LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA – DIAGNÓSTICOS E TRATAMENTOS

Joselita Brandão de Sant'Anna

RESUMO: A leucemia mielóide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa, que pode ser dividida em três fases clínicas, iniciando pela fase crônica, seguida da fase acelerada e culminando na crise blástica. A LMC tem como principal característica a presença do cromossomo Philadelphia (Ph) positivo, que é produto da translocação recíproca entre os cromosssomos 9 e 22. Esta translocação gera o oncogene *BCR/ABL*, responsável pela produção de proteínas com elevada atividade tirosina quinase, sendo a p210 a mais encontrada. Estas proteínas têm a capacidade de auto-ativação, interferindo na transdução de sinais de processos celulares básicos como a proliferação, aderência e apoptose. Com a progressão da doença, é possível encontrar alterações genéticas adicionais ao cromossomo Ph, como novas translocações. O diagnóstico inicial inclui hemograma de rotina com confirmação através de exames complementares como rRT-PCR, FISH e mielograma, que identificam a fase em que o paciente se encontra. O tratamento da leucemia mielóide crônica teve início em 1850 com o uso de produtos arsênicos, com o passar do tempo foi incluída a radioterapia e o transplante de medula, atualmente tem sido utilizado o mesilato de imatinibe. Este trabalho tem como objetivo descrever a respeito dos tipos de diagnósticos e tratamentos. A importância de um diagnóstico precoce e conclusivo, a fim de melhorar a qualidade de vida do portador.

Palavras-chave: leucemia; translocação; diagnóstico.

1. INTRODUÇÃO

A leucemia mielóide crônica (LMC) é uma doença adquirida, não hereditária, que se inicia pela produção cancerosa de células mielógenas jovens na medula óssea, que se disseminam por todo o corpo, de modo que leucócitos são produzidos em vários tecidos extramedulares, especialmente nos linfonodos, baço e fígado, resultando assim em acentuada esplenomegalia e em contagens elevadas de leucócitos (de 10.000 a 1 milhão) (VERRASTRO, 2005).

Tratar-se de uma doença mieloproliferativa na qual ocorre uma expansão clonal da célula progenitora hematopoiética, desenvolvendo um quadro de hiperplasia mielóide, leucocitose, neutrofilia, basofilia e esplenomegalia. Sua principal característica é a presença do cromossomo Philadelphia (Ph) positivo em aproximadamente 95% dos pacientes (BRAUER; WERTH *et al.*, 2007; POLAMPALLI; CHOUGHULE *et al.*, 2008, NATIONAL CANCER INSTITUTE,2012).

A expansão clonal da LMC ocorre tanto na linhagem mielóide, quanto na linfóide, podendo envolver outras linhagens como a eritróide, megacariocítica, monocítica, linfóide-B e algumas vezes a linfóide-T, predominando a expansão dos granulócitos na medula óssea (FRAZER; IRVINE *et al.*, 2007).

A doença desenvolve-se em três fases: crônica, acelerada e crise blástica, quando o paciente se encontra em estado terminal da doença. Seu diagnóstico é feito através de hemograma completo, biópsia de medula óssea, mielograma, hibridização *in situ* (FISH) e rRT-PCR (Transcriptase Reversa - Reação em Cadeia de Polimerase em tempo real) (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008; GIGLIO; KALIKS, 2007; LORENZI, 2006).

O diagnóstico se dá ao acaso, em um exame de hemograma de rotina, onde exames complementares são realizados para a confirmação da leucemia, seu tipo e a fase em que o paciente se encontra (FAILACE, 2009; OLIVEIRA; NETO, 2004).

O artigo se baseia em uma revisão bibliográfica utilizando como ferramenta de busca livros, *sites* relacionados ao tema, como o Scielo, *National Center for Biotechology Information* (NCBI), Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Revista Brasileira de Cancerologia, Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia (ABRALE), Fleury Medicina e Saúde, Associação da Medula Óssea (AMEO), além do Instituto Nacional do Câncer (INCA), com as seguintes palavras: leucemia mielóide crônica, diagnóstico, história natural, tratamento e cromossomo Filadélfia.

O trabalho tem como objetivo esclarecer as principais características da doença e seu diagnóstico, correlacionando as técnicas empregadas para um diagnóstico mais rápido e eficaz, para que o tratamento seja realizado o mais precocemente. Possui também um caráter informativo para todos aqueles que se interessam pelo assunto e, principalmente, para aqueles que lidam de alguma forma com essa doença, seja ele paciente, familiar ou outros.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 HISTÓRICO

Em 1845, o patologista John Hughes Bennett publicou um caso, no Edinburgh Medical Journal, em que o paciente apresentou aumento de baço e fígado, com morte associada a uma infecção. Algumas semanas depois, Rudolf Virchow mostrou um caso

semelhante, mas acreditava que a causa era uma desordem neoplásica, que posteriormente ele chamou de doença dos glóbulos brancos ou leucemia (DEININGER, 2008; DRUKER, 2008).

Em 1960 foi descoberto o cromossomo Philadelphia por Peter Nowel e David Hungerford, que notaram uma anormalidade no pequeno grupo G do cromossomo (Deininger, 2008; Druker, 2008; Jamieson, 2008). Janet Rowley foi quem reconheceu, em 1973, que o cromossomo Ph era produto de uma translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, nas regiões do braço longo (q34;q11.2), respectivamente (POLAMPALLI; CHOUGHULE *et al.*, 2008; VALENCIA; CERVERA *et al.*, 2009, NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2012).

Em 1984, identificou-se que o cromossomo Ph consistia na transposição da sequência 3' do proto-oncogene ABL (*Abelson murine leukemia viral*) no cromossomo 9, com a região 5' do gene BCR (*Breakpoint Cluster Region*) no cromossomo 22, gerando o oncogene BCR/ABL por fusão, que produz proteínas com elevada atividade tirosina quinase, que estão intimamente relacionadas à patogenia da LMC (FRAZER; IRVINE *et al.*, 2007; KORETZKY, 2007; DRUKER, 2008).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

O câncer é a segunda causa de morte no Brasil, sendo inferior apenas às doenças circulatórias (NONINO, 2008). A LMC corresponde de 15 a 20% das leucemias que atingem os adultos (NONINO, 2008; SESSIONS, 2007).

A incidência é de aproximadamente 1-1,5 casos por 100.000 habitantes/ano (PEREIRA, 2011). No Brasil, a incidência de leucemias agudas e crônicas, mostra diferenças de acordo com as regiões. As variações entre as regiões podem ser explicadas pela sub-notificação da doença e pelo diagnóstico incorreto dado aos pacientes, ou mesmo pelo fato da LMC ser mais comum na raça caucasiana (NONINO, 2008).

A incidência da LMC em crianças até 10 anos é de 1 caso a cada 1 milhão (HAMERSCHLAK, 2008). Apesar das evidências, não há comprovação de relação da LMC com fatores hereditários e/ou geográficos, além disso, a doença não pode ser prevenida (QUINTAS-CARDAMA E CORTES, 2006).

A idade média em que a doença se apresenta varia entre 45 a 55 anos, com uma proporção de 2:1 entre os sexos masculino e feminino, respectivamente, sendo mais comum nos homens do que nas mulheres (FRAZER; IRVINE *et al.*, 2007, PEREIRA, 2011). O único fator ambiental de risco conhecido para o desenvolvimento da LMC é a radiação ionizante, como foi demonstrado em estudos com sobreviventes da bomba atômica no Japão

(KANTARJIAN, MELO *et al.*, 2000; QUINTAS-CARDAMA E CORTES, 2006; HAMERSCHLAK, 2008).

Atualmente, o número de pacientes diagnosticados com LMC e que falecem pela doença, diminuiu significativamente devido aos avanços no tratamento com inibidores de tirosina quinase e com os transplantes de medula óssea.

2.3 GENÉTICA

O principal evento desencadeador da LMC é a translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22 t(9;22) (q34;q11.2) em uma célula progenitora hematopoiética, criando o oncogene *BCR/ABL* (Kantarjian, Melo *et al.*, 2000; Valencia, Cervera *et al.*, 2009). Assim, a proteína gerada tem alta atividade tirosina quinase, sendo capaz de induzir uma doença maligna, ativando múltiplos sinais citoplasmáticos e nucleares nas vias de transdução que influenciam no crescimento e sobrevivência das células hematopoiéticas (KANTARJIAN, TALPAZ *et al.*, 2006; SESSIONS, 2007).

O gene híbrido BCR-ABL é derivado da quebra do BCR na localização denominada maior (M-bcr), podendo ocorrer em duas outras localizações, m-*BCR* e μ-*BCR*, sendo que a transcrição deste gene gera moléculas de mRNA quimérico, assim, as fusões das sequências do BCR e ABL são representadas pelas junções dos exons b3a2 e ou b2a2 (Kantarjian, Melo *et al.*, 2000; Ohsaka, Shiina *et al.*, 2002; Melo, Hughes *et al.*, 2003). Este rearranjo que ocorre gera proteínas de fusão citoplasmática, sendo uma delas a p210, capaz de regular a atividade tirosina quinase, que é ativada com a junção dos genes, sendo responsável pela apresentação clínica da doença (*Figura 1)* (Carvalho, *et al*., 2003; Kantarjian, Melo *et al.*, 2000; Melo, Hughes *et al.*, 2003). A proteína p210 é capaz de se auto-ativar quando há a indução maligna, interferindo na transdução de sinais de processos celulares básicos como a proliferação, aderência e apoptose (KANTARJIAN, MELO *et al.*, 2000).

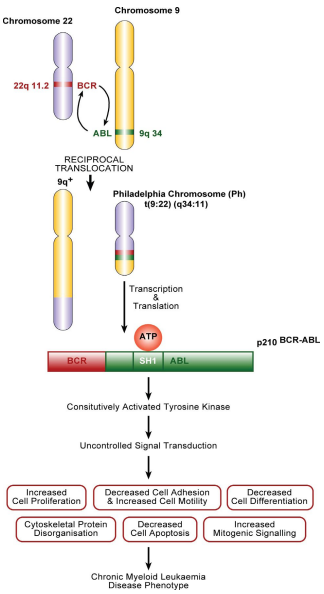


Figura 1: Eventos moleculares que conduzem à expressão do fenótipo da LMC (FRAZER, IRVINE *et al*., 2007).

Em alguns casos, a LMC também pode ser resultante da quebra na região menor do gene BCR (m-bcr), levando a expressão de um transcrito que codifica a proteína p190, que em alguns casos de LMC pode ser predominante ou co-expressar em baixos níveis com a p210 (KANTARJIAN; MELO *et al.*, 2000; MELO; HUGHES *et al.*, 2003). Outra quebra pode ocorrer na micro região (µ-bcr), e a fusão originada leva a expressão de um largo transcrito (e19a2), codificando a proteína 230-kDa (p230), sendo que nestes casos, a doença é caracterizada por uma leve desordem mieloproliferativa e geralmente relacionada a leucemia neutrofílica crônica com cromossomo Ph+ (KANTARJIAN, MELO *et al.*, 2000; OHSAKA, SHIINA *et al.*, 2002; MELO, HUGHES *et al.*, 2003).

Assim, a atividade tirosina quinase desregula as funções normais da enzima Abl, alterando sua interação com proteínas efetoras. Isso resulta na proliferação celular desregulada, diminuição da aderência de células leucêmicas ao estroma da medula óssea que são liberadas na circulação, redução da resposta apoptótica ao estímulo mutagênico, produção de anormalidades no citoesqueleto e aumento do crescimento de citocinas independentes (Melo, Hughes *et al.*, 2003; Inokuchi, 2006; Druker, 2008). Além disso, a instabilidade genética pode resultar na progressão da doença (DRUKER, 2008).

As proteínas quinases são enzimas capazes de coordenar processos celulares como o crescimento e diferenciação. A porção do gene ABL responsável pela regulação do domínio é perdida durante a translocação. A fusão da sequência do BCR ativa a tirosina quinase do domínio SH1, sendo este domínio crucial na transformação oncogênica (FRAZER; IRVINE *et al.*, 2007).

2.4 FASES CLÍNICAS E ACHADOS LABORATORIAIS

O curso clínico da LMC pode ser dividido em três fases: crônica, que pode durar anos, seguida pela fase acelerada e culminando na crise blástica, sendo as duas últimas fases mais curtas e graves (FRAZER; IRVINE *et al.*, 2007; SESSIONS, 2007). As manifestações clínicas dependem da fase e da evolução, assim como o prognóstico.

A LMC também pode evoluir para Mielofibrose, embora seja menos frequente. Nesses casos a medula óssea é invadida pela fibrose, que dificulta o desenvolvimento das células normais da medula óssea. Assim, a tendência progressiva é para a baixa dos valores dos glóbulos vermelhos, das plaquetas e até dos glóbulos brancos. A confirmação desta evolução é feita pela análise da medula óssea, através de uma biopsia óssea (PEREIRA, 2011).

Os *scores de Sokal* e *Hasford* são usados para a classificação do prognóstico. O *score de Sokal* é um dos mais utilizados, e pode estratificar os pacientes em grupos de risco baixo, risco intermediário e risco alto. Estas classificações levam em conta a idade, grau de esplenomegalia, contagem de plaquetas e blastos, ajudando assim na escolha da melhor terapêutica (BONIFAZI, DE VIVO *et al.*, 2001; HUGHES, 2006).

2.4.1 FASE CRÔNICA

A fase crônica tem duração média de três a cinco anos e os sintomas e sinais comuns desta fase incluem fadiga, perda de peso, aumento do volume abdominal relacionado à esplenomegalia, febrícula, púrpura, palidez e discretas hemorragias (QUINTAS-CARDAMA E CORTES, 2006; FRAZER, IRVINE *ET AL.*, 2007; SESSIONS, 2007).

Em 80% dos casos, a esplenomegalia está presente, e dependendo do volume, pode causar desconforto abdominal e comprimir vísceras, desencadeando distúrbios digestivos. Pode ocorrer ainda discreta a moderada hepatomegalia (Pasquini, 2001). É assintomática em 50% dos casos, sendo que 85% dos pacientes já se encontram nessa fase no momento do diagnóstico (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008).

Em muitos casos, a LMC é descoberta durante exames de rotina, ou com o paciente em fase assintomática, já que o sistema imune ainda é competente (QUINTAS-CARDAMa; CORTES, 2006; FRAZER; IRVINE *et al.*, 2007). Aproximadamente 85% a 90% dos pacientes são diagnosticados na fase crônica (QUINTAS-CARDAMA; CORTES, 2006; FRAZER; IRVINE *et al.*, 2007; RADICH, 2007; SESSIONS, 2007). Os achados laboratoriais comuns são leucocitose, anemia e trombocitose (FRAZER, IRVINE *et al.*, 2007). O

cromossomo Ph+ é geralmente a única anormalidade citogenética encontrada na fase crônica (FRAZER, IRVINE *et al.*, 2007).

Os achados laboratoriais no sangue periférico mostram leucocitose relacionada a sinais e sintomas decorrentes da hiperviscosidade, como priapismo e acidente vascular cerebral (QUINTAS-CARDAMA; CORTES, 2006). As plaquetas podem ter níveis normais, altos ou baixos e a medula óssea exibe hiperplasia granulocítica com morfologia normal, mas que em poucos casos podem apresentar sinais displásicos (FRAZER, IRVINE *et al.*, 2007; PASQUINI, 2001).

O hemograma assemelha-se ao de uma grávida ou a uma pessoa em tratamento com corticóides, mostrando leucocitose com neutrofilia e desvio a esquerda não-escalonado (DUARTE, 2005). Na tabela 1 estão descritos os achados laboratoriais dessa fase em sangue periférico e medula óssea.

Tabela 1: Achados laboratoriais em paciente com LMC em fase crônica.

SANGUE PERIFÉRICO	***MEDULA ÓSSEA***
2500/µl < Leucocitose < 4000/µl	
Predomínio de mielócitos e formas maduras	Intensa hiperplasia granulocítica*
Mieloblastos e promielócitos em < 10%	Blastos < 10%
Basofilia e Eosinofilia	Hiperplasia dos megacariócitos*
Anemia normocrômica e normocítica	

(*) Possuem a morfologia normal; Fonte: ZAGO *et alli* (2004).

A medula óssea mantém a capacidade de diferenciação celular, sendo de fácil controle quando a doença é descoberta no início, pois com o passar do tempo, essa perde tal capacidade, dificultando o controle. A doença então evolui para a fase acelerada, podendo progredir diretamente para uma crise blástica ou para uma leucemia aguda (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008).

2.4.2 FASE ACELERADA

Diferentes critérios são utilizados na definição da fase acelerada e muitos dos sistemas de classificação foram propostos após a introdução do mesilato de imatinibe no tratamento (QUINTAS-CARDAMA E CORTES, 2006; SESSIONS, 2007).

Esta fase tem duração menor que a fase crônica, na qual pode haver uma progressiva resistência à terapêutica, aumento da esplenomegalia, da basofilia, e de células blásticas, trombocitose ou trombocitopenia, mielofibrose e evolução clonal (KANTARJIAN, TALPAZ *et al.*, 2006; QUINTAS-CARDAMA; CORTES, 2006; SESSIONS, 2007).

Os pacientes podem continuar assintomáticos ou apresentar sintomas como febre, sudorese noturna, perda de peso e dores ósseas, além de aumento da esplenomegalia e anemia (SESSIONS, 2007).

A tabela 2 mostra os achados laboratoriais em exames de sangue e medula, e clínicos de um paciente com LMC (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008).

Tabela2: Achados laboratoriais e clínicos em pacientes na fase acelerada da LMC

ACHADOS LABORATORIAIS	***ACHADOS CLÍNICOS***
10-19% Mieloblastos em sangue periférico ou medula óssea (MO) >20% basófilos em sangue periférico Plaquetas abaixo de 100.000/mm³* Plaquetas acima de 1.000.000/mm³**	Novas anormalidades adicionadas ao cromossomo Filadélfia Aumento da esplenomegalia ou da contagem de leucócitos**

*Sem relação com a terapia; **Não respondendo à terapia.

Fonte: Modificado de BORTOLHEIRO; CHIATTONE (2008); GIGLIO; KALIKS (2007).

O *International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR)* propôs alguns critérios característicos da fase acelerada como a grande leucocitose não responsiva a hidroxiuréia; trombocitopenia, não relacionada à quimioterapia; presença de trombocitose persistente em alguns casos; baço palpável, blastos e prómielócitos mais que 10% e inferior a 20% no sangue periférico ou medula óssea; basófilos mais eosinófilos excedendo 20% no sangue periférico; anormalidade citogenética clonal adicional à presença do cromossomo Ph+ (SESSIONS, 2007).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define que o paciente se encontra em fase acelerada quando os blastos estão entre 10% a 19% no sangue periférico e medula óssea, com contagens de basófilos superiores a 20% no sangue periférico, evidência de evolução clonal e esplenomegalia progressiva. A evolução clonal ocorre entre 50% a 80% dos pacientes que tem progressão da doença. Pode ocorrer o surgimento de um segundo cromossomo Ph+ dentre outras alterações (SESSIONS, 2007).

2.4.3 CRISE BLÁSTICA

Esta é a fase mais complicada da doença, em que há um agravamento rápido e a doença comporta-se como uma leucemia aguda (PEREIRA, 2011). É considerada crise blástica o estado no qual há um grande aumento na porcentagem de blastos, superior a 30% na medula óssea ou no sangue periférico (QUINTAS-CARDAMA; CORTES 2006; SESSIONS 2007; HEHLMANN; SAUSSELE 2008). Imunofenotipicamente, a crise blástica pode ser caracterizada por um fenótipo linfoide ou mielóide (QUINTAS-CARDAMA; CORTES, 2006). O fenótipo linfóide ocorre em 20% a 30% dos casos, enquanto a presença de células imaturas, mieloblastos, em 50% dos casos, e o restante são células indiferenciadas ou em raros casos, bifenotípicas, com uma mistura de linhagens linfoblásticas e mieloblásticas (QUINTAS-CARDAMA; CORTES, 2006).

Os marcadores comuns desta fase estão relacionados com a progressão da doença, evolução clonal, com aumento da carga tumoral, incluindo a incapacidade de controlar o aumento de leucócitos, além das alterações básicas das outras fases, como mudanças na proliferação, diferenciação, apoptose e adesão, que se acentuam (QUINTAS-CARDAMA; CORTES, 2006; RADICH, 2007). Quando submetidos ao tratamento, os pacientes com LMC podem reverter o quadro da doença para a fase crônica, porém esta nova fase pode ser de curta duração, sendo pequena a expectativa de vida após o início da crise blástica (QUINTAS-CARDAMA; CORTES, 2006).

A anemia, neutropenia e trombocitopenia associadas à essa fase, são a principal causa de morte do paciente, que se dá por processo infeccioso, na maioria das vezes (DUARTE, 2005). Na tabela 3, há o comparativo de hemograma, a parte da série branca, de uma pessoa sem a LMC (valores de referência) com um paciente com LMC em crise blástica.

Tabela 3: Quadro comparativo entre o hemograma (série branca) de paciente sem LMC e o hemograma de pacientes com LMC.

	HEMOGRAMA (série branca)	
	Valores de referência em um hemograma saudável	**Paciente com LMC em crise blástica**
LEUCÓCITOS	5.000-11.000/mm³	220.000/mm³
BLASTOS		13.420/mm³ (61 %)
MIELÓCITOS		1.540/mm³ (7%)
NEUTRÓFILOS	1.500-7.500/mm³	
BASTONETES	0-500/mm³ (0-5%)	440/mm³ (2%)
SEGMENTADOS	2.000-7.000/mm³ (40-80%)	1.980/mm³ (9%)
LINFÓCITOS	2.000-4.000/mm³ (20-50%)	1.980/mm³ (9%)
MONÓCITOS	100-1.000/mm³ (2-10%)	440/mm³ (2%)
EOSINÓFILOS	0-700/mm³ (0-8%)	440/mm³ (2%)
BASÓFILOS	0-200/mm³ (0-2%)	1.760/mm³ (8%)
PLAQUETAS	140.000-360.000/mm³	17.000/mm³

Fonte: Modificado de Failace (2009).

Para caracterizar a crise blástica, a OMS propôs uma redução de 30% para 20% ou mais de blastos no sangue periférico ou células nucleadas da medula óssea, proliferação de blastos extramedular e presença de grandes focos ou agrupamentos de blastos em biópsias da medula óssea (QUINTAS-CARDAMA; CORTES, 2006; RADICH, 2007; SESSIONS, 2007; HEHLMANN; SAUSSELE, 2008).

O *IBMTR* define crise blástica quando há 30% de blastos ou mais no sangue periférico ou na medula óssea, e também presença de infiltrados extramedulares de células leucêmicas. Um dos aspectos importantes da crise blástica é a sua transformação em uma leucemia aguda, sendo tratada como tal (SESSIONS, 2007).

A progressão para crise blástica é guiada por eventos genéticos e epigenéticos adicionais como deleções de genes supressores de tumor como o p16 e p53. A progressão da doença na crise blástica pode ser explicada pela capacidade de auto-renovação das células tronco alteradas, mas novas evidências mostraram que a progressão para a crise blástica pode estar associada com a expansão de progenitores leucêmicos em vez de células tronco leucêmicas (MICHOR, 2007). Na crise blástica, os progenitores leucêmicos apresentam um aumento na expressão de β-catenina, que está relacionada à capacidade de auto-renovação (MICHOR, 2007; RADICH, 2007).

Na LMC, a proteína BCR/ABL tirosina quinase possui dois efeitos, sendo um: a capacidade de simular vias de sinalização e proliferação e o outro a modulação da resposta ao dano do DNA e mutagênese pela via de espécies reativas ao oxigênio causando instabilidade genômica por mutações, duplicação de genes, translocações e quebras cromossômicas. Isso pode estar relacionado ao efeito de progressão de doença a crise blástica, e a necessidade da utilização de alvos terapêuticos para a eliminação deste efeito desde o diagnóstico da doença (HEHLMANN; SAUSSELE, 2008).

2.5 DIAGNÓSTICO

Entre os métodos de diagnóstico e monitoramento da doença encontram-se as técnicas de cariotipagem de bandas G, FISH (*Fluorescent In-situ Hibridization*), RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*) e qRT-PCR (*Real Time Quantitative- Polymerase Chain Reaction*), além de exames como mielograma, hemograma, imuniofenotipagem, dentre outros (CHAUFFAILLE MDE, OLIVEIRA *et al.*, 2001; SESSIONS, 2007).

Na maior parte das vezes a LMC na fase inicial não dá sintomas. É numa análise de rotina ao sangue que é detectado o aumento de glóbulos brancos, em várias fases de desenvolvimento, o que leva à investigação diagnóstica (PEREIRA, 2011).

Achados laboratoriais:

- Hemoglobina: 9,7 mg/dL;
- Plaquetas: 485.000/mm³;
- Leucócitos: 225.000/mm³;

Além do intenso aumento de granulócitos na circulação, tem-se o aumento de basófilos e eosinófilos, chegando a valores de até 20% no sangue (FLEURY, 2008).

A partir dessa primeira suspeita, exames complementares são prescritos, para a confirmação e avaliação real da fase em que o paciente se encontra, a fim de o tratamento ser mais rápido e eficaz (INCA, 2003).

2.5.1 MIELOGRAMA

A medula óssea é um microambiente que tem sido estudado massivamente através de técnicas de cultura e por marcadores celulares, pois essa é responsável por insuficiências funcionais severas, tais como as leucemias e linfomas. É formada por dois tipos de células:

células hematopoiéticas e células estromais. São originárias de *stem-cell*, que se limitam, na vida adulta, aos ossos do esqueleto axial e às partes mais próximas aos úmeros e fêmures (GIGLIO; KALIKS, 2007; LORENZI, 2006).

Devido à alteração genética que causa a LMC, células hematopoiéticas da medula óssea, que deveriam ser maturadas e liberadas na corrente sanguínea são prejudicadas, e são então liberadas ainda em fase de maturação. O exame de medula óssea é importante para a avaliação das condições dessas células precursoras, caracterizando o grau de acometimento da doença (LORENZI, 2006).

O procedimento de coleta é feito com o paciente deitado ou sentado, no caso de crianças, onde é aplicada uma pequena anestesia no local da coleta, podendo ser na região esternal ou das cristas ilíacas posteriores. São retirados cerca de 10ml de sangue, com agulha específica (*Jamshid*) e em seringa lavada com EDTA. As extensões sanguíneas devem ser confeccionadas logo após a coleta, e corados com Giemsa. Corantes específicos também podem ser utilizados, como peroxidase, Sudam e PAS (AMEO, 2010; GIGLIO; KALIKS, 2007).

Assim como na contagem diferencial dos leucócitos, uma quantidade significativa de células deve ser observada, sendo 500 esse número no mielograma. Deve começar pela objetiva de 10X, para diferenciação de células hematopoiéticas entre células gordurosas. A tabela 4 mostra as quantidades relativas de cada tipo celular presente no aspirado de medula óssea (GIGLIO; KALIKS, 2007).

Tabela 4: Quantidades relativas de cada tipo celular de um aspirado medular.

TIPO DE CÉLULA	***% NA MEDULA ÓSSEA***
Basófilo	0,80
Bastonete/Segmentado	30
Eosinófilo	2
Linfócito	10
Megacariócito	0,30
Metamielócito	26
Mielócito	10
Mieloblasto	1
Monócito	2
Normoblasto basofílico	2,50
Normoblasto ortodrômico	5
Normoblasto policromatófilo	11
Plasmócito	0,50
Promielócito	3
Pronormoblasto	0,50

Fonte: GIGLIO; KALIKS, 2007

No contexto do exame de medula óssea, pode ser feito também uma biópsia de medula óssea, onde um pequeno fragmento ósseo é retirado, pois a doença pode estar num estágio tão avançado, que o aspecto do aspirado é seco, dificultando análise celular. Como esse fragmento, é retirado geralmente da crista ilíaca posterior, possibilita uma melhor avaliação da forma da medula e da sua celularidade (GIGLIO; KALIKS, 2007). A figura 2 ilustra uma medula óssea de um paciente com LMC.

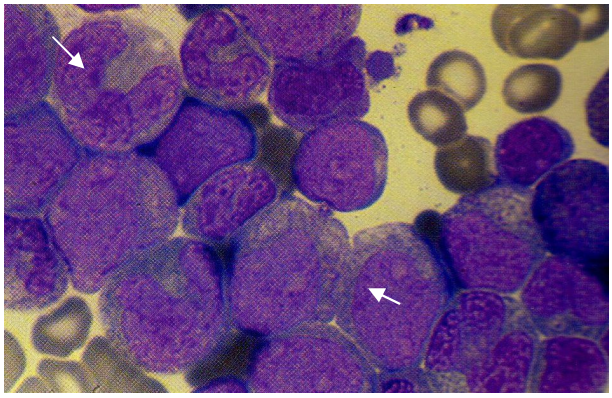


Figura 2: Medula Óssea de um paciente com LMC - Alterações mostradas pelas setas brancas (LORENZI, 2006).

2.5.2 HEMOGRAMA

Exame de rotina laboratorial, onde a coleta é feita em tubo contendo EDTA, com cerca de 5 ml de sangue retirado por punção venosa (FAILACE, 2009).

Representa a avaliação quantitativa e morfológica das células sanguíneas no sangue periférico. São feitas contagens específicas para cada linhagem celular: hemácias, leucócitos e plaquetas (GIGLIO; KALIKS, 2007).

Para a contagem diferencial de leucócitos, é preciso fazer uma extensão sanguínea em lâmina, corada com corante panótico e observada em microscópio óptico a partir da objetiva de 10X. Para um resultado significativo, são contadas 100 células diferentes em vários campos do microscópio na lâmina (LORENZI, 2004).

Na figura 3, há uma lâmina diferencial de um paciente com LMC com presença de leucocitose com precursores granulocíticos e eritroblastos.

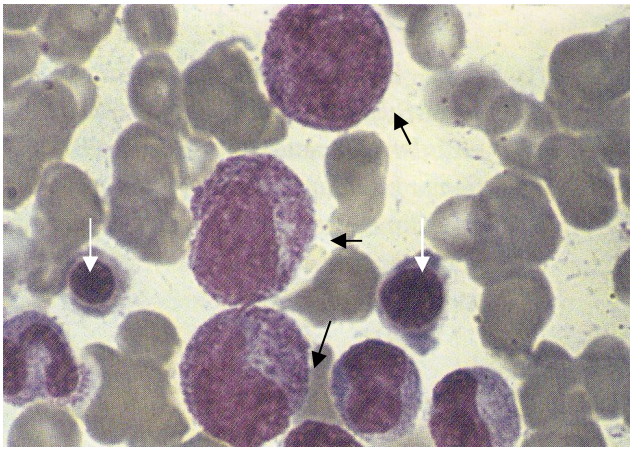


Figura 3: LMC em sangue periférico. Presença de precursores granulocíticos (setas pretas) e eritroblasto (seta branca) (LORENZI, 2006).

2.5.3 PCR EM TEMPO REAL (rRT-PCR)

Esse método utiliza um sistema fluorescente em plataforma capaz de detectar a luz oriunda da reação de amplificação do transcrito bcr/abl. Sondas específicas possuem uma substância capaz de emitir fluorescência, como o *Sybr Green*, que se liga à parte menor da fita dupla de DNA, que absorve a energia luminosa emitida pelo equipamento e é liberado na forma de luz e calor, sendo o comprimento de onda diferentemente do original (LORENZI, 2006).

São utilizados preparados de mRNA transcritos em cDNA, que permite a expressão de um gene específico, pois só haverá cDNA para amplificação se houver um mRNA correspondente à expressão daquele gene (FLEURY, 2008).

Enquanto o PCR se processa, a polimerase sintetiza novas cadeias a partir dos *primers* e cliva a sonda correspondente, aumentando o sinal fluorescente que é captado a cada novo ciclo até atingir um limite em que todas as amostras podem ser comparadas. Esse limite deve ser significativamente maior que a quantidade de fluorescência emitida no início da reação (ALMEIDA; SADDI, 2007).

No momento do diagnóstico da leucemia mielóide crônica (LMC), espera-se uma quantidade maior dessa fluorescência no início da reação, favorecendo precocemente a emissão de luz, comparados ao exame realizado durante a remissão citogenética (DEININGER, 2008; LORENZI, 2006).

Além do rRT-PCR convencional, usa-se o RQ-PCR, que é um exame qualitativo capaz de detectar uma célula leucêmica entre 10□ células normais. É utilizada para avaliar a resposta ao tratamento, verificando a existência de doença residual mínima (DRM), que é um pequeno número de células leucêmicas não detectáveis por exames convencionais, e grau de recaída da doença (GRANDO; WAGNER, 2008).

2.5.4 HIBRIDIZAÇÃO *IN SITU* (FISH)

É feita em DNA metafásico fixado em lâmina, o material é desnaturado ali mesmo, por isso chamamos de *in situ*, para exposição das duas fitas de DNA, permitindo que a sonda marcada se hibridize e fique fluorescente ao microscópio, a partir do comprimento de onda que excita o corante (NUSSBAUM *et alli*, 2002; WESTMAN, 2006).

A sonda é uma mistura de sondas de DNA para o gene bcr (vermelho) em 22q11 e para o gene abl (verde) em 9q34. Em células normais, o sinal verde é observado em ambos os

cromossomos homólogos do cromossomo 9 e o sinal vermelho é observado em ambos os homólogos do cromossomo 22. Já em células leucêmicas, sinais de cores independentes são observados nas setas pequenas (verde no cromossomo 9 e vermelho no 22), mostrando os cromossomos normais, e um sinal com as duas cores juntas (amarelo), que caracterizam o cromossomo com a fusão entre os cromossomos, como mostrado na figura 4 (CHAUFFAILLE, 2008).

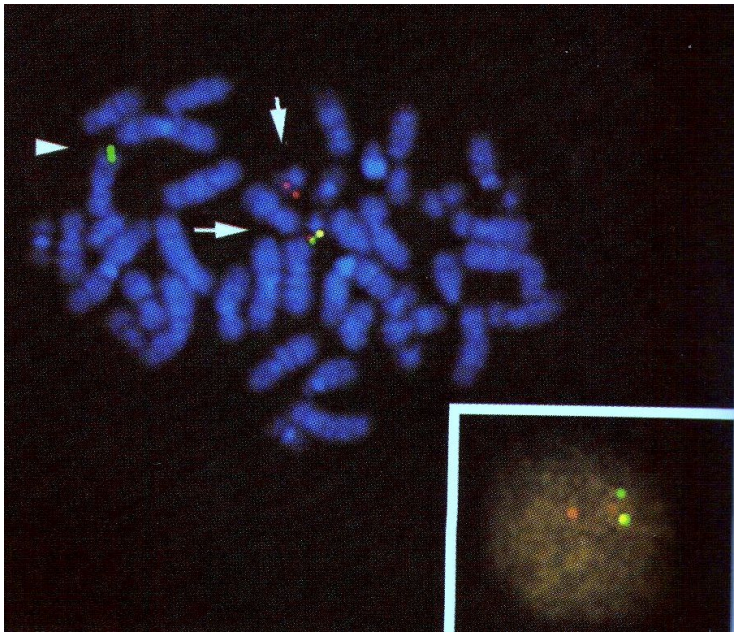


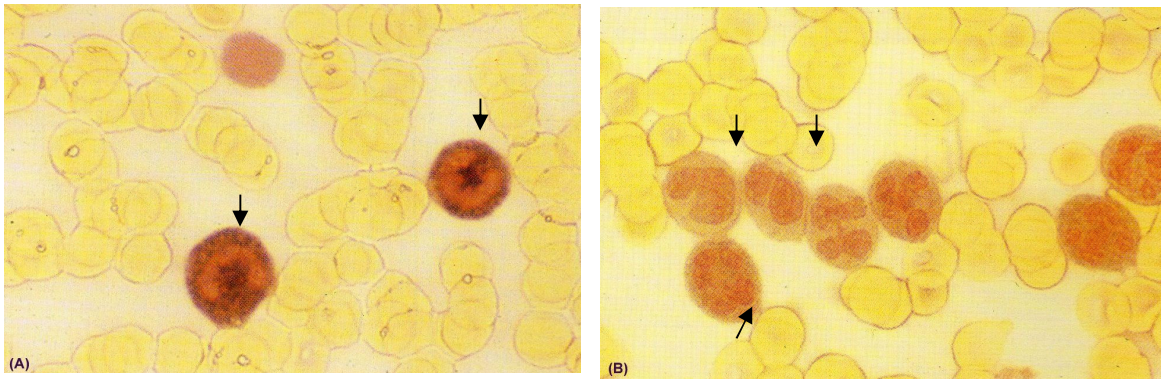
Figura 4: Exame de FISH na LMC. Fonte: NUSSBAUM *et alli*, 2002.

Essa técnica combina a citogenética convencional com a genética molecular, permitindo a detecção de uma translocação em qualquer parte de um cromossomo, dependo apenas de como a sonda é construída. Pode marcar um cromossomo por inteiro ou apenas um braço cromossomal (MONTENEGRO *et alli*, 2008).

2.5.5 EXAMES COMPLEMENTARES

Fosfatase alcalina dos neutrófilos

Na leucemia mielóide crônica há redução do escore de fosfatase alcalina durante a fase crônica. Sem grande importância para o diagnóstico, serve apenas para diferenciar a LMC de uma leucemia linfóide (FLEURY, 2008). As setas nas figuras 5 (A) e 6(B) mostram a diferença em uma lâmina de reação normal e um paciente com LMC.



Reação de fosfatase alcalina. Figura 5(A) Reação de fosfatase positiva. Figura 6(B) Reação negativa - Paciente com LMC. Fonte: Lorenzi (2006).

2.5.6 EXAME FÍSICO

Devido à grande quantidade de células imaturas no sangue periférico, caracterizado pela doença, o exame físico do baço e do fígado é necessário, para avaliação de possível hepato esplenomegalia. Caso o baço tenha um crescimento exarcebado, é feita a retirada desse, para alívio dos sinais e sintomas. Não havendo nenhum prejuízo significativo ao organismo desse paciente, pois outros órgãos suprirão a função do baço, como por exemplo, o fígado e os rins (LORENZI, 2006; OLIVEIRA; NETO, 2004).

2.5.7 EXAMES DURANTE O TRATAMENTO

De acordo com as condutas elaboradas pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) em 2003, durante o tratamento medicamentoso, é necessário acompanhamento laboratorial da doença, a fim de verificar sua eficácia.

- FASE CRÔNICA: hemograma repetido de mês em mês, mielograma de 6 em 6 meses ou quando surge a suspeita de recaída pós remissão com exame de citogenética (PCR e FISH).
- FASE ACELERADA: hemograma de mês em mês, mielograma de três em três meses ou quando tem a suspeita de recaída após remissão.
- CRISE BLÁSTICA: hemograma semanalmente, mielograma de três em três meses com exame de citogenética.

Todo o acompanhamento deve ser feito até que o paciente tenha uma melhora significativa, com o desaparecimento do cromossomo Ph1 e das suas consequências (COMBARIZA *et alli*, 2008).

2.6 TERAPÊUTICA

Na maior parte das vezes a doença é diagnosticada na fase crônica. O tratamento iniciado nesta fase destina-se a fazer desaparecer os sintomas, se existirem, a controlar a doença e a evitar que esta avance para formas mais agressivas (PEREIRA, 2011).

A terapia da LMC teve início na década de 1850, com o uso de produtos arsênicos (solução de Fowler). Na década de 50 do século passado, percebeu-se que a radioterapia era útil no controle dos sinais e sintomas, sendo usada como principal forma de tratamento. Na mesma década, foi introduzido o bussulfan, em substituição à radioterapia que se tinha, a hidroxiuréia foi utilizado a partir de 1972, e apenas na década de 80, o interferon (IFN) passou a ser de primeira linha (PAVITHRAN; THOMAS, 2010).

A terapêutica da LMC tem como objetivo três níveis de respostas: a resposta hematológica completa, na qual há a normalização da contagem das células do sangue; resposta citogenética completa, com a erradicação das células Ph+ da medula óssea e a resposta molecular, determinada pela avaliação quantitativa dos níveis de transcritos do gene BCR/ABL por PCR em tempo real, sendo a resposta molecular completa definida como a ausência de transcrições detectável. (KANTARJIAN; TALPAZ *et al.*, 2006; BACCARANI; CASTAGNETTI *et al.*, 2009; SESSIONS, 2007).

Dentre as terapias mais conhecidas encontram-se os agentes citostáticos como a hidroxiuréia e bussulfano, o transplante de medula óssea, o α-interferon (α-IFN) e mais recentemente, os inibidores de tirosina quinase (TK) como o do mesilato de imatinibe (MI) (Pasquini, 2001). Outros inibidores tirosina quinases foram desenvolvidos, e dois deles já são utilizados no tratamento de pacientes com resistência ou intolerância ao MI (Baccarani, Castagnetti *et al.*, 2009). As tirosina quinases são proteínas que atuam como mensageiros químicos que irão estimular as células malignas a crescer. É considerada uma terapêutica alvo pois se dirige apenas a um alvo molecular, inibindo seletivamente a produção da enzima tirosina cinase do BCR-ABL e, por consequência, a produção das células que levam à LMC (PEREIRA, 2011)

O agente citostático hidroxiuréia interfere na síntese de DNA pela inibição da enzima ribonucleotídeo redutase, porém o benefício na sobrevida era mínimo ou inexistente. Já o bussulfano apresentava efeitos colaterais mais graves, por isso tornou-se menos recomendado (PASQUINI, 2001).

O transplante de medula óssea (TMO), que continua sendo a única probabilidade de cura para a LMC vem perdendo espaço, pois uma das principais dificuldades em se fazer o TMO é a sua limitação quanto a disponibilidade de doadores e a alta toxicidade do procedimento, na fase de indução, em pacientes mais velhos, o que limita a idade de elegibilidade em muitos centros de transplante. Na maioria dos casos, para se fazer o TMO é levado em conta a fase da doença em que o paciente se encontra, pois tem grande influência para o TMO (DRUKER; O'BRIEN *et al.*, 2002).

A prática de TMO's de doadores não aparentados é bastante limitada, devido ao fato da baixa disponibilidade de doadores compatíveis e pelo aumento da toxicidade do procedimento, principalmente relacionado à doença do enxerto contra o hospedeiro (DRUKER; O'BRIEN *et al.*, 2002).

O transplante de células estaminais (TMO) é habitualmente precedido por quimioterapia de alta dose. Apesar de ser considerado um processo curativo, não tem indicação para todos os doentes. Dadas as circunstâncias, falta de doador compatível e alta taxa de mortalidade pós transplante nesta situação, só tem indicação em doentes jovens, com doador compatível e com bom estado físico, de modo a tolerar altas doses de quimioterapia ou de radioterapia. Para doentes mais velhos, pode ter indicação fazer o transplante com intensificação reduzida (SCERNI *et al*, 2009, PEREIRA, 2011).

O tratamento com α-IFN foi um dos primeiros a demonstrar uma atividade imunomodulatória e antitumoral, conseguindo resposta citogenética. A adição de cytarabine fez com que aumentasse o número de pacientes com resposta citogenética completa, podendo aumentar a sobrevida destes pacientes em até 10 anos. Porém, em alguns pacientes ainda era possível detectar por técnicas de PCR a doença residual mínima em nível molecular, além dos efeitos colaterais que em alguns casos eram suficientemente graves para impedir seu uso (QUINTAS-CARDAMA; CORTES, 2006; PASQUINI, 2001).

O Mesilato de Imatinibe, conhecido também como Gleevec, Glivec ou STI571, é um inibidor da atividade BCR/ABL tirosina quinase, inibindo seletivamente a proliferação de células que expressam esta atividade *in vitro* e *in vivo* a partir da inibição das proteínas tirosino quinases. Inicialmente, foi utilizado em pacientes que apresentaram falha no tratamento com α-IFN, ou que estivessem em fase acelerada ou crise blástica. As respostas

hematológicas e citogenéticas com o uso de MI foram melhores em relação às apresentadas por pacientes tratados com α-IFN (DRUKER; O'BRIEN *et al.*, 2002).

O MI é capaz de inibir a atividade tirosina quinase do KIT, ARG (genes relacionados ao ABL), e fator de crescimento derivados de plaquetas (PDGFR), inibindo por competição a interação da adenina trifosfato (ATP) com as proteínas, e assim a capacidade dessas de fosforilar e ativar proteínas-alvo da cascata de sinalização da LMC (*Figura 5)* (DRUKER; O'BRIEN *et al.*, 2002; MCFARLAND; WETZSTEIN, 2009).

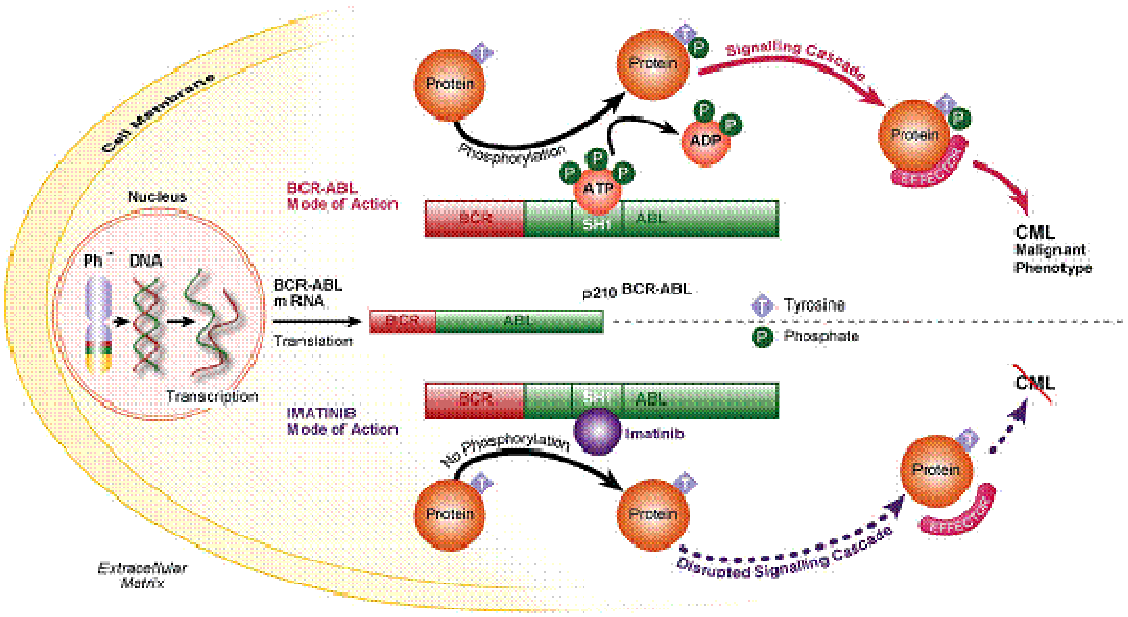


Figura 5: Comparação da ação do BCR/ABL e do Imatinibe na patogênese da LMC. O Imatinibe age mimetizando a ação do ATP, ligando-se ao domínio SH1 do BCR/ABL, evitando a fosforilação da proteína, interrompendo a cascata de sinalização que levam ao desenvolvimento da LMC (FRAZER; IRVINE *et al.*, 2007).

O Dasatinibe (DA) tem como alvo a inibição do BCR/ABL e atuação em mutações sensíveis a esta droga, bem como a família Src, c-Kit, EPHA2, e do receptor do PDGFR e outras quinases em concentrações nanomolares. Ele é utilizado no tratamento de pacientes em qualquer uma das fases, que apresentarem resistência ou intolerância ao MI, pois ele é capaz de superar os mecanismos de resistência, incluindo a sinalização alternativa que envolve as vias da família Src quinases e superexpressão do MDR-1 (*Multidrug-resistance gene 1*

protein), intimamente relacionado ao aumento do efluxo de MI a partir da célula cancerosa mediado por transportadores de membrana (Baccarani, Castagnetti *et al*., 2009; Mcfarland e Wetzstein, 2009). A maioria das mutações clinicamente importantes são sensíveis ao DA, exceto a mutação T315I, que confere resistência aos inibidores MI, DA e Nilotinibe (MASCARENHAS; CUNHA *et al.*, 2009; MCFARLAND; WETZSTEIN, 2009).

O Nilotinibe (NI) é um derivado do MI capaz de inibir a atividade tirosina quinase BCR/ABL, KIT e do receptor do PDGFR, de forma mais potente e seletiva, sendo utilizado no tratamento de pacientes resistentes ao MI que se encontram nas fases crônica ou acelerada (BACCARANI; CASTAGNETTI *et al.*, 2009; MCFARLAND; WETZSTEIN, 2009). O NI é capaz de interromper a ligação ATP-fosfato da tirosina quinase do ABL, inibindo a atividade catalítica da enzima, deixando a enzima inativa, bloqueando o sítio de ligação do substrato (MCFARLAND; WETZSTEIN, 2009).

Tanto o DA quanto o NI são inibidores da segunda geração e possuem uma resposta rápida, com um tempo médio de resposta citogenética de 3 meses. Pacientes com resistência hematológica ao MI ou com anomalias cromossômicas clonais nas células Ph+ e mutações no domínio BCR/ABL quinase, em geral apresentam uma probabilidade menor de atingir resposta citogenética completa (RCC) com estes agentes. (BACCARANI; CASTAGNETTI *et al.*, 2009).

Outros agentes ainda estão em estudo, entre os agentes estão o Bosutinibe (SKI-660) e o INNO-406. Em estudos de fase II, o Bosutinibe mostrou ser um potente inibidor do Src/Abl quinase, sendo mais potente que o MI na inibição da fosforilação do BCR/ABL, porém com pouca inibição contra PDGFR e c-Kit. Ele demonstrou atividade contra a maioria das mutações do BCR-ABL, com exceção a T315I (BIXBY; TALPAZ, 2009; MCFARLAND; WETZSTEIN, 2009).

O INNO-406 está na fase II de estudo clínico, demonstrando atividade de inibição da via ABL/Lyn quinase, sendo mais potente, *in vitro* que o MI em linhagens de células que expressam BCR/ABL. Ele é capaz de inibir muitos domínios mutantes do BCR/ABL, com a mesma exceção dos outros, a mutação T315I (Kantarjian, Giles *et al.*, 2007; Mcfarland e Wetzstein, 2009). Diferentemente dos outros inibidores de TK de segunda geração, o INNO-406 possui atividade específica para a via Lyn quinase, com pequena atividade em outros membros da família Src quinase (MCFARLAND; WETZSTEIN, 2009).

A resistência aos inibidores de tirosina quinases (TKIs) na maior parte dos casos está associada a uma mutação no domínio BCR/ABL quinase e ocorrem quando a doença está em progressão, ou seja, nas fases acelerada e na crise blástica. Quando a resistência ocorre na fase

crônica, esta é associada a mutações no domínio tirosina quinase em menos de 50% dos casos, sendo a causa da resistência muitas vezes desconhecida (BACCARANI, CASTAGNETTI *et al.*, 2009).

A fase blástica é hoje muito menos frequente e resulta de uma falta de resposta aos medicamentos utilizados. Comporta-se como uma leucemia aguda pelo que a terapêutica é a mesma que se utiliza nessa entidade (PEREIRA, 2011).

Outro grupo que está em estudo é o das aurora quinases, que é uma família de serina/treonina quinases com importante função nos eventos de fosforilação das proteínas, regulando a fase de mitose no ciclo celular. Essas proteínas estão super expressas em alguns cânceres humanos, o que sugere a investigação de inibidores para estas quinases (KANTARJIAN, GILES *et al.*, 2007). Um inibidor da aurora quinase é o MK0457 (VX680), e estudos *in vitro* mostraram a capacidade de inibir a mutação T315I do BCR/ABL, impedindo a proliferação das células de LMC derivadas de pacientes com essa mutação (KANTARJIAN; GILES *et al.*, 2007; SHAH, 2007; BIXBY; TALPAZ, 2009).

Outros novos agentes estão ilustrados na Figura 6 e incluem agentes anti-angiogênicos, vacinas peptídicas, TNF (Fator de necrose tumoral) relacionado à indução da apoptose; DNA's hipometilados, oligonucleotídeos anti *sense* e inibidores de RNA, efeitos P13K, evitando a ativação do AKT, resultando na liberação dos sinais apoptóticos e dos sinais promotores da sobrevivência celular, além da desestabilização da proteína BCR/ABL, porém estes agentes ainda estão em desenvolvimento pré-clínico (FRAZER;IRVINE *et al.*, 2007).

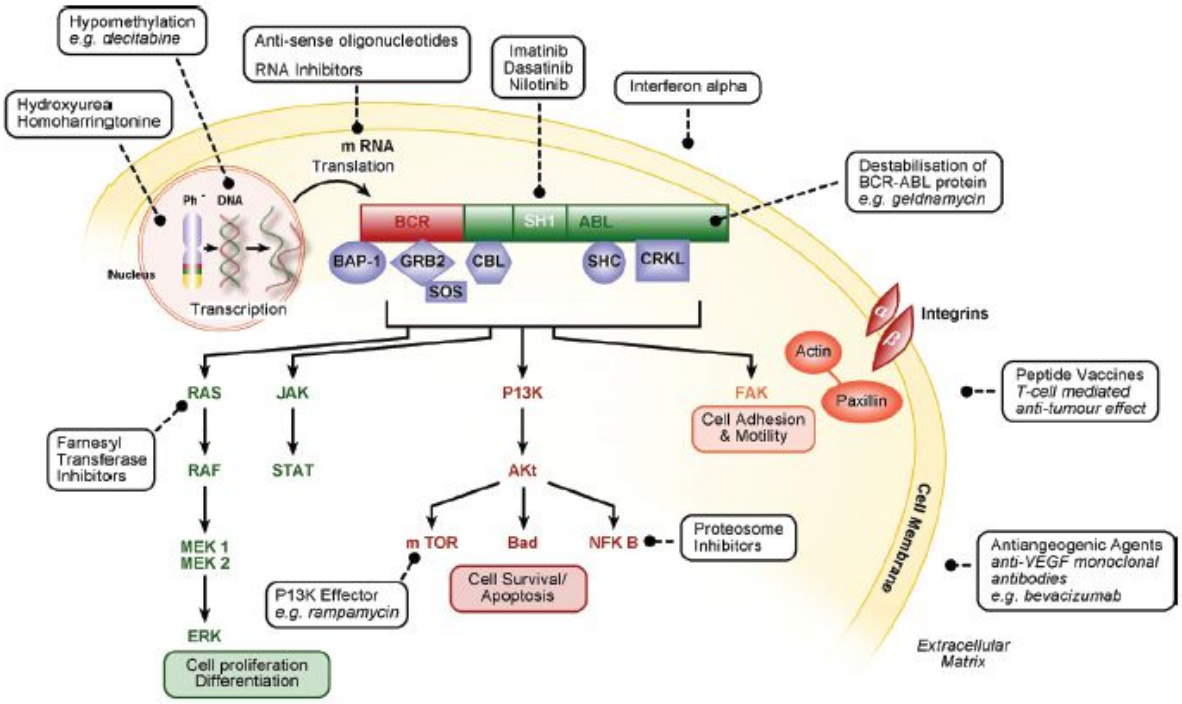


Figura 6: Alvos da terapia da LMC: algumas terapias tem como alvo a indução ou liberação para os sinais de apoptose ou mesmo desestabilização da proteína BCR/ABL, além de inibirem a ativação de vias relacionadas à patogenia da LMC (FRAZER; IRVINE *et al.*, 2007).

2.6.1 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA À TERAPIA

A avaliação da resposta à terapêutica é baseada em testes hematológicos, citogenéticos e moleculares. O grupo europeu propôs uma classificação, chamada *Leukemia net*, para as respostas ao tratamento como resposta ótima, sub ótima e falha, propondo também uma definição para resposta hematológica, citogenética e molecular, como mostra a Tabela 1 (BACCARANI, CASTAGNETTI *et al.*, 2009).

Tabela 1: Definição de resposta hematológica, citogenética e molecular de acordo Leukemia Net segundo Baccarani et al, 2009.

Resposta Hematológica Completa	**WBC<10x10^9/L, sem granulócitos imaturos, < 5% de basófilos, plaquetas < 450x10^9/L, baço não palpável**
Resposta Citogenética Completa	Ausência de metáfases Ph +
Resposta Citogenética Parcial	1 a 35% de metáfases Ph+
Resposta Citogenética Menor	36 a 65% de metáfases Ph+

Resposta Citogenética Mínima	66 a 94% de metáfases Ph+
Ausência de Resposta Citogenética	≥95% de metáfases Ph+
Resposta Molecular Maior	BCR/ABL: ABL ≤0,1% na Escala Internacional
Resposta Molecular Completa	Transcritos BCR/ABL indetectáveis por RT-Q-PCR

A primeira recomendação de tratamento na fase crônica é a utilização de MI. Caso o paciente seja resistente ou intolerante ao MI, recomenda-se o uso de DA ou NI, de acordo com a presença de mutações no domínio BCR/ABL quinase e das condições clínicas e co-morbidades do paciente. Quando o paciente não obtém resposta com os inibidores de TK, é recomendado a realização do TMO o mais rápido possível (BACCARANI, CASTAGNETTI *et al.*, 2009).

O monitoramento da resposta ao tratamento deve ser feito, acompanhando a resposta hematológica, citogenética e molecular do paciente e pode ser definido como mostra a Tabela 2 de acordo com Leukemia Net, segundo Baccarani et al, 2009.

Para os pacientes que não atingem a resposta esperada dentro dos critérios da *Leukemia net* ou perdem algum tipo de resposta atingida, a análise de mutações pode ser feita por sequenciamento ou por cromatografia líquida desnaturante de alta performance (D-HPLC) sempre antes da troca de inibidores de TK (BACCARANI, CASTAGNETTI *et al.*, 2009).

Tabela 2: Monitoramento da resposta hematológica, citogenética e molecular do paciente em tratamento de acordo com Leukemia Net, segundo Baccarani et al, 2009.

Resposta Hematológica Completa (RHC)	**Hemograma a cada 2 semanas até a confirmação da RHC, e depois disso, por mais 3 meses para o acompanhamento**
Resposta Citogenética Completa (RCC)	Análise de bandas do cromossomo ou FISH de material da medula óssea no 3º e 6º mês, e depois a cada 6 meses até a RCC confirmada, e depois refazendo a análise a cada 12 meses
Resposta Molecular Maior (RMM)	Mensurar níveis de transcritos BCR/ABL nas células do sangue por RT-Q-PCR (PCR quantitativo) a cada 3 meses até uma RMM confirmada, e depois a cada 6 meses

2.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo de revisão apresentado mostrou a importância do diagnóstico laboratorial precoce e do acompanhamento durante todo o tratamento da LMC, a fim de evitar uma recaída da doença, que pode ocorrer através da doença residual mínima (DRM) e por exames que podem apresentar um falso resultado de cura do paciente. Portanto, deve ser feito uma padronização para que todos tenham acesso aos exames necessários, diminuindo os riscos de recaídas.

Exames como rRT-PCR e FISH são indispensáveis no momento do diagnóstico, pois são eles que definem a presença da translocação em questão. Além do uso da fosfatase alcalina, que é bastante importante para a diferenciação da leucemia mielóide crônica de uma leucemia linfóide.

O transplante de medula óssea é indicado para pacientes jovens que têm algum tipo de resistência a algum tratamento medicamentoso e que apresentem uma chance de sobrevida maior após o transplante.

Os tratamentos são feitos desde 1950, com a descoberta do Bussulfan, passando pelo uso da hidroxiúreia, até o desatinibe e nilotinibe, que são drogas que estão em pleno estudo atualmente.

Alguns cuidados especiais devem ser tomados para que a quantidade de pessoas atingidas por tal doença diminua, como a baixa exposição aos produtos radioativos e quimioterapia e a produtos da indústria química que contenham principalmente o benzeno, que são os causadores da translocação 9 e 22, t(q34:11).

Pacientes que são acometidos por tal doença, são cada vez mais assistidos pelo serviço de saúde pública, porém esse número ainda não atingiu um limiar satisfatório, até porque crianças e jovens acometidos não têm esse suporte, pois os medicamentos só são disponibilizados gratuitamente à aqueles acima de 18 anos.

É importante a realização de campanhas educativas para esclarecimento de dúvidas gerais para todos aqueles que têm interesse pelo assunto, bem como as de incentivo de doação de medula óssea, pois é a única forma que se tem hoje de curar todos os tipos de leucemias.

2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, P. S. R; SADDI, V. A. **Monitoramento de doença residual mínima em leucemia mielóide crônica por PCR em tempo real**. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. v.29 n.4, p. 382-386, abr/2007

AMEO. Exames. Disponível em: <http://www.ameo.org.br/interna2.php?id=8>. Acesso em: 16 de Setembro de 2010.

BACCARANI, M., F. CASTAGNETTI, *et al.* **Response definitions and European Leukemianet Management recommendations**. Best Pract Res Clin Haematol, v.22, n.3, Sep, p.331-41. 2009.

BIXBY, D. e M. TALPAZ. **Mechanisms of resistance to tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia and recent therapeutic strategies to overcome resistance.** Hematology Am Soc Hematol Educ Program, p.461-76. 2009.

BONIFAZI, F., A. De Vivo, *et al.* **Chronic myeloid leukemia and interferon-alpha: a study of complete cytogenetic responders**. Blood, v.98, n.10, Nov 15, p.3074-81. 2001.

BORTOLHEIRO, T.C; CHIATTONE, C. S. Leucemia mielóide crônica: história natural e classificação. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.** v. 30, n. 1, p.3-7, mar/2008.

BRAUER, K. M., D. WERTH, *et al.* **BCR-ABL activity is critical for the immunogenicity of chronic myelogenous leukemia cells**. Cancer Res, v.67, n.11, Jun 1, p.5489-97. 2007.

CAMBARIZA, J. F.; RODRÍGUEZ, M. L.; GARCÍA, J.; RIOS, A.; GÁLVEZ, K.; CARDONA, A.; MUNÉVAR, I.; CASAS, C.; PACHECO, J. O.; ENCISO, L.; HERRERA, M. V.; GALEANO, F.; DURANGO, F.; NIÑO, C.; ROSALES, M.; PIÑA, M.; ROSALES, C.; ABELLO, V.; GUERRA, J.; CANTOR, E; ROSALES, J.; BOJANINI, M. D; SOSSA, C.; CAMACHO, Á.; CASTRO, C.; DUQUE, J. **Consenso sobre diagnóstico y tratamiento de Leucemia Mielóide Crónica en Colombia.** Revista Colombiana de Cancerologia. v.12, n.3, p.126-142, 2008.

CARVALHO, P. V. B. *et al* . E**xpression of p190 BCR-ABL fusion gene in a patient with chronic myeloid leukemia.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**.**, São José do Rio Preto, v. 25, n. 3, 2003.

CHAUFFAILLE, M, L., J. S. Oliveira, *et al.* **Fluorescent in-situ hybridization (FISH) for BCR/ABL in chronic myeloid leukemia after bone marrow transplantation**. Sao Paulo Med J, v.119, n.1, Jan 4, p.16-8. 2001.

DEININGER, M. W. N. **Chronic Myeloid Leukemia: An historical perspective.** American Society of Hematology, 2008.

DEININGER, M. W. N. **Milestones and monitoring in patients with CML treated with imatinib.** American Society of Hematology. p. 419-426, 2008.

DEININGER, M. W. **Chronic myeloid leukemia: an historical perspective**. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, p.418. 2008.

DUARTE, N. L. **A leucemia mielóide crônica e o uso do mesilato de imatinibe em seu tratamento.** Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, dez/2005.

DRUKER, B. J. **Translation of the Philadelphia chromosome into therapy for CML**. Blood, v.112, n.13, Dec 15, p.4808-17. 2008.

DRUKER, B. J., S. G. O'BRIEN*, et al.* **Chronic myelogenous leukemia**. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, p.111-35. 2002.

FAILACE, R. **Hemograma-Manual de interpretação**. 5.ed. Porto Alegre : Artmed, 2009. 424p.

FLEURY, Medicina e Saúde. **Manual de hematologia – Leucemia mielóide crônica**. 2008. Disponível em: <http://www.fleury.com.br/Medicos/SaudeEmDia/ManualHematologia/pages/LeucemiaMiel%C3%B3ideCr%C3%B4nica.aspx>. Acesso em: 13 de Setembro de 2008.

FRAZER, R., A. E. IRVINE*, et al.* **Chronic Myeloid Leukaemia in The 21st Century**. Ulster Med J, v.76, n.1, Jan, p.8-17. 2007.

GIGLIO, A. D.; KALIKS, R. **Princípios de hematologia clínica**. 1.ed. Barueri-SP: Manole, 2007. 274p.

GRANDO, A. C; WAGNER, **Sandrine C. Avaliação da doença residual mínima na leucemia mielóide crônica por *Real- Time* PCR.** Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial, v.44, n.6, p.433-440, dez/2008.

HAMERSCHLAK, N. **Leukemia: genetics and prognostic factors**. J Pediatr (Rio J), v.84, n.4 Suppl, Aug, p.S52-7. 2008.

HEHLMANN, R. e S. SAUSSELE. **Treatment of chronic myeloid leukemia in blast crisis**. Haematologica, v.93, n.12, Dec, p.1765-9. 2008.

HUGHES, T. **ABL kinase inhibitor therapy for CML: baseline assessments and response monitoring**. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, p.211-8. 2006.

INOKUCHI, K. **Chronic myelogenous leukemia: from molecular biology to clinical aspects and novel targeted therapies**. J Nippon Med Sch, v.73, n.4, Aug, p.178-92. 2006.

JAMIESON, C. H. **Chronic myeloid leukemia stem cells**. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, p.436-42. 2008.

KANTARJIAN, H., J. V. MELO, *et al.* **Chronic Myelogenous Leukemia: Disease Biology and Current and Future Therapeutic Strategies**. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, p.90-109. 2000.

KANTARJIAN, H. M., F. GILES, *et al.* **Important therapeutic targets in chronic myelogenous leukemia**. Clin Cancer Res, v.13, n.4, Feb 15, p.1089-97. 2007.

KANTARJIAN, H. M., M. TALPAZ, *et al.* **New insights into the pathophysiology of chronic myeloid leukemia and imatinib resistance**. Ann Intern Med, v.145, n.12, Dec 19, p.913-23. 2006.

KORETZKY, G. A. **The legacy of the Philadelphia chromosome**. J Clin Invest, v.117, n.8, Aug, p.2030-2. 2007.

LORENZI, T. F. **Manual de hematologia: propedêutica e clínica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 722p.

LORENZI, T. F. **Atlas de hematologia: clínica hematológica ilustrada**. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 688p

MASCARENHAS, C. C., A. F. CUNHA, *et al.* **New mutations detected by denaturing high performance liquid chromatography during screening of exon 6 bcr-abl mutations in patients with chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors**. Leuk Lymphoma, v.50, n.7, Jul, p.1148-54. 2009.

MCFALAND, K. L. e G. A. WETZSTEIN. **Chronic myeloid leukemia therapy: focus on second-generation tyrosine kinase inhibitors**. Cancer Control, v.16, n.2, Apr, p.132-40. 2009.

MELO, J. V., T. P. HUGHES, *et al.* **Chronic myeloid leukemia.** Hematology Am Soc Hematol Educ Program, p.132-52. 2003.

MICHOR, F. **Chronic myeloid leukemia blast crisis arises from progenitors**. Stem Cells, v.25, n.5, May, p.1114-8. 2007.

MONTENEGRO, V. S; SANTOS, V. M. V. O; VEITH, M. **Análise citogenética na Leucemia Mielóide Crônica**. Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba. v.10, n.3, p. 5-12, 2008.

NASSBAUM, R. L; MCINNES, R. R; WILLARD, H F. **Genética médica**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 400p.

NATIONAL C. I. Physician Data Query (PDQ). **Chronic Myelogenous Leukemia: Treatment**. 2/3/2012. Accessed at http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/CML/HealthProfessional on April 2012.

NONINO, A. **Problemas e perspectivas do tratamento da Leucemia Mielóide Crônica no Brasil**. Rev. bras. hematol. hemoter. v.30. Supl. 1. p. 66-69. 2008.

OHSAKA, A., S. SHIINA, *et al.* Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia expressing p190(BCR-ABL). Intern Med, v.41, n.12, Dec, p.1183-7. 2002.

OLIVEIRA, R. A. G; NETO, Adelino P. **Anemias e leucemias: conceitos básicos e diagnóstico por técnicas laboratoriais**. 1.ed. São Paulo: Roca, 2004. 421p.

PASQUINI, R. **Leucemia Mielóide Crônica**. Variantes da Leucemia Mielóide Crônica. In: Zago, M.A., R. P. Falcão, et al. Hematologia – Fundamentos e Prática. 1ª ed., Atheneu. 2001.

PAVITHRAN, K & THOMAS, Mathew. **Treatment of Chronic Myeloid Leukemia-An update**. Disponível em: <http://priory.com/med/leuk.htm>. Acesso em: 16 de outubro de 2010.

VERRASTRO, T.; LORENZI, Therezinha F; Neto, Silvano W. **Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 303p.

PEREIRA, A. M.. **Leucemia Mielóide Crônica, Manual para Doentes e Familiares**. Bristol-Myers Squibb, 2011.

POLAMPALLI, S., A. CHOUGHULE, *et al.* **Analysis and comparison of clinicohematological parameters and molecular and cytogenetic response of two Bcr/Abl fusion transcripts**. Genet Mol Res, v.7, n.4, p.1138-49. 2008.

QUINCAS-CARDAMA, A. e J. E. CORTES. **Chronic myeloid leukemia: diagnosis and treatment**. Mayo Clin Proc, v.81, n.7, Jul, p.973-88. 2006.

RADICH, J. P. **The Biology of CML blast crisi**s. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, p.384-91. 2007.

SCERNI, A.C. C; ALVARES, L. A; BELTRÃO, A.C.; BENTES, I. R.; AZEVEDO, T. C; BENTES, A.Q.; LEMOS, J. A. R. **Influence of late treatment oh how chronic myeloid leukemia respons to imatinib**. Clinical Scienc. v.64, n.8, p.731-734. abr/2009

SESSIONS, J. **Chronic myeloid leukemia in 2007**. J Manag Care Pharm, v.13, n.8 Suppl A, Oct, p.4-7. 2007.

SHAH, N. P. **Medical management of CML**. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, p.371-5. 2007.

VALENCIA, A., J. CERVERA, *et al.* **Complex Variant t(9;22) Chromosome Translocations in Five Cases of Chronic Myeloid Leukemia.** Adv Hematol, v.2009, p.187125. 2009.

WESTMAN, J. A. **Genética médica**. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 220p.