. Portanto, o objetivo do trabalho é avaliar a presença de mutações no domínio quinase do BCRABL e a sua associação com a diminuição da resposta ao tratamento de pacientes com leucemia mielóide crônica. Serão coletadas amostras de conveniência com estimativa de 65 amostras sangue periférico de pacientes em quatro tubos de 4mL contendo EDTA apresentam o gene BCR-ABL atendidos em consultas periódicas no HEMOAM e os indivíduos enquadrados no grupo controle serão 88 amostras doadores de sangue que foram

Continuação do Parecer: 3.138.350

coletados ao acaso, sem doenças aparentes após consentimento (assinatura do TCLE), captados pelo projeto "Identificação e seleção de peptídeos miméticos reativos aos soros de pacientes HCV e sua influência no desenvolvimento da fibrose hepática in vitro", sob aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação HEMOAM, com número de CAAE N°: 49652815.8.0000.0009/2015. As amostras serão transportadas para o Laboratório Multidisciplinar da Fundação HEMOAM para realização dos exames de reação da cadeia de polimerase-PCR. Ao final deste estudo, espera-se identificar principais mutações no gene BCR-ABL e sua associação com a diminuição da resposta ao tratamento de pacientes com leucemia mielóide crônica diagnosticados no estado do Amazonas

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

• Avaliar a presença de mutações no domínio quinase do BCR-ABL e a sua associação com a resistência ao tratamento de primeira geração em pacientes com leucemia mielóide crônica.

Objetivo Secundário:

• • Descrever o percentual de blastos, percentual de transcritos e Ph+ ao longo do tratamento de pacientes com leucemia mielóide crônica; •

Descrever a frequência das mutações Y253H, T315I, E255K e M351T no domínio quinase do BCR-ABL em pacientes com leucemia mielóide

crônica; • Correlacionar as mutações no domínio quinase do BCR-ABL com os parâmetros clínicos, hematológicos e resistência ao tratamento de primeira geração apresentados pelos pacientes com leucemia mielóide crônica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Existem riscos próprios da coleta do sangue periférico, tais como hematomas, equimoses (manchas arroxeadas) no local da picada da agulha, que fazem parte dos riscos da rotina. Durante o procedimento de coleta poderá ocorrer um leve desconforto. Sendo assim, as coletas serão realizadas por profissionais qualificados da Fundação HEMOAM que darão o devido suporte caso haja alguma intercorrência durante a coleta da amostra.

Benefícios:

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO



Continuação do Parecer: 3.138.350

A identificação das mutações na região do BCR-ABL por PCR-RFLP poderá contribuir para uma melhor abordagem terapêutica bem como, futuras mudanças positivas nas condutas clínicas que beneficiará pacientes que participarem de posteriores tratamentos para leucemia mielóide crônica na Fundação HEMOAM

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Seguido resolução Res. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), CEP podem autorizar Dispensa do TCLE somente quando fundamentada a impossibilidade de contato com o sujeito da pesquisa ou que seja inviável a obtenção do TCLE, isso não é o caso para o projeto de pesquisa apresentado, pois os pacientes são do HEMOAM e podem ser contactados

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Pesquisador apresentou todos os documentos necessários e incluiu tcle como por sugestão de cep, portanto, pode ser aprovado.

Apresentou todos Termos obrigatorio

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Apresentou todos Termos adequados.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1150397.pdf	28/12/2018 01:35:41		Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_12_12.pdf	28/12/2018 01:32:03	THAINA CRISTINA CARDOSO COSTA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_final_Thaina_Cardoso_12_12.docx	28/12/2018 01:29:48	THAINA CRISTINA CARDOSO COSTA	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	15/09/2018 02:48:33	THAINA CRISTINA CARDOSO COSTA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	carta_de_anuencia_participantesHEMOAM.pdf	15/09/2018 01:21:23	THAINA CRISTINA CARDOSO COSTA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TERMO_DE_CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO TCLE LMC.pdf	15/09/2018 01:19:55	THAINA CRISTINA CARDOSO COSTA	Aceito

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO



Continuação do Parecer: 3.138.350

Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVR E E ESCLARECIDO TCLE LMC.pdf	15/09/2018 01:19:55	THAINA CRISTINA CARDOSO COSTA	Aceito
---------------------------	--	---------------------	-------------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MANAUS, 08 de Fevereiro de 2019

Assinado por:

Sérgio Roberto Lopes Albuquerque
(Coordenador(a))

8.2. Equipe do projeto

Nome	Formação	Instituição de Trabalho	Atividades no Projeto
Thainá Cardoso	Biomédica	HEMOAM	Mestranda
Adriana Malheiro	Bióloga, Dra.	UFAM / HEMOAM	Orientadora
Andréa Tarragô	Farmacêutica, Dra.	HEMOAM	Coorientadora
Nadja Garcia	Farmacêutica, Dra.	HEMOAM	Colaboradora
Wally Victoria Sposina	Farmacêutica, MSc.	HEMOAM	Colaboradora
Rosângela Abreu	Médica	HEMOAM	Colaboradora
Miliane Araújo	Graduanda	HEMOAM	Colaboradora

8.3. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Prezado (a) Senhor (a),

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada “**Análises das mutações no domínio quinase do BCR-ABL e sua associação com a resistência ao tratamento de primeira geração em pacientes com Leucemia Mielóide Crônica**” que tem

como objetivo detectar a presença das principais mutações no BCR-ABL através da técnica chamada *Reação em Cadeia da Polimerase associado com o Polimorfismo de Fragmentos de DNA (PCR-RFLP)*.

A existência de mutações no domínio tirosina-quinase do BCR-ABL é um dos principais mecanismos envolvidos na resistência clínica aos fármacos e a detecção das mesmas poderá contribuir para um melhor manejo clínico e tratamento de pacientes com LMC atendidos na Fundação HEMOAM. Além disso, há poucos estudos em relação mutações gênicas no BCR-ABL na região amazônica.

Diante disso, o objetivo deste estudo é avaliar a presença de mutações no domínio quinase do BCR-ABL em amostras de sangue periférico e a sua associação com a resistência ao tratamento de primeira geração.

Procedimento: Se concordares em participar do estudo, serão coletadas amostras de sangue periférico em 4 tubos de EDTA de 4mL que serão enviadas para o laboratório de genômica para realização das técnicas. Essas amostras serão submetidas a técnica PCR convencional para identificação do BCR-ABL e Nested-PCR para as amostras negativas na PCR. Após a identificação, as amostras serão submetidas à técnica de PCR-RFLP com uso de enzimas de digestão para identificações das principais mutações (Y253H, T315I, E255K e M351T). Além disso, também serão coletados dados sociodemográficos (idade, gênero, naturalidade), laboratoriais (hemograma, exames bioquímicos e sorológicos, mielograma, citogenética) e clínicos (infiltrações em órgãos, co-morbidades) a partir de fichas sociais e prontuários do Sistema de Atendimento Médico e Estatístico (SAME) da Fundação HEMOAM.

Riscos e desconfortos: Existem riscos próprios da coleta do sangue periférico, tais como hematomas, equimoses (manchas arroxeadas) no local da picada da agulha, que fazem parte dos riscos da rotina. Durante o procedimento de coleta poderá ocorrer um leve desconforto. Sendo assim, as coletas serão realizadas por profissionais qualificados da Fundação HEMOAM que darão o devido suporte caso haja alguma intercorrência durante a coleta da amostra.

Benefícios: A identificação das mutações na região do BCR-ABL por PCR-RFLP poderá contribuir para uma melhor abordagem terapêutica bem como, condutas clínicas que beneficiará pacientes que participarem de posteriores tratamentos para leucemia mielóide crônica na Fundação HEMOAM.

Confidencialidade: A sua identidade não será revelada em durante toda a pesquisa e nem em publicações. Os registros do prontuário também são confidenciais e, sob a responsabilidade do Hospital. Os dados coletados serão armazenados em planilha do *software* Microsoft Excel, acessível somente ao pesquisador em estado de sigilo.

Indenização e ressarcimento: É garantida indenização em casos de danos (extravio de informações e/ou amostras) **comprovadamente**, decorrentes da sua participação na pesquisa, por meio de decisão judicial ou extrajudicial. Não há qualquer valor econômico, a receber ou a pagar, pela sua participação.

Participação Voluntária: A participação neste estudo é **voluntária**. A recusa na participação pode ser solicitada em qualquer momento e não leva a nenhum prejuízo, assim como, não comprometerá o cuidado médico com a mesma.

Você permite que sejam guardadas amostras de medula óssea e sangue periférico para pesquisas futuras?

<input type="checkbox"/>	Sim
<input type="checkbox"/>	Não

Esclarecimento de dúvidas: A qualquer momento, em caso de dúvidas, contate o pesquisador do estudo. Abaixo estão meus dados para contato.

Nome: Thainá Cristina Cardoso Costa

Endereço profissional: Av. Constantino Nery, 4.397 - Chapada, CEP: 69.002-50 / Manaus – AM

Telefone: (92) 98191-9762

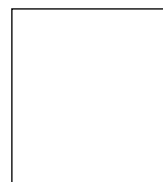
E-mail: thaina.costa07@gmail.com

Autorização

Asseguro ter lido este documento a respeito do estudo **“Análises das mutações no domínio quinase do BCR-ABL e sua associação com a resistência ao tratamento de primeira geração em pacientes com Leucemia Mielóide Crônica”** ou ele foi lido para mim. Eu fui informado sobre os riscos e benefícios e decidi por livre e espontânea vontade participar da pesquisa. Eu sei, também, que tenho a liberdade de recusar a participação neste estudo e, assim mesmo, continuarei a receber o tratamento médico usual. Declaro que assinei 2 vias deste termo, ficando com 1 via em meu poder.

Manaus, ____ de _____.

Assinatura do (a) paciente
paciente



Assinatura do (a)

Ciência e de acordo do pesquisador responsável: Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma cópia deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado e pela CONEP, quando pertinente. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante. Declaro que assinei 2 vias deste termo, ficando com 1 via em meu poder.

Assinatura do (a) responsável pelo projeto

8.4. Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD)

Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD)

Eu, Thainá Cristina Cardoso Costa, mestranda do Programa de Ciências Aplicadas a Hematologia da Universidade Estadual do Amazonas (UEA) e da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), no âmbito do projeto de pesquisa intitulado “Avaliação das mutações no domínio quinase do BCR-ABL e a sua associação com a diminuição das respostas ao tratamento de pacientes com leucemia mieloide crônica”, comprometo-me com a utilização dos dados contidos no Sistema de Atendimentos Médicos e Estatísticos (SAME), a fim de obtenção dos objetivos previstos, e somente após receber a aprovação do sistema CEP-CONEP.

Comprometo-me a manter a confidencialidade dos dados coletados nos prontuários bem como com a privacidade de seus conteúdos.

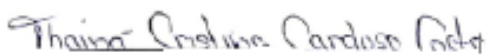
Esclareço que os dados a serem coletados se referem a dados sociodemográficos (idade, gênero, naturalidade, estado civil, local de residência.), laboratoriais (hemograma, exames bioquímicos e sorológicos, mielograma, citogenética) e clínicos (infiltrações em órgãos, comorbidades), no período de Março de 2017 à Agosto de 2018.

Declaro entender que é minha a responsabilidade de cuidar da integridade das informações e de garantir a confidencialidade dos dados e a privacidade dos indivíduos que terão suas informações acessadas.

Também é minha a responsabilidade de não repassar os dados coletados ou o banco de dados em sua íntegra, ou parte dele, à pessoas não envolvidas na equipe da pesquisa.

Por fim, comprometo-me com a guarda, cuidado e utilização das informações apenas para cumprimento dos objetivos previstos nesta pesquisa aqui referida. Qualquer outra pesquisa em que eu precise coletar informações serão submetidas a apreciação do CEP/ENSP.

Manaus, 13 de Setembro de 2018.


Assinatura do pesquisador responsável