

Síndromes mielodisplásicas: revisão de literatura

Myelodysplastic syndromes: literature review

Rosinaldo de Lima Nemetz

Resumo

A síndrome mielodisplásica (SMD) é uma doença de diagnóstico complexo e, com bases nas contribuições encontradas na literatura, reunimos as principais ferramentas diagnósticas disponíveis na atualidade e sua aplicação, bem como o avanço nos métodos de diagnóstico, contribuindo para melhor compreensão da doença e futuras pesquisas. Este trabalho teve como objetivo apresentar as características da SMD, e apontar os exames realizados para o diagnóstico e seu avanço laboratorial, expondo as novas tecnologias para diagnóstico. Para realizar uma revisão bibliográfica, foi realizado um levantamento de artigos científicos publicados a partir de banco de dados confiáveis como PubMed, Bireme e SciELO, de 2000 a 2019. Foram utilizados os seguintes termos para a pesquisa: síndrome mielodisplásica, displasia e diagnóstico. Incluindo-se publicações no idioma Inglês e Português. A SMD, por se tratar de uma doença clonal ou não clonal, deve ser avaliada desde uma análise de sangue periférico, no qual observa-se uma alteração, e com o isso realizar uma investigação baseando-se em dados clínicos, histopatológicos, citogenéticos e na evolução do paciente. Sendo assim, requer profissionais altamente capacitados e que acompanhem a evolução dos critérios para o diagnóstico.

Palavras-chave Síndromes mielodisplásicas; Evolução molecular; Doenças da medula óssea

INTRODUÇÃO

As síndromes mielodisplásicas (SMD), assim como as mieloproliferativas, são distúrbios originados na célula-tronco da medula óssea, participam de um grupo heterogêneo de doenças hematopoiéticas, possuem variados tipos de manifestação clínica e patológica e acometem indivíduos de todas as idades, principalmente adultos. Na SMD há uma produção insuficiente de células sanguíneas, já em casos de doenças mieloproliferativas ocorre uma proliferação da linhagem mielóide, podendo ser de uma ou mais linhagens, e essas desordens frequentemente progridem para o desenvolvimento de uma Leucemia Mielóide Aguda (LMA). (1,2) Por se tratar muitas vezes de um defeito clonal das células progenitoras, o diagnóstico é baseado então nos achados citológicos, no hemograma, histologia de medula óssea, bem como no cariótipo. (2,3) Estes achados são importantes para se obter um diagnóstico fidedigno, porém, podem ocorrer citopenias periféricas em que os resultados clínicos e patológicos não

são tão evidentes, como atípicas de medula óssea não serem demasiadas, o cariótipo ser normal, ou não apresentar mitoses. Nestes casos, o diagnóstico pode ser difícil, por isso a importância de se desenvolverem novos métodos para o diagnóstico. (4) A SMD é classificada em dois tipos: a primária, que ocorre normalmente em adultos e não possui uma etiologia totalmente esclarecida, porém estudos relatam a mutação do cromossomo 7 como um fator de risco para o desenvolvimento da doença. Já o tipo secundário está relacionado a agentes tóxicos, como quimioterapia e radioterapia, uso frequente de exames de imagem, substâncias químicas da indústria e agricultura. (2,5,6) Em 1982, o Grupo Franco-Americano Britânico (FAB), propôs uma classificação baseada nos achados laboratoriais e clínicos encontrados. Esta classificação foi de grande valia para um diagnóstico mais preciso. (7,8) Já em 1999, a Organização Mundial de Saúde (OMS) propôs uma nova classificação, o que seria uma complementação da classificação de FAB, que associa a imunofenotipagem e a genética aos parâmetros clínicos, morfológicos e citoquímicos utilizados em FAB e também demais mudanças, promovendo estudos futuros e uma melhor compreensão da doença.

OBJETIVO

A SMD é uma doença de diagnóstico complexo, e com bases nas contribuições encontradas na literatura reunimos as principais ferramentas diagnósticas disponíveis na atualidade e sua aplicação, bem como o avanço nos métodos de diagnóstico, contribuindo para melhor compreensão de doenças futuras e pesquisas. Este trabalho tem como objetivo apresentar as características da SMD e apontar os exames realizados para o diagnóstico e seu avanço laboratorial, expondo as novas tecnologias para diagnóstico.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho tem como objetivo reunir vários dados de estudos já publicados, sintetizando assim uma revisão bibliográfica da literatura que possibilita uma melhor compreensão da síndrome mielodisplásica (SMD) bem como uma avaliação dos métodos utilizados para o diagnóstico da doença, possibilitando futuras conclusões, discussões e análises críticas de resultados, contribuindo para uma reflexão sobre a necessidade de novos estudos. Para realizar uma revisão bibliográfica, foi realizado um levantamento de artigos científicos publicados a partir de banco de dados confiáveis como Pubmed, Bireme e SciELO, de 2000 a 2019, incluindo-se publicações no idioma Inglês e Português. Foram utilizados os seguintes termos para a pesquisa: síndrome mielodisplásica, diagnóstico de síndromes mielodisplásicas, displasias.

SÍNDROME MIELODISPLÁSICA (SMD)

As síndromes mielodisplásicas (SMD), assim como as mieloproliferativas, acometem indivíduos de todas as idades, principalmente adultos e idosos; a idade média dos indivíduos acometidos varia entre 65 e 70 anos, sendo caracterizada pela associação de hematopoese displásica e citopenias periféricas. Em idosos, o índice de incidência cresce com a idade, podendo superar a quantidade de casos de leucemias agudas mielóide e linfóide e as leucemias crônicas mielóide e linfóide. (3,7,9,10) Apesar de não ser comum, estudos recentes revelam que o índice de crianças com diagnóstico de mielodisplasias tem aumentado nos últimos anos, e, por conta disso, é necessário criar um sistema cooperativo de profissionais de diversas áreas com interesses em vários aspectos da doença. (10) A SMD pode ser classificada em dois grupos, a SMD primária e a SMD secundária. A primária não possui uma etiologia definida, há estudos que relatam tratar-se de uma desordem genética, na qual ocorre uma mutação do gene 7, que está associado à via de sinalização celular e defeitos nos mecanismos de reparo do DNA, o que o tornaria um fator de risco para o desenvolvimento da SMD. Já a SMD secundária é desenvolvida em decorrência de tratamentos quimioterápicos, principalmente com agentes alquilantes ou radioterápicos, geralmente alguns anos após a exposição; são raros os casos de SMD secundária, sendo considerada um pouco mais agressiva do que a SMD primária. (2,7,10) Geralmente o paciente é diagnosticado com uma anemia, acompanhado de trombocitopenia; muitas vezes, no primeiro estágio, são assintomáticos, mas depois podem apresentar certos sintomas além da anemia: palidez, conjuntiva pálida, taquicardia, hipotensão, fadiga, cefaleia, intolerância ao exercício, insuficiência cardíaca ou enfisema. Os pacientes apresentam uma diminuição acentuada na formação de células sanguíneas, tornando difícil prevenir possíveis infecções; por conta disso possuem quadros frequentes de infecções bacterianas, e alguns podem apresentar pequenos sangramentos nas mucosas, púrpura, hematomas ou hemorragias graves, devido à trombocitopenia e disfunções plaquetárias. Se não tratada, a doença pode progredir a ponto de os blastos leucêmicos tomarem conta da medula e a doença se transformar em leucemia mielóide aguda. (2,10,11)

CLASSIFICAÇÃO FAB E OMS

Para auxiliar no diagnóstico, em 1982, o Grupo Franco-Americano Britânico (FAB) elaborou uma classificação da SMD baseada em aspectos morfológicos do sangue periférico e medula óssea (MO). (2,8) Pela classificação de FAB, ela é dividida em subtipos, sendo esses a Anemia refratária (AR), Anemia refratária com sideroblastos em anel (ARSA), Anemia refratária com excesso de blastos (AREB), Anemia refratária com excesso de blastos em transformação (AREB-t) e Leucemia mielomonocítica crônica (LMMC). (2,3,8) Na AREB e LMMC, no

sangue periférico são encontrados menos de 5% de blastos, já em AR e ARSA é encontrado menos que 1%, enquanto que em AREB-t são encontrados mais de 5%. Sideroblastos em anel em medula óssea são encontrados menos de 15% em pacientes do subtipo AR, enquanto que são encontrados mais de 15% em ARSA; já em LMMC, no sangue periférico encontram-se mais de 1.000 mm³ de monócitos, e blastos na medula óssea são encontrados menos de 5% em AR e ARSA, enquanto que em AREB estão presentes cerca de 5%-20%, e em AREB-t encontram-se de 21% a 30% e em LMMC cerca de 1% a 20%. (Tabela 1) (2,3,8) Em 2001, a Organização Mundial da Saúde (OMS) fez uma extensão da classificação de FAB, na qual utilizou dados de imunofenotipagem, genéticos, clínicos, citomorfológicos e citoquímicos, dividindo a SMD em oito subtipos, havendo, em 2008, uma reformulação, e atualmente é formada por sete subtipos: (3,7,8,9,12) São eles:

- Citopenias refratárias com displasia de única linhagem (CRDU), que incluem a anemia refratária (NR), neutropenia refratária (NR), trombocitopenia refratária (TR).
- Anemia refratária com sideroblastos em anel (ARSA)
- Citopenia refratária com displasia de múltiplas linhagens (CRDM)
- Anemia refratária com excesso de blastos -1 (AREB-1)
- Anemia refratária com excesso de blastos - 2 (AREB-2)
- Síndrome mielodisplásica - não classificável - (SMD - NC) Ø Síndrome mielodisplásica associada com del(5q) isolada. (12)

DIAGNÓSTICO E SUA EVOLUÇÃO

Por ser a SMD, na maioria dos casos, inicialmente assintomática, os pacientes buscam atendimento médico para realizar exames de rotina e acabam descobrindo de forma acidental a doença através de um hemograma. O paciente apresenta um quadro de anemia e um número normal ou diminuído de reticulócitos, podendo, geralmente, também apresentar trombocitopenia e, em alguns casos, leucopenia. (3,7,13,14) O início do diagnóstico é pela contagem de sangue periférico, onde é realizado esfregaço sanguíneo após suspeita clínica. O paciente é encaminhado para o especialista, que solicitará um novo hemograma e o mielograma para confirmar a suspeita. A anemia é evidente e apresenta eritroblastos em muitos casos; por conta disso, o diagnóstico é difícil, pois pode ser confundido por LMA tipo M6 e AREBt. É muito frequente o paciente apresentar, em alguma parte do quadro, uma pancitopenia, que é a diminuição global dos elementos do sangue. (2,3) O hemograma, embora seja habitualmente realizado por profissionais altamente qualificados, sua análise é laboriosa e pode apresentar certo grau de subjetividade por ser totalmente dependente do observador. Esses fatos levaram à criação de novas automações que ajudam na análise laboratorial, com equipamentos constituídos por um

sistema informatizado de análise de imagem, acoplado a um microscópio automatizado, permitindo a avaliação morfológica dos esfregaços de sangue periférico, com estudo das hemácias e contagem diferencial dos glóbulos brancos, de modo rápido, acurado e reproduzível. Alguns aparelhos possibilitam o compartilhamento das imagens, facilitando as validações por parte da equipe técnica e médica e, evidentemente, sua inclusão nos laudos dos exames. (15) Analisando-se as amostras de pacientes com SMD, encontram-se eritrócitos macrocíticos ou dismórficos, e hipocrômicos, podendo-se encontrar ovalócitos, dacriócitos ou acantócitos, pontilhado basófilo, corpúsculo de Howell-Jolly e eritroblastos circulantes. As plaquetas normalmente são muito grandes ou muito pequenas, o que leva à alteração do PDW no hemograma, geralmente em baixa quantidade, sendo, porém, alta em 10% dos casos. (3,13) Para excluir outras possibilidades de diagnóstico, é importante que o médico faça uma investigação atenta e detalhada analisando ferro, folato, vitamina B12, função renal, hepática e tireoidiana, sorologias para hepatite B e C, HIV 1-2, HTLV, toxoplasmose e CMV, FAN, Coombs direto e teste de HAM, e se o paciente fez uso de medicamentos como corticoides, pois é comum citopenias e até pancitopenias nessas doenças. (2,16,17). A vitamina B12 tem papel importante na hematopoese, na função neuronal, no metabolismo do ácido fólico e na síntese adequada de DNA. Ela é dosada através da metodologia colorimétrica utilizando-se um espectrofotômetro, é um teste simples, rápido e de grande sensibilidade. Para um teste mais eficaz e sensível, é importante dosar juntamente com a vitamina B12 o ácido metilmalônico. Se os sintomas clínicos sugerem a deficiência, as dosagens de ácido metilmalônico e homocisteína se encontrarão elevadas, e, caso ocorram alterações, esses resultados deverão ser avaliados por um médico, mesmo se as concentrações de vitamina B12 estiverem normais. (18) Assim como a vitamina B12, o ferro também é dosado pelos métodos de colorimetria, utilizando-se o espectrofotômetro como auxiliar no diagnóstico. É possível também dosar a ferritina e saturação de transferrina para complementar o diagnóstico de deficiência de ferro. (18)

O estudo histopatológico da medula óssea (MO) é útil para o diagnóstico das SMD, pois contribui para diversos fatores, sendo eles: a avaliação da celularidade medular, da distribuição topográfica e da maturação das linhagens celulares; detecção de achados sugestivos de processos reativos; avaliação de alterações estromais como necrose, fibrose, atrofia serosa; análise de megacariócitos anormais e hipolobulados, pequenos e agrupados; aplicação da imunohistoquímica, como, por exemplo, a expressão anômala de CD34, CD117 ou da proteína p53 em células imaturas, expressão de marcadores de linhagem precursora, refinando a avaliação de sua topografia, ou detecção de neoplasias intersticiais não suspeitadas à morfologia convencional; e aplicação da fluorescência in situ (FISH) na pesquisa de alterações cromossômicas numéricas e de translocações. (7,19) A citogenética também é bastante utilizada no auxílio do diagnóstico. Consiste em uma análise das alterações genéticas, que envolve o cultivo celular e diferentes técnicas de bandamento cromossômico. No caso da SMD, são observadas alterações do cariótipo e marcadores clonais de malignidade. Essas alterações são presentes em 30%-

50% dos casos de SMD primária e 80% em SMD secundária. Estudos por meio da citogenética têm observado uma perda parcial ou total de um cromossomo, e também trissomias e translocações em raros casos.(2-4,20) A hibridização in situ por fluorescência (FISH) é de grande ajuda para complementar o método de citogenética, pois detecta grandes alterações cromossômicas, avalia as células tanto na interfase quanto na metáfase, sendo assim um método mais sensível, uma vez que a citogenética só avalia a metáfase.(3,4,20,21) Existem diversas técnicas moleculares para o auxílio do diagnóstico de SMD, e as mais comumente usadas são a PCR convencional e a RT-PCR, que permitem identificar genes que estão relacionados com as translocações. Apesar disso, as alterações cromossômicas são uma incógnita, pois não se sabe se essas alterações são consequências da SMD, como um fator secundário, ou se são uma causa para o desenvolvimento da doença, e muitos estudos em nível molecular precisam ser realizados para se entenderem essas alterações. (2,22) Por se tratar de um diagnóstico complexo, houve a necessidade de se elaborarem métodos de diagnósticos mais precisos, como o desenvolvimento da imunofenotipagem por citometria de fluxo, e também alguns testes como citoquímica de células da medula óssea (peroxidases, esterases), citogenética e utilização da biologia molecular; além disso, acredita-se que a melhoria na saúde geriátrica, juntamente com o aumento da longevidade da população, contribuiu para o aumento do número de novos casos de SMD.(9,21,20) A imunofenotipagem realizada com a técnica de citometria de fluxo é importante para o diagnóstico da SMD, pois ela auxilia na classificação, diagnóstico, prognóstico, estadiamento, monitoramento e nas análises das características fenotípicas das células hematopoiéticas patológicas.(3,4,20,21) A imunofenotipagem por citometria de fluxo é comumente utilizada para a classificação e prognóstico das leucemias, mas vem sendo utilizada para as SMDs e desordens não clonais; consiste em uma técnica multiparamétrica, que utiliza radiação a laser, fluxo hidrodinâmico e anticorpos monoclonais marcados por fluorescência (fluorocromos), usados para determinar algumas características estruturais e funcionais de partículas biológicas (padrões de expressão de antígenos) em populações celulares de interesse.(2-4,20,21) Os citômetros de fluxo, como são chamados os equipamentos, têm como princípio básico aspirar uma suspensão de células anteriormente preparadas, que são passadas por uma câmara especial (flow cell), que coordena as células para serem centralizadas por um fluxo contínuo de líquido (sheathfluid); ao saírem desta câmara, cada célula é interceptada pelo laser e avaliadas suas propriedades pré-estabelecidas.(21,20) Em relação à microscopia convencional, a citometria de fluxo tem várias vantagens referentes à análise das células hematopoiéticas, pois na microscopia existe uma limitação da interpretação e resolução do caso feita por um microscopista. Já a citometria de fluxo apresenta alta sensibilidade, especificidade e precisão, permitindo análises multiparamétricas de um grande número de células em pequeno intervalo de tempo.(20,21) Um consenso elegeu a imunofenotipagem por citometria de fluxo com um dos exames de mais alta relevância no diagnóstico para várias desordens hematopoiéticas, linfoproliferativas crônicas, linfomas não Hodgkin, leucemias agudas, crises blásticas, desordens mieloproliferativas crônicas e a

síndrome mielodisplásica.(20,21) **DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS**
Por ser uma doença muitas vezes assintomática, o paciente descobre, em uma consulta de rotina, uma anemia, muitas das vezes severa ou apresentando outras desordens celulares. A partir daí é realizada uma investigação baseando-se em dados clínicos, citológicos, histopatológicos, citogenéticos e na evolução do paciente, ou seja, o diagnóstico final é através de conjuntos de achados clínicos e baseados na classificação do FAB reformulada pela OMS. Primeiramente, o hemograma é avaliado criteriosamente, e com as novas tecnologias, a automação de hemograma segue com muita mais precisão e sensibilidade, porém em leitura microscópica é necessário um profissional altamente capacitado e familiarizado com diversas desordens hematopoiéticas. Hoje contamos com diversos testes complementares para auxiliar no diagnóstico final. O mielograma é bastante solicitado e é uma ferramenta útil no diagnóstico, pois é através dele que é possível fazer uma avaliação da medula óssea. É realizada uma punção aspirativa de medula, que coleta o material necessário para avaliação da morfologia e da produção de diferentes linhagens das células sanguíneas. Atualmente, o que temos de mais novo e inovador são as citogenéticas, imunofenotipagens e as análises moleculares de amostras extraídas de um mielograma. Esses testes apresentam alta sensibilidade, especificidade e precisão, a imunofenotipagem por citometria de fluxo é considerada um dos exames de mais alta relevância no diagnóstico para várias desordens hematopoiéticas. Apesar da evolução nos métodos de diagnóstico e terapia, ainda se requer melhor estudo e compreensão da etiologia da doença, para que se descubram novos métodos de diagnóstico que sejam mais precisos e sensíveis, diminuindo o tempo de confirmação do diagnóstico final.

Abstract

Myelodysplastic syndrome is a complex diagnosis disease, and based on the contributions found in the literature, we have gathered the main diagnostic tools available at the present time and their application, as well as the advances in diagnostic methods, contributing to a better understanding of the disease and future research. The objective of this study was to present the characteristics of the SMD, and to point out the tests performed for the diagnosis and its laboratory progress, exposing the new technologies for diagnosis. To carry out a bibliographic review, a survey of published scientific articles was carried out, from reliable databases such as Pubmed, Bireme and SciELO, from 2000 to 2019. The following search terms were used: Myelodysplastic Syndrome, Dysplasia and Diagnosis. Including English and Portuguese language publications. SMD can be a clonal or non-clonal disease, it must be evaluated from a peripheral blood analysis in which an alteration is observed, and an investigation is made based on clinical, histopathological, cytogenetic and evolution of the patient. Therefore, it requires highly qualified professionals and accompanies the evolution of the

criteria for diagnosis. Keywords Bone marrow diseases, Evolution molecular, Myelodysplastic syndromes

REFERÊNCIAS

1. Lorand-Metze I. Síndrome mielodisplásica, sua importância no nosso meio. Rev Bras Hematol Hemoter. 2006;28(3):165.
2. Mattos JR, Silva DM, Macedo LC. Síndrome Mielodisplásica: Da Suspeita ao Diagnóstico definitivo. Rev. Saúde e Biol. SaBios, v.11, n1,p.80- 89, jan/abr.2016
3. Costa ASL, et al. Diagnóstico Mielodisplásicas. Trabalho realizado no Laboratório de Patologia Geral - Imunopatologia e Citologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará (UFPA). 2009
4. Lorand-Metze I. Contribuição da citometria de fluxo para o diagnóstico e prognóstico das síndromes mielodisplásicas. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. [Internet]. 2006 Sep; 28(3):178-181. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842006000300005&lng=en
5. Macedo LC, Silvestre AP, Rodrigues C, de Alencar JB, Zacarias JM, Ambrosio-Albuquerque EP, et al. Genetics factors associated with myelodysplastic syndroms. Blood Cells Mol Dis. 2015; 55(1):76-81.
6. Korgaonkar S, Babu VR, Kerketta L, Ghosh K. Chromosomal breakage in myelodysplastic syndrome. Asian Pac J Cancer Prev. 2008 Jan-Mar;9(1):151-4.
7. Vassallo J, Magalhães SMM. Síndromes mielodisplásicas e mielodisplásicas/mieloproliferativas. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2009;31(4):267-72.
8. Bortolheiro TC. Classificação morfológica das síndromes mielodisplásicas: da classificação Franco-Americana-Britânica (FAB) à classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS). Rev. Bras. Hematol. Hemoter. [Internet]. 2006 Sep;28(3):194-197. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext &pid=S1516-84842006000300008&lng=en
9. Moraes ACR, Licínio MA, Pagnussat L, Del Moral JAG, SantosSilva MC. Síndromes mielodisplásicas: aspectos moleculares, laboratoriais e a classificação OMS 2008. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. [Internet]. 2009;31(6):463-70. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842009000600016&lng=en. 1
- 10.0. Lopes LF, Lorand-Metze I, Mendes WL, Seber A, Melo LN. Síndrome mielodisplásica na infância. Rev Bras Hematol Hemoter. [Internet]. 2006 Sep;28(3):226-237. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842006000300016 &lng=en
11. Barzi A, Sekeres MA. Myelodysplastic syndromes: a practical approach to diagnosis and treatment. Cleve Clin J Med. 2010;77(1): 37-44.
12. Apa AG, Gutz CNRM. Fatores prognósticos nas síndromes mielodisplásicas. Rev Bras Hematol Hemoter. 2006;28(3):198-200.
13. Niero-Melo L, Resende LSR, D Gaiolla R, Oliveira CT, Domingues MAC, Moraes Neto FA. Diretrizes para diagnóstico morfológico em síndromes mielodisplásicas. Rev Bras Hematol Hemoter. 2006; 28(3):167-74.

14. Sekeres MA, Schoonen WM, Kantarjian H, List A, Fryzek J, Paquette R, Maciejewski JP. Characteristics of US patients with myelodysplastic syndromes: results of six cross-sectional physician surveys. *J Natl Cancer Inst.* 2008 Nov 5;100(21):1542-51
15. Rev. Fleury Medicina e Saúde. Hemograma entra definitivamente na era da automação. Edição.2009 - nº5 - boletim. Publicado em 14/08/2009. Disponível em 05 de set de 2017. Acesso em: <http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/revista-medica/materias/Pages/hemograma-entra-definitivamente-na-era-daautomacao.aspx>
16. Lorand-Metze I, Magalhaes SMM. Myelodysplastic Syndrome: Diagnostic Protocol. *Rev Bras Hematol Hemoter*, v.23,n.4,2004
17. Magalhães SMM, Metze IL. Síndromes mielodisplásicas - Protocolo de exclusão. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2004;26(4):263-7.
18. Pedrosa W, Brito F, Santos AC, et al. Manual de Exames - Assessoria Científica. Laboratório Hermes Pardini. Edição 2013/2014. Disponível em 05 de set de 2017. Acesso em: https://www3.hermespardini.com.br/mobile/download/ManualDeExames2013_HermesPardini.pdf
19. Ruiz MA. A biópsia de medula óssea no estudo das síndromes mielodisplásicas. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2001;23(2):61-2.
20. Quixabeira VBL, Sassi VA. A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura. *RBAC.*2008;40(3):199-202.
21. Almeida TJB. Avanços e perspectiva para o diagnóstico da leucemia linfocítica aguda. *Rev. Virtual - Candombá* ,v.5, n1. P.40-55, jan-jun,2009.
22. Owen C, Barnett M, Fitzgibbon J. Familial myelodysplasia and acute myeloid leukaemia - a review. *Br J Haematol.* 2008 Jan;140 (2):123-32