



Citogenética e biologia molecular no curso clínico e diagnóstico da leucemia mieloide crônica.

Autores: Carolina Santos de Sousa ¹, Juliana Santos Montenegro Pereira ¹, Gioconda Emanuella Diniz de Dantas Moura ².

Filiação: 1. Discente da Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo / SP, Brasil. 2. Docente da Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo / SP, Brasil.

RESUMO

O câncer é um grave problema de saúde pública no Brasil e no mundo. Dados do Instituto Nacional do Câncer apontam mais de 625 mil novos casos para o período de 2020 a 2022, com mais de 30 mil novas ocorrências com origens onco-hematológicas. As doenças onco-hematológicas são caracterizadas por um grupo heterogêneo de neoplasias originadas a partir de células precursoras, as células tronco hematopoiéticas, com capacidade proliferativa aumentada e desordenada que compromete o desenvolvimento de células das linhagens linfóide e mieloide. A Organização Mundial de Saúde classifica essas doenças segundo topografia e morfologia do sistema hematopoiético e entre os grupos de maior destaque, encontram-se as leucemias, linfomas e mielomas. A LMC (leucemia mieloide crônica) é caracterizada por desordens na proliferação de precursores da linhagem mieloide, comprometendo a capacidade de diferenciação dessas células e promovendo a liberação de células imaturas na corrente sanguínea. O presente trabalho realizará uma revisão sistemática da literatura, com o objetivo de apresentar os mecanismos celulares e genéticos que envolvem a patogênese da leucemia mieloide crônica e, discutir a importância da citogenética e da biologia molecular no prognóstico assertivo e eficaz desta doença onco-hematológica.

Palavras chaves: Leucemia Mieloide Crônica; Citogenética; Biologia Molecular; Diagnóstico.

ABSTRACT



Cancer is a serious public health problem in Brazil and in the world. Data from the National Cancer Institute indicate more than 625 thousand new cases for the period from 2020 to 2022, with more than 30 thousand new occurrences with onco-hematological origins. The onco-hematologic diseases are characterized by a heterogeneous group of neoplasms originating from precursor cells, the hematopoietic stem cells, with increased and disordered proliferative capacity that compromises the development of cells of the lymphoid and myeloid lineages. The World Health Organization classifies these diseases according to topography and morphology of the hematopoietic system, and among the most prominent groups are lymphomas, myelomas and leukemias. CML (chronic myeloid leukemia) is characterized by disorders in the proliferation of myeloid lineage precursors, which compromises the ability of these cells to differentiate and promotes the release of immature cells into the bloodstream. This paper will carry out a systematic review of the literature, with the objective of presenting the cellular and genetic mechanisms involved in the pathogenesis of chronic myeloid leukemia, and to discuss the importance of cytogenetics and molecular biology in the assertive and effective prognosis of this onco-hematologic disease.

Keywords: *Chronic myeloid leukemia; Cytogenetics; Molecular biology; Diagnosis.*

INTRODUÇÃO

O câncer é um grave problema de saúde pública com estimativa crescente a cada ano. Dentre a grande diversidade de neoplasias malignas, segundo o banco de dados da Globocan, divulgados pela OMS as onco-hematológicas ocasionaram mais de 30 mil ocorrências somente no ano de 2018 (DOMINGUEZ *et al.*, 2020). As doenças do grupo onco-hematológicas são ocasionadas pela proliferação descontrolada das células precursoras da medula óssea responsáveis pela formação das células sanguíneas do organismo, este desequilíbrio compromete o desenvolvimento saudável e regular das células descendentes (DOMINGUEZ *et al.*, 2020).

Dentre as neoplasias onco-hematológicas, a leucemia mieloide crônica corresponde de 15 a 20% de todos os casos da doença e possui uma taxa de um a dois casos a cada 100.000 indivíduos. Acomete a população com idade mais



avançada entre 40-60 anos e os sintomas mais comuns são esplenomegalia, fadiga e febre. Além do hemograma evidenciar a presença de desvio à esquerda com predominância de células imaturas granulocíticas, também apresenta anemia, trombocitose, entre outras características. Conforme as manifestações clínicas apresentadas a LMC pode ser classificada em três fases: aguda (FA), crônica (FC) e crise blástica (CB).

O desenvolvimento e aprimoramento das técnicas citogenéticas relacionado ao cromossomo Ph e outras alterações moleculares e permitiu que o diagnóstico se tornasse mais assertivo e eficaz, permitindo novas perspectivas de tratamento e maior qualidade de vida para o paciente acometido com a LMC.

OBJETIVOS

GERAL

Este projeto científico tem por objetivo reunir informações relacionadas aos métodos de diagnóstico para neoplasias onco-hematológicas com foco na Leucemia Mieloide Crônica destacando a importância das técnicas citogenéticas para um diagnóstico mais assertivo que possibilite um tratamento antecipado e adequado, além de instruir os profissionais de saúde e a população que possui interesse nas inovações da oncologia.

ESPECÍFICOS

- Identificar e classificar as neoplasias onco-hematológicas;
- Caracterizar a leucemia mieloide crônica;
- Descrever o processo de oncogênese da LMC;
- Apresentar o perfil clínico e sintomatológico para a neoplasia;
- Evidenciar os métodos de diagnósticos mais comuns para a LMC;
- Destacar a importância das técnicas de citogenética para um diagnóstico diferencial na leucemia mieloide crônica.



MATERIAL E METODOLOGIA

O presente trabalho foi desenvolvido no formato de revisão bibliográfica, descritiva e qualitativa. A seleção de artigos foi realizada na base de dados Scielo, LILACS, PubMed e Google Acadêmico, durante o período de setembro de 2021 a maio de 2022. Para a busca nas bases de dados foram utilizados os seguintes descritores: citogenética, biologia molecular, leucemia mieloide crônica, métodos de diagnóstico e fatores relacionados ao tema. Os critérios de inclusão foram artigos de pesquisa, teses de doutorado, revistas on-lines, monografias e dissertações diretamente relacionados aos objetivos da pesquisa, contemplando o tema e que foram publicados nos últimos dez anos, nos idiomas inglês, espanhol e português, cujo texto completo estivesse disponível na íntegra e gratuitamente. Foram descartados artigos que não cumpriram os critérios previamente estabelecidos. Dos diversos artigos, foram pré-selecionados 120 artigos referentes ao objetivo do trabalho, destes foram excluídos os que não atendiam os critérios para elaboração do projeto, totalizando 22 trabalhos científicos.

DESENVOLVIMENTO

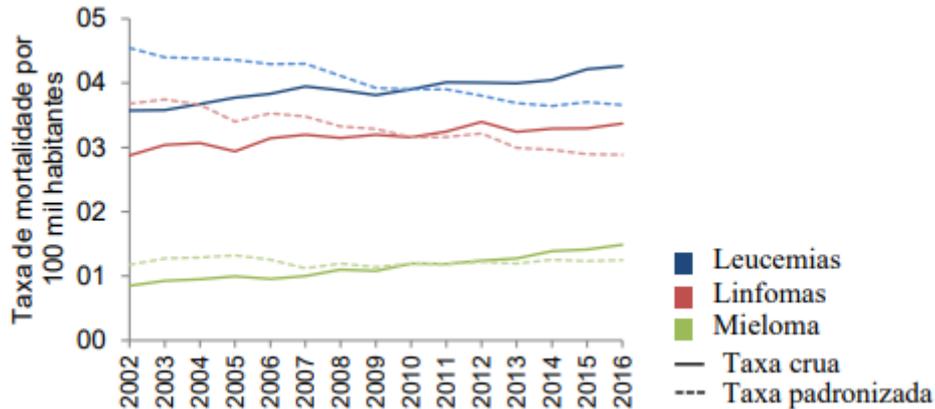
CLASSIFICAÇÃO DAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

A onco-hematologia é a área de Ciências da Saúde que dedica atenção aos distúrbios que atingem o tecido hematopoiético, incluindo tanto células mieloides, quanto as células linfoides. Encontram-se nesse grupo as leucemias, linfomas, mielomas e outras doenças mieloproliferativas (LIMA e MINETTO, 2014). As doenças do grupo onco-hematológicas são ocasionadas pela proliferação descontrolada das células precursoras da medula óssea responsáveis pela formação das células sanguíneas do organismo, este desequilíbrio compromete o desenvolvimento saudável e regular das células descendentes (DOMINGUEZ *et al.*, 2020).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer, as neoplasias malignas são um grave problema de saúde pública com uma estimativa crescente de 625 mil novos casos para cada ano do triênio 2020-2022. Também, o banco de dados GLOBOCAN da Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) em 2018, divulgou a ocorrência de 33.519 casos novos de doenças onco-hematológicas e mais de 17 mil óbitos

apenas no Brasil. A taxa de mortalidade para este grupo de doenças segue em ascensão desde o ano de 2002 (FIGURA 1).

Figura 1 - Mortalidade por doenças onco hematológicas. Brasil, 2002 – 2016.



Fonte: DOMINGUEZ *et al.*, 2020.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) na tentativa de identificar e categorizar o conhecimento sobre as doenças onco-hematológicas elaborou no ano de 1994 uma classificação geral que passa por atualizações periódicas adicionando novas descobertas até os dias de hoje. A classificação de neoplasias hematológicas mais recente, foi proposta pela OMS em 2016, após a revisão de critérios, nomenclaturas e definições que agregam aspectos clínicos, morfológicos, imunofenotípicos e genético-moleculares de relevância para o tratamento e prognóstico dos pacientes afetados por essas patologias. A classificação de 2016 dividiu estas patologias em doze grupos (FIGURA 2).

Figura 2 – Classificação das neoplasias hematológicas segundo OMS.

Classificação das neoplasias hematológicas de acordo com a OMS
I. Neoplasias mieloproliferativas;
II. Neoplasias mieloides e linfoides com eosinofilia e anormalidades dos genes PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1;
III. Neoplasias mieloproliferativas/mielodisplásicas (NMP/MD);
IV. Síndromes mielodisplásicas (SMD);
V. Leucemia mieloide aguda (LMA) e neoplasias de células precursoras relacionadas;
VI. Leucemias agudas e linhagem ambígua;
VII. Neoplasias de células linfoides precursoras;



VIII. Neoplasias de células linfoides B maduras;
IX. Neoplasias de células T e NK maduras;
X. Linfoma de Hodgkin (LH);
XI. Neoplasia de células histiocíticas e dendríticas;
XII. Doenças linfoproliferativas associadas à imunodeficiência (DLP-ID).

Fonte: Adaptado de Zerbini *et al.*, 2011.

Dentre a grande diversidade de doenças onco-hematológicas, foi selecionada a patologia que se destaca entre o grupo de neoplasias mieloproliferativas (NMP), a Leucemia Mieloide Crônica, pois segundo Nowell & Hungerford (1960) e Johansson *et al.*, (2000) foi a primeira neoplasia relacionada, consistentemente, com uma anomalia genética adquirida e corresponde de 15% a 20% de todas as leucemias com incidência de um a dois casos a cada 100.000 indivíduos (SOSSELA; ZOPPAS;WEBER, 2017). As NMPs são doenças clonais de célula tronco hematopoiéticas, nas quais há a proliferação aumentada das séries mieloides (granulocítica, eritrocítica e megacariocítica) que resultam na liberação de células maduras para o sangue periférico (CHAUFFAILLE, 2010).

FISIOPATOLOGIA DA LMC

Classicamente, a LMC evolui em três fases: fase crônica (FC), acelerada (FA) e crise blástica (CB), que envolve a transformação da LMC para um quadro de leucemia aguda. A doença se inicia pela fase crônica, pode levar até quatro anos para evoluir para fase acelerada e então, progride para uma crise blástica (PEIXOTO, 2017).

Fase crônica

O quadro clínico dessa fase é evidenciado pela apresentação de esplenomegalia volumosa, hepatomegalia. As características mais comuns do sangue periférico é a presença de desvio à esquerda com predominância de células granulocíticas imaturas, tais como mieloblasto, promielócitos, mielócitos e metamielócito. (REINATO e MARTINI, 2019) Também se observa o desenvolvimento de anemias normocíticas e normocrômicas (GOMES, 2020). Outro aspecto característico da FC está relacionado com a quantidade de fosfatase alcalina intraleucocitária, baixa na maioria dos casos, elevando-se conforme o avanço da doença (MORAES, 2018). Em média, após um período de quatro anos a LMC pode evoluir para a FA e em seguida para a

CB, entretanto, também pode ocorrer a evolução direta da FC para a CB quando não tratada.

Fase acelerada

Diversas instituições descreveram a definição da fase acelerada nos últimos anos, dentre as mais populares destacam-se a caracterização da M.D. Anderson Cancer Center (MDACC), da International Blood and Marrow Transplantation (IBMTR) e da OMS. Para cada definição foi considerado o número de blastos, basófilos, presença de evolução clonal entre outras características (TABELA 1) (BORTOLHEIRO e CHIATTONE 2008).

TABELA 1 - Comparação das três classificações da leucemia mieloide crônica em fase acelerada.

	MDACC	IBMTR	OMS
Blastos (%)	≥ 15	≥ 10	10-19
Blastos + Promielócitos (%)	≥ 30	≥ 20	NA
Basófilos (%)	≥ 20	≥ 20	≥ 20
Plaquetas (/mm ³)	< 100.000	Aumento ou diminuição persistente independente do tratamento	<100.000 ou >1.000.000
Leucócitos (/mm ³)	NA	Difícil controle	NA
Anemia	NA	Não responsiva ao tratamento	NA
Esplenomegalia	NA	Em aumento	NA
Citogenética	Evolução clonal	Evolução clonal	Evolução clonal
Outros	NA	Sarcoma granulocítico, fibrose	Proliferação de megacariócitos, fibrose

MDACC: M.D. Anderson Cancer Center; IBMTR: International Bone Marrow Transplant Registry; NA: não se aplica

Fonte: BORTOLHEIRO e CHIATTONE, 2008.

Crise blástica

Um dos principais critérios para a identificação nessa fase é a contagem de blastos superior a 20% segundo a OMS. Também o MDACC define LMC a partir da contagem de blastos igual ou superior a 30%, ou, então a soma de blastos e promielócitos acima de 30% (TABELA 2). Em paralelo, alguns estudos realizados por Cortes *et al.*, (2006) indicou que indivíduos com contagem inferior a 29% apresentavam maior sobrevida e um melhor prognóstico comparado a pacientes com contagem superior a 30%, o que demonstra que o ponto de corte de blastos permanece em constante discussão (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017).

Tabela 2. Perfil do hemograma nas diferentes fases da LMC.

Fases da doença	Parâmetros utilizados	Valores encontrados
Fase crônica	Contagem de leucócitos	Leucocitose superior a 50.000/mm ³ com desvio à esquerda
	Diferencial	Predomínio de neutrófilos e mielócitos Contagem ↓ metamielócitos Raros promielócitos Presença de até 10% de blastos Basófilos e Eosinófilos aumentados
	Eritrograma Plaquetas	Anemia crescente Valor normal ou superior
Fase acelerada	Contagem de leucócitos	Leucocitose crescente > 100.000/mm ³
	Diferencial	Blastos aumentados entre 10 a 19% Basófilos > 20%
	Eritrograma Plaquetas	Anemia crescente < 100.000 ou >100.000
Crise blástica	Contagem diferencial	↓ Blastos >20%

Fonte: Adaptado de SOSSELA; ZOPPAS; WEBER., 2017.

Diversas técnicas laboratoriais complementares são utilizadas para identificar anormalidades genéticas tumorais específicas. A escolha do tipo de metodologia dependerá da sensibilidade do teste, tipo de amostra e estágio da doença.

Inicialmente, estudos moleculares podem estabelecer um diagnóstico nos casos em que os detalhes morfológicos são inconclusivos sobre a malignidade. A presença de anormalidades genéticas específicas em populações celulares pode determinar a presença de processos patológicos clonais. Em geral, o diagnóstico inicial da LMC é estabelecido por meio de exames de rotina e complementares que permitem uma análise aprofundada de suas características e determinação do estágio de desenvolvimento da doença.

Para maiores esclarecimentos e diagnósticos mais seguros, o uso da análise citogenética e molecular torna-se muito importante. A citogenética é a ciência que estuda os cromossomos e sua função, estrutura, comportamento biológico, patológico, e se divide em citogenética clássica e citogenética molecular. A citogenética clássica baseia-se na análise dos cromossomos em divisão celular, enquanto a molecular compreende as técnicas de *hibridação in situ por fluorescência* (FISH), hibridação genômica comparativa (CGH), cariotipagem espectral (SKY), dentre outras (FERREIRA, 2021).

Segundo Fernanda Leite *et al.*, (2015) o diagnóstico da LMC pode ser confirmado através das técnicas citogenéticas associadas às alterações



hematológicas encontradas, como a contagem de glóbulos brancos além de outros achados característicos na medula e no sangue.

As técnicas citogenéticas também podem ser aproveitadas no âmbito medular, o diagnóstico pode ser feito pelo mielograma e biópsia medular. O exame citogenético determina o número e a anormalidade cromossômica identificada pela presença do cromossomo Philadelphia nas células da medula óssea. Em pacientes com LMC, o tecido da medula óssea se encontra em alta atividade celular em função da hiperplasia mieloide, conseqüentemente, apresenta células em todas as fases de maturação e com série vermelha diminuída, dessa forma, a medula óssea pode ser considerada o melhor tecido para análise, visto que, possui uma grande quantidade de material para estudo citogenético (SOSSELA; ZOPAS; WEBER 2017)

GENE BCR-ABL

Como mencionado anteriormente, a LMC foi a primeira neoplasia relacionada a uma anomalia genética a partir do descobrimento do cromossomo Philadelphia (Ph) por Nowell & Hungerford (1960). Este marcador citogenético está presente em grande quantidade nas células de pacientes acometidos com a LMC, apesar de não alterar a quantidade de cromossomos nas células, seu tamanho é ligeiramente menor quando comparado aos demais.

Esta anomalia genética ocorre a partir da translocação recíproca dos braços longos do cromossomo 9 e 22 (FIGURA 3), resultando na fusão dos genes ABL (Abelson Leukemia Virus), originado pelo cromossomo 9q34, e BCR (Breakpoint Cluster Region), advindo do cromossomo 22q11, formando, assim, dois novos genes, o BCR-ABL no cromossomo 22q- e o ABL-BCR no cromossomo 9q+ (FILHO, 2017).

Em células normais, o gene ABL codifica uma tirosina quinase que se distribui no núcleo e no citoplasma e é responsável por traduzir os sinais para regular a estrutura do citoesqueleto. O gene BCR codifica uma serina-treonina quinase que, quando oligomerizada, tem a capacidade de fosforilar várias proteínas (CUNHA, 2018). A fusão do gene BCR com a região N-terminal de c-ABL1 produz uma proteína quimérica BCR-ABL com maior atividade de tirosina quinase do que a proteína c-ABL normal, que é responsável pela transformação celular. A atuação enzimática da proteína ABL p145 normal é codificada pelo domínio de homologia SRC-1 e se

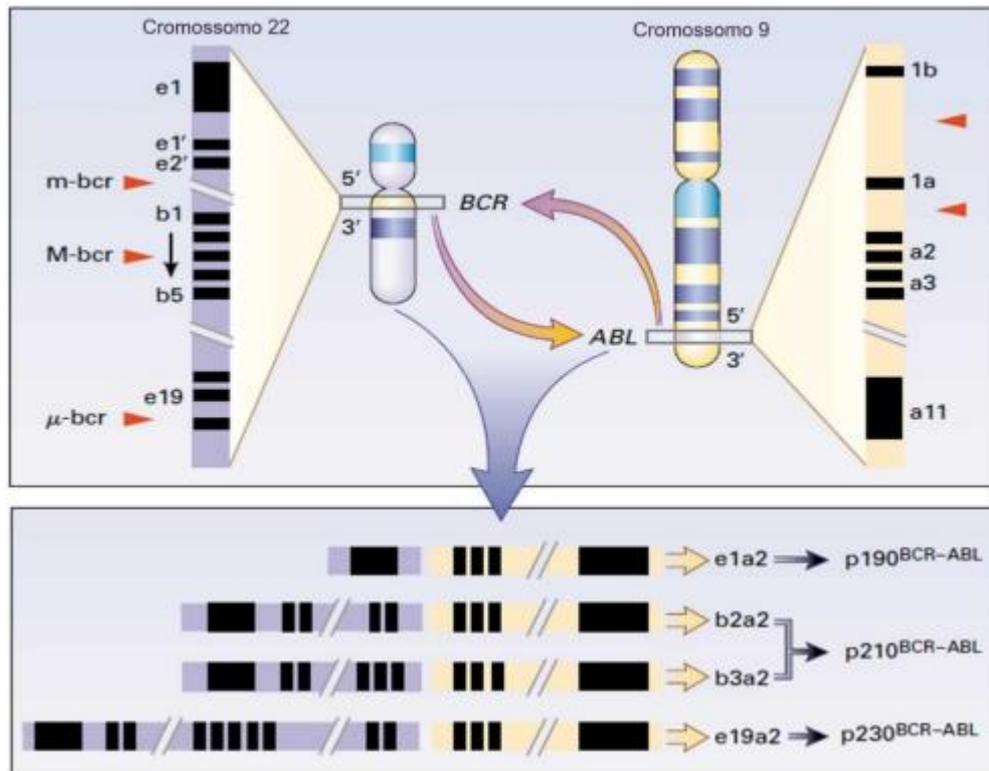


mantem inalterada a partir da ligação intramolecular da região N-terminal *cap* do exon 1b e 1a e pela primeira parte do exon a2. Na proteína de fusão BCR-ABL p210 a ausência da região *cap* ABL e de um domínio de dimerização codificado pelo primeiro exon do BCR, resultará na transdução de sinal anormal. (VASCONCELOS, 2012).

As proteínas tirosina quinases (PTKs) e suas vias de sinalização são alvos comuns de mutações oncogênicas, e seus papéis na atividade mitótica e na redução de apoptose são finamente regulados em células normais. No entanto, em células mutantes ou células modificadas estruturalmente, as PTKs são hiper ativadas e tornam-se oncoproteína que promovem a transformação celular (DORFMAN *et al.*, 2018).

O gene híbrido BCR-ABL é responsável pela produção de uma PTK com alta taxa de atividade, e a hiperatividade desta oncoproteína favorece a liberação de efetores da proliferação celular e inibidores de apoptose, induzindo os processos iniciais da oncogênese e o aumento da fosforilação de substratos específicos que promovem distúrbios nos processos de crescimento, diferenciação celular e reparo do DNA (VIEIRA, 2016). Além disso, as células que se apresentam positivas para o cromossomo Ph são mais instáveis e propensas ao desenvolvimento de anomalias genéticas (DORFMAN *et al.*, 2018).

Figura 3. Translocação recíproca entre os cromossomos 9, 22 na leucemia mieloide crônica



Fonte: DORFMAN *et al.*, 2018. Legenda: Região menor do gene BCR (m-bcr); Região maior do gene BCR (M-bcr); Região micro do gene BCR (μ -bcr); Abelson Leukemia virus (ABL); Breakpoint Cluster Region (BCR).

Os diferentes pontos de quebra do gene *Breakpoint Cluster Region* (BCR), a depender do *loci* utilizado, permitem produzir transcrições de tamanhos diferentes que podem originar diversos produtos quiméricos, dentre eles, as proteínas p190, p210 e p230, responsáveis pela diferenciação dos fenótipos leucêmicos (LAGO e PETRONI, 2017).

Por outro lado, a atividade molecular do oncogene *Abelson Leukemia Virus* (ABL) está associado a tradução da proteína p145, também responsável pela regulação da atividade da tirosino quinase. Os fenótipos leucêmicos formados pelos pontos de quebra ou ponto de fusão do gene BCR-ABL são caracterizados pela junção em três *locis* distintos, sendo eles a região de agrupamento de ponto de ruptura principal (M-bcr), região de agrupamento de ponto de quebra menor (m-bcr) e região de agrupamento de micro ruptura (u-bcr). O fenótipo maligno da LMC está relacionado



ao ponto de quebra do M-bcr, pois se encontra na parte central do gene BCR e forma os transcritos e14a2 ou e13a2 traduzindo a proteína 210kDa ou p210, induzindo o processo de mieloproliferação e aumento da atividade quinásica. Assim como, o m-bcr está associado à produção dos transcritos do transcrito e1a2 que levam à formação da 190kDa ou p190 presente em casos de leucemia linfóide aguda (LLA Ph+) ou coexpressa em baixos níveis com a p210. Por fim, o *loci* u-bcr está envolvido com a tradução da 230kDa ou p230 apresentando a forma mais branda para a formação do gene-BCR (LAGO e PETRONI, 2017).

AS VARIAÇÕES DO CROMOSSOMO PH NA ANÁLISE CITOGENÉTICA

Tradicionalmente, a LMC é classificada pela presença do cromossomo Philadelphia (Ph+), presente na grande maioria dos pacientes. Contudo, em alguns casos mais raros a doença pode-se apresentar com a falta do cromossomo Philadelphia (Ph-), considerada como LMC atípica, com características patológicas diferentes da LMC clássica (DORFMAN *et al.*, 2018). Pacientes com Ph+ também podem apresentar outras alterações genéticas, classificadas em Ph clássico e variante.

A partir dessas diferenciações, o profissional da saúde pode indicar um tratamento mais assertivo e fazer um monitoramento adequado da evolução da doença considerando a diversidade de resposta do organismo de cada paciente.

Segundo Maria de Lourdes L. F. Chauffaile, o Ph Clássico se dá pela translocação entre os cromossomos 9 e 22. Sua presença é notada em 90% dos quadros típicos de LMC. O Ph variante ocorre em menor frequência atingindo em média 5% a 10% dos casos nomeados como simples onde há o envolvimento de uma única alteração cromossômica além dos cromossomos 9 e 22 e complexo onde há o envolvimento de duas ou mais alterações cromossômicas além dos cromossomos 9 e 22.

DIAGNÓSTICO E EXAMES

Dentre os exames citogenéticos recomendados para a detecção de alterações cromossômicas, o cariótipo por banda G é o principal método para avaliar a translocação dos cromossomos Ph na medula óssea. O teste consiste em analisar



cromossomos interrompidos em metáfase e identificar pares de cromossomos a partir de características morfológicas, estruturais, numéricas, presença de bandas equilibradas ou não equilibradas dos cromossomos por meio do bandeamento G (REIS, 2017). Além disso, a citogenética convencional é importante na detecção de outras anormalidades citogenéticas, principalmente se ocorrer evolução clonal de Ph+ ou clones de Ph- durante o tratamento, que em casos raros pode evoluir para sintomas de síndromes mielodisplásicas ou leucemia mieloide aguda.

Outra metodologia muito utilizada para diagnóstico é o PCR em Tempo Real (Real Time - PCR), este tem como função avaliar periodicamente a existência de possíveis novos fenômenos associados ao cromossomo Ph, como a evolução clonal da doença ou o surgimento de novas alterações, também é uma técnica muito útil no acompanhamento da doença residual mínima. Recomendado para quantificação de transcrição e monitoramento do tratamento das NMP's, a qPCR é uma técnica de biologia molecular que quantifica DNA e RNA, determinando valores durante a fase exponencial da reação. Esta técnica produz resultados com maior sensibilidade, reprodutibilidade, precisão, rapidez de análise, facilidade de quantificação, melhor controle de qualidade do processo e menor risco de contaminação (REIS, 2017).

A partir da amplificação e do uso de primers ou sondas com fluorocromo são ligadas a uma fita complementar alvo e a fluorescência produzida é monitorada em tempo real através de um termociclador, sendo possível medir a quantidade de cDNA ou RNAm de uma amostra, possibilitando detectar uma célula doente em até 10^5 células saudáveis (REIS, 2017) e (BONFIM, 2022).

A hibridização fluorescente in situ (FISH) é usada para detectar o rearranjo BCR-ABL a partir do uso de sondas marcadas com fluorocromo em fragmentos de sequência de DNA. Há uma diversidade de tipos de sondas com características específicas para objetivos diferentes, no caso da LMC a metodologia utilizada baseia-se no uso de sondas locus-específicas e de diferentes cores para marcar as regiões pesquisadas (SANCHEZ; AGUILAR; MOLEÓN, 2016). Esta técnica é vantajosa pois obtêm-se o material a partir de sangue periférico, reduzindo desconforto ao paciente, é um método com resultado mais sensível, específico e rápido.

A utilização de FISH e PCR são as primeiras alternativas para casos em que o cariótipo não apresenta alterações visíveis, mas ainda há uma suspeita de LMC. Em situações de fibrose medular a análise citogenética é comprometida, pois o material



para análise não pode ser utilizado, dessa forma, se tornam a opção mais indicada. Estes métodos têm papel fundamental no diagnóstico inicial da doença e na identificação da remissão da LMC. Também é utilizado para diagnóstico diferencial entre as NMP's (SANTOS *et al.*, 2019).

Outras metodologias utilizadas no diagnóstico podem ser o Micro-Array e o SNP (polimorfismo de nucleotídeo único). O Micro-Array tem como função a análise genômica comparativa entre um DNA de referência (normal) e um DNA neoplásico a partir da alteração de cópias, tal diferença resulta em uma alteração na fluorescência utilizada nesta análise. Usando este método analítico, resultados altamente específicos podem ser obtidos e artefatos podem ser excluídos (SILVA, 2016)

O SNP possui o mesmo princípio do Micro-Array, a análise comparativa. Todavia, neste não se faz necessário o uso de um DNA referencial. O teste é feito utilizando somente um *loci* genômico para se fazer o comparativo do número de cópias e genótipo com a utilização de sondas polimórficas para definir a genotipagem e sondas não polimórficas para a determinação do número de cópias (SILVA, 2016).

IMPORTÂNCIA DA ANÁLISE CITOGENÉTICA NO SUS

De acordo com Carla Maria Bomquinpani, os pacientes devem ter acesso a esse tipo de análise, pois a progressão da doença diminuiria, acarretando economia nos custos de tratamentos paliativos em fases mais avançadas da doença a longo prazo, podendo gerar assim um auto pagamento pelas análises feitas e , por fim, ao obter-se um diagnóstico afirmativo, o paciente poderá deixar de recorrer a drogas de baixa especificidade e não será mais obrigado a pagar por este tipo de teste para ter a chance de melhor qualidade de vida.

Ainda, segundo Elizabeth Artman, há grandes possibilidades de crescimento no setor de análises citogenéticas na rede pública, tendo em vista que o IFF (Instituto Fernandes Figueira, ligado a Fundação Oswaldo Cruz, localizado no Rio de Janeiro) se tornou, recentemente, apto para fazer tais diagnósticos.

Os grandes desafios se dão pelo déficit de mão de obra qualificada e preparada para atender a este e outros pacientes com doenças de ordem genética e pela necessidade de aumento de investimento em tecnologia e equipamentos específicos para análises citogenéticas. Com isso, compreende-se que inclusão de estudos e



testes citogenéticos e moleculares na rede pública de saúde irá impactar positivamente no estudo e diagnóstico da LMC.

CONCLUSÃO

A partir da reunião de informações acerca das análises citogenéticas e moleculares em quadros de LMC, observou-se que a citogenética convencional e molecular é essencial para o prognóstico e diagnóstico assertivo da leucemia mieloide crônica e diferenciação de outras neoplasias mieloproliferativas. Uma vez que o diagnóstico do paciente se torna totalmente esclarecido conseqüentemente o tratamento também será e específico para o quadro da doença garantindo uma melhoria na qualidade de vida e sobrevida do paciente.

Também foi possível observar que a oferta dos exames citogenéticos e moleculares pelo setor público de saúde é escasso, dificultando um possível diagnóstico precoce da população carente que pode ser acometida pela doença. Como efeito disso, a descoberta se torna tardia impossibilitando um tratamento adequado que pode levar à óbito contribuindo com o número de mortes crescente das doenças onco-hematológicas no país. Frente ao envelhecimento progressivo da população associado a incidência de faixa etária da doença, o investimento massivo para detecção precoce da LMC pela saúde pública se faz necessário.

REFERÊNCIAS

1. BORTOLHEIRO, T. C. e CHIATTONE, C. S. Leucemia Mielóide Crônica: história natural e classificação. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [online]. 2008, v. 30, suppl, pp. 3-7. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-84842008000700003>>. Epub 09 Dez 2008. ISSN 1806-0870. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842008000700003>. Acessado em 23 de Maio de 2022.
2. BOMQUIPANI, C. M. *et al.* Inclusion of molecular monitoring (BCR-ABL1) in the treatment of chronic myeloid leukemia in the Brazilian Public Health System (SUS): an urgent need for treatment management. Hematology, Transfusion



- and Cell Therapy [online]. 2021, v. 43, n. 1, pp. 50-57. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.02.002>>. Epub 26 Mar 2021. ISSN 2531-1387. <https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.02.002>. Acesso em: 27 de Abril de 2022.
3. BONFIM, A. C. S *et al.* The role of cytogenetics and molecular biology in the diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia, Brazilian Journal of Health Review v. 5, n. 2, p. 5153–5164, 2022. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/45552>>. Acesso em: 15 maio 2022.
 4. CUNHA, A. B. G. **Leucemia mieloide crônica**. Monografia (Mestrado em Análises Clínicas), Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Porto, p. 206. 2018.
 5. CHAUFFAILLE, M. D. L. L. F. Neoplasias mieloproliferativas: revisão dos critérios diagnósticos e dos aspectos clínicos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**; 2010, v. 32, n. 4, pp. 308-316. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000091>>. Epub 20 Ago 2010. ISSN 1806-0870. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000091>. Acesso em 20, set embro de 2021.
 6. DOMINGUEZ, R. G. S *et al.* Morbimortalidade por doenças oncohematológicas no Brasil entre 2002 e 2016. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 12, n. 10, p. e3795, 13 ago. 2020. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/3795>. Acesso em 12 de Setembro de 2021.
 7. DORFMAN, L. E. *et al.* The role of cytogenetics and molecular biology in the diagnosis, treatment and monitoring of patients with chronic myeloid leukemia. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* [online]. 2018, v. 54, n. 2. pp. 83-91. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/1676-2444.20180015>>. ISSN 1678-4774. Acessado em 5 de Abril de 2022.
 8. FERREIRA, A. C. **Diagnóstico Laboratorial da Leucemia Linfóide Crônica**. Academia de Ciência e Tecnologia. Revisão de Literatura. São José do Rio Preto, SP, p.13, 2021. Disponível em: https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/serie_branca/leucemias_linfomas_mieloma/leucemias/TC



- C%20Ana%20Carolina%20Ferreira%20-%20Hematologia%20-%20Serie%20Branca%20-%20Leucemia,%20linfoma,%20mieloma%20-%20Leucemias.pdf. Acesso em 04 de Outubro de 2021.
9. FILHO, T. P. A. **Expressão e perfil mutacional do gene *BCR-ABL* em pacientes com leucemia mieloide crônica tratados como inibidores de tirosino quinase.** 2017. Tese (Doutorado). Programa de pós-graduação em Patologia, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/22533>. Acessado em: 07 de Novembro de 2021.
 10. GOMES, E. S. **Leucemia Mieloide Crônica: aspecto Clínico e diagnóstico laboratorial.** Academia de Ciência e Tecnologia De São José do Rio Preto-SP - 11ª Hematologia e Banco de Sangue. Itamogi, Minas Gerais, p. 8. 2020.
 11. INSTITUTO NACIONAL DO CANCER - INCA (Brasil). **Brasil terá 625 mil novos casos de câncer a cada ano do triênio 2020-2022.** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/>. Acesso em: 8 set. 2021.
 12. LAGO e PETRONI. Fisiopatologia e Diagnóstico da leucemia mieloide crônica. **Revista Saúde UniToledo**, v. 1, n. 1, 2017. Disponível em: <http://www.ojs.toledo.br/index.php/saude/article/view/2442/107>. Acesso em 30 de março de 2022.
 13. LEITE, F. P *et al.* Uso da pcr em tempo real para confirmação da doença residual mínima em pacientes curados da leucemia mieloide crônica. IX EPCC - ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA UNICESUMAR. Nov. 2015 n. 9, p. 4-8, Maringá, PR. **Anais Eletrônicos**, Maringá, 2015. Disponível em: <https://rdu.unicesumar.edu.br/bitstream/123456789/2404/1/USO%20DA%20PCR%20EM%20TEMPO%20REAL%20PARA%20CONFIRMA%C3%87%C3%83O%20DA%20DOEN%C3%87A%20RESIDUAL%20M%C3%8DNIMA%20EM%20PACIENTES.pdf>. Acesso em: 1 out. 2021
 14. LIMA, M. F. S; MINETTO, R. D. C. Conhecimento de pacientes onco-hematológicos em tratamento quimioterápico sobre os cuidados para prevenção de infecções. **Com. Ciências Saúde**. Brasília, v 25, n.1, p.35-44, 2014. Disponível em:



- https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/periodicos/conhecimento_pacientes_onco.pdf
. Acesso em: 8 set. 2021.
15. MORAES, C. C. O. P. **Leucemia Mieloide Crônica a partir das anormalidades observadas no Hemograma** – Revisão de Literatura (Pós-graduação em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial) - Centro de Capacitação Profissional. Recife, p. 10-29.2018.
16. PEIXOTO, P. P. A. **Leucemia mielóide crônica: uma revisão de literatura.** Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. p. 13-53, dez./2017.
17. REIS, D. M. S. Aplicação das técnicas moleculares no diagnóstico das neoplasias mieloproliferativas. **Revi. Saúde e Biol.** Paraná. v.12, n.1, p.57- 65, jan./abr., 2017. Disponível em: <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/2224/971>. Acesso em: 06 de Abril de 2022.
18. REINATO, H. M.; MARTINI, G. T. Diagnóstico diferencial e atualização em relação ao tratamento da leucemia mielóide crônica: revisão da literatura especializada. **International Journal of Health Management**, v. 5, ed. nº 3, p. 11, ano 2019.
19. SANCHEZ, K. L; AGUILAR, H. L; MOLEÓN, V.R. Hibridación in situ fluorescente: herramienta en el diagnóstico de las hemopatías malignas. **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia**, v. 32, n. 1, p. 99–109, 2016. Disponível em: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892016000100009. Acesso em: Acesso em 02 de Abril de 2022.
20. SANTOS, M. M. F. S *et al.* Leucemia mielóide, aguda e crônica: diagnósticos e possíveis tratamentos, **Rev. Saúde em Foco**, ed. nº 11, p. 16, ano 2019. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/02/022_LEUCEMIA-MIELOIDE-AGUDA-E-CR%C3%94NICA-DIAGN%C3%93STICOS-E-POSS%C3%8DVEIS-TRATAMENTOS.pdf. Acesso em 02 de Novembro de 2021.
21. SILVA, F. B. **Uso do Single Nucleotide Polymorphism Array (SNP-A) na investigação de alterações citogenéticas em pacientes com síndromes mielodisplásicas.** 2016. Dissertação (Mestrado em Diferenciação Celular



- Normal e Neoplásica) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016. doi:10.11606/D.17.2017.tde-29032017-164341. Acesso em 06 de Abril de 2022.
22. SOSSELA, F. R; ZOPPAS, B. C. A; WEBER, L. P. Leucemia Mieloide Crônica: aspectos clínicos, diagnóstico e principais alterações observadas no hemograma - **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Caxias do Sul, vol.49,n.2,jan. 2017.Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/leucemia-mieloide-cronica-aspectos-clinicos-diagnostico-e-principais-alteracoes-observadas-no-hemograma/>. Acesso em: 12 de Setembro 2021.
23. VASCONCELOS, F. C. Analysis of the expression and activity of drug influx and efflux molecules in chronic myeloid leukemia cells. **Portal Regional da Biblioteca em Saúde**, 2012, p. 180–180, 2012. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1119938>. Acesso em 03 de Março de 2022.
24. VIEIRA, P. C. **Inibidores da tirosino quinase no tratamento da lmc: uma revisão de literatura**. Monografia (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal do Sergipe, Centro de Ciências Biológicas e Saúde, Sergipe. p32, 2016.
25. ZERBINI, N. C. M *et al.* Classificação dos tumores hematopoéticos e linfoides de acordo com a OMS: padronização da nomenclatura em língua portuguesa, 4ª edição. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial** [online]. 2011, v. 47, n. 6, pp. 643-648. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1676-24442011000600011>>. Epub 08 Fev 2012. ISSN 1678-4774. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442011000600011>. Acessado em 1 de Agosto de 2021.