



CENTRO UNIVERSITÁRIO PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS – UNIPAC

GABRIELA DA SILVA FERNANDES

**USO DA CITOGENÉTICA NO DIAGNÓSTICO DA LEUCEMIA
MIELOIDE CRÔNICA: associação entre técnicas moleculares de
rastreamento e monitoramento da doença**

Juiz de Fora
2023

GABRIELA DA SILVA FERNANDES

**USO DA CITOGENÉTICA NO DIAGNÓSTICO DA LEUCEMIA
MIELOIDE CRÔNICA: associação entre técnicas moleculares de
rastreamento e monitoramento da doença**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Banca Examinadora do
Centro Universitário Presidente
Antônio Carlos, como exigência parcial
para obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Dra. Carolina dos Santos
Fernandes da Silva

Juiz de Fora
2023

Gabriela Da Silva Fernandes

**USO DA CITOGENÉTICA NO DIAGNÓSTICO DA LEUCEMIA
MIELOIDE CRÔNICA: associação entre técnicas moleculares de
rastreamento e monitoramento da doença**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Carolina dos Santos Fernandes da Silva
Prof. Ms. Anna Marcella Neves Dias

USO DA CITOGENÉTICA NO DIAGNÓSTICO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA: associação entre técnicas moleculares de rastreio e monitoramento da doença

USE OF CYTOGENETICS IN THE DIAGNOSIS OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA: *association between molecular screening techniques and disease monitoring*

GABRIELA DA SILVA FERNANDES¹, CAROLINA DOS SANTOS FERNANDES DA SILVA².

Resumo

Introdução: A Leucemia Mieloide Crônica representa entre 15 e 20% de todos os casos de leucemias e corresponde a um distúrbio mieloproliferativo onde as células da medula óssea se reproduzem de forma descontrolada e anormal. **Objetivo:** Descrever a leucemia mieloide crônica e elucidar as técnicas de citogenética utilizadas no diagnóstico e monitoramento dos pacientes bem como sua associação com outras técnicas moleculares. **Métodos:** A pesquisa fundamentou-se na revisão de artigos científicos e de trabalhos publicados eletronicamente em diferentes bancos de dados. **Revisão de literatura:** A Leucemia mieloide crônica diferente de outras leucemias é caracterizada em 95% dos casos advindas de uma alteração cromossômica do tipo translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, com a formação de um cromossomo híbrido chamado de cromossomo Philadelphia, que por sua vez ao ser lido resulta na multiplicação desordenada de células da medula óssea e a atividade de tirosina quinase aumentada. O diagnóstico da doença consiste na verificação de alterações hematológicas, como o aumento de blastos circulantes, alterações fisiológicas compatíveis como a fisiopatologia das leucemias e principalmente neste caso pela alteração cromossômica, evidenciada pela técnica de citogenética. A análise do cariótipo desempenha um papel crucial na determinação da abordagem terapêutica desta leucemia e sua associação com outras técnicas moleculares vem aumentando a precisão de detecção e controle da evolução da doença. **Considerações finais:** A leucemia mieloide crônica é uma importante neoplasia e se destaca entre as demais leucemias por ter como causa da proliferação celular uma alteração cromossômica do tipo t(9;22) (q34;q11). E tanto no diagnóstico como na evolução da doença as técnicas de citogenéticas tradicionais e/ou associadas a demais técnicas moleculares tem-se mostrado uma ferramenta de monitoramento significativa na evolução desta doença.

Descritores: Leucemia mieloide crônica. Cromossomo Philadelphia. Citogenética. Gene BCR-ABL. Diagnóstico molecular.

Abstract

¹ Acadêmica do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Presidente Antônio Carlos – UNIPAC – Juiz de Fora – MG

² Bióloga, Professora do Centro Universitário Presidente Antônio Carlos – UNIPAC, doutorado

Introduction: Chronic Myeloid Leukemia represents between 15 and 20% of all leukemia cases and corresponds to a myeloproliferative disorder where bone marrow cells reproduce in an uncontrolled and abnormal way. **Objective:** to describe chronic myeloid leukemia and elucidate the cytogenetic techniques used in the diagnosis and monitoring of patients, as well as their association with other molecular techniques. **Methods:** the research was based on the review of scientific articles and works published electronically in different databases. **Literature review:** Chronic myeloid leukemia, different from other leukemias, is characterized in 95% of cases resulting from a chromosomal alteration of the reciprocal translocation type between chromosomes 9 and 22, with the formation of a hybrid chromosome called the Philadelphia chromosome, which in turn Once read, it results in disordered multiplication of bone marrow cells and increased tyrosine kinase activity. The diagnosis of the disease consists of checking hematological changes, such as an increase in circulating blasts, physiological changes compatible with the pathophysiology of leukemias and mainly in this case by chromosomal changes, evidenced by the cytogenetic technique. Karyotype analysis plays a crucial role in determining the therapeutic approach to this leukemia and its association with other molecular techniques has increased the accuracy of detection and control of the disease's evolution. **Final considerations:** Chronic myeloid leukemia is an important neoplasm and stands out among other leukemias because its cause of cell proliferation is a chromosomal alteration of type (t9:22) (q34;q11). And both in the diagnosis and in the evolution of the disease, traditional cytogenetic techniques and/or or associated with other molecular techniques, has proven to be a significant monitoring tool in the evolution of this disease.

Keywords: Chronic myeloid leucemia. Philadelphia chromosome. Cytogenetics. BCR-ABL gene. Molecular diagnosis.

INTRODUÇÃO

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é um distúrbio mieloproliferativo crônico de natureza clonal, no qual as células sanguíneas da medula óssea se reproduzem de forma anormal e descontrolada. É caracterizada pela presença do cromossomo Philadelphia (Ph) positivo em cerca de 95% dos pacientes, que é resultado de uma translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22.¹ A junção atípica entre os cromossomos 9 e 22, identificada como translocação t(9;22) (q34;q11), resulta na fusão dos genes BCR e ABL. O gene BCR, localizado no cromossomo 22, é responsável pela codificação de uma proteína envolvida no controle da fase do ciclo celular. Por outro lado, o oncogene ABL, encontrado no cromossomo 9, é responsável pela codificação de uma proteína tirosina quinase. Esse rearranjo cromossômico produz uma proteína híbrida chamada BCR-ABL, que possui atividade de tirosina quinase aumentada. Essa proteína é encontrada em todos os pacientes com LMC e desempenha um papel crucial na patogênese da LMC, sendo considerada um fator chave na iniciação da oncogênese da doença, pois estimula a proliferação das células cancerosas e impede a apoptose.¹ A

conversão da célula progenitora hematopoiética normal em uma célula maligna é direcionada pelo oncogene BCR-ABL o qual é responsável por uma complexa sequência de processos moleculares. Como resultado, a célula leucêmica com translocação BCR-ABL exibe uma proliferação mieloide constante.²

Na LMC, foi descoberta a primeira evidência de uma anomalia genética como a causa principal do surgimento da neoplasia. No ano de 1960, os pesquisadores Nowell e Hungerford identificaram o cromossomo Philadelphia (Ph) como um marcador citogenético característico da doença. Em um momento posterior, em 1973, Rowley apresentou uma descrição de que o cromossomo Ph era resultado de uma troca recíproca entre os cromossomos 9 e 22, representada pela fórmula $t(9;22)(q34;q11)$, a qual é considerada a base genética fundamental da LMC. A formação do gene híbrido BCR-ABL, como resultado da translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, é um passo crítico na patogênese da LMC. A oncoproteína, codificada pelo gene de fusão, desempenha uma função primária na progressão da doença, tornando-se uma condição indispensável para o desenvolvimento da neoplasia.³

A LMC é responsável por uma proporção considerável de todos os casos de leucemia, correspondendo a cerca de 15 a 20% dos diagnósticos. Em países ocidentais, a ocorrência da doença é estimada em 1,5 casos a cada 100.000 habitantes por ano. Ela tende a se manifestar em indivíduos com idade entre 45 a 55 anos.⁵

A evolução desta doença pode ser dividida em três estágios, com base na quantidade de blastos encontrados tanto no sangue como na medula óssea: Fase Crônica, Fase Acelerada e Crise Blástica. O diagnóstico é estabelecido por meio de análises citogenéticas, hematológicas e clínicas realizadas em amostras de sangue periférico circulante e medula óssea. A detecção do cromossomo Philadelphia (Ph) é um importante marcador molecular na investigação da LMC, e pode ser realizada através de análises citogenéticas convencionais ou moleculares. Esses métodos são fundamentais para identificar a presença da anomalia genética característica da doença, e para estabelecer o diagnóstico correto e a escolha do tratamento mais adequado para o paciente.⁶

Dentro deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo abordar sobre a leucemia mieloide crônica e elucidar as técnicas de citogenéticas utilizadas no diagnóstico e monitoramento dos pacientes acometidos por essa doença bem como sua associação com outras técnicas moleculares.

MÉTODOS

Foi realizado um estudo de revisão bibliográfica narrativa e análise crítica de trabalhos pesquisados eletronicamente por meio do banco de dados como o Scielo, Google Acadêmico, Pub Med, utilizando os seguintes descritores: leucemia mieloide crônica, cromossomo Philadelphia, citogenética, gene BCR-ABL e diagnóstico molecular, publicados no período de 2000 à 2018.

GENÉTICA

O evento primordial que desencadeia a LMC envolve uma troca recíproca de material genético entre os cromossomos 9 e 22, denominada t(9;22) (q34;q11), que ocorre dentro de uma célula progenitora do sistema hematopoiético, resultando na formação do oncogene BCR-ABL. Conseqüentemente, a proteína gerada por esse evento apresenta uma atividade de tirosina quinase elevada, que tem o potencial de desencadear uma condição maligna e, isso se dá através da ativação de diversas vias de sinalização tanto no citoplasma quanto no núcleo, exercendo influência no desenvolvimento e na sobrevivência das células tronco hematopoiéticas.⁷

O gene quimérico BCR-ABL surge devido à quebra do gene BCR em uma localização conhecida como maior (M-bcr). Essa quebra também pode acontecer em dois outros lugares, denominados m-BCR e μ -BCR. A transcrição desse gene resulta na formação de moléculas de RNA mensageiro quimérico e, dessa forma, as fusões entre as sequências do BCR e do ABL são indicadas pela combinação dos exons b3a2 ou b2a2.⁸ Esse rearranjo resulta na formação de proteínas híbridas no citoplasma, incluindo a p210, que tem a capacidade de controlar a atividade da tirosina quinase, e essa ativação ocorre quando os genes se fundem desempenhando um papel crucial na manifestação clínica da neoplasia. Quando ocorre a transformação maligna, a proteína p210 demonstra a capacidade de ativar-se automaticamente, influenciando a transmissão de sinais em processos celulares fundamentais, como o crescimento, adesão e morte celular programada.⁹

As proteínas quinases representam enzimas com a habilidade de orquestrar uma variedade de eventos celulares, incluindo o controle do crescimento e da diferenciação celular. Durante a translocação, ocorre a perda da região do gene ABL que normalmente é responsável por regular o domínio. A combinação da sequência do BCR desencadeia

a ativação da tirosina quinase no domínio SH1, e esse domínio desempenha um papel essencial na indução da oncogênese.⁵

LMC E CITOGENÉTICA

A citogenética é o campo da genética que se dedica à investigação dos cromossomos, explorando sua função, estrutura e comportamento tanto em contextos biológicos quanto patológicos. Essa área subdivide-se em dois ramos: a citogenética clássica e a citogenética molecular. A abordagem clássica da citogenética se concentra no estudo dos cromossomos durante a divisão celular, particularmente na metáfase da mitose, na qual os cromossomos atingem sua máxima condensação. Por vez, a citogenética molecular não requer divisão celular, uma vez que se baseia na análise do material genético como um todo, isto é, a análise do DNA.¹⁰

Dessa forma a citogenética desempenha um papel essencial na avaliação, previsão de evolução e abordagem terapêutica das neoplasias, como a LMC. A compreensão dessa patologia emergiu paralelamente ao avanço das técnicas de análise em citogenética humana. A LMC sobressaiu-se como a pioneira entre as anormalidades cromossômicas frequentemente ligadas ao câncer, apresentando o marcador cromossômico conhecido como Cromossomo Philadelphia (Ph). No ano de 1960, os pesquisadores Nowell e Hungerford conseguiram identificar um minúsculo cromossomo que ocorria em elevada frequência nas células de pacientes diagnosticados com LMC. Notavelmente, as células leucêmicas mantinham um número normal de cromossomos, porém um deles se destacava por ser significativamente menor em relação aos demais.¹¹

Por vários anos, a compreensão predominante era que a formação do cromossomo Ph decorria da perda de material genético, especificamente, deleção de ácido desoxirribonucleico (DNA). No entanto, uma reviravolta significativa aconteceu com a introdução da técnica de bandamento cromossômico. Em 1973, Janet Rowley revelou uma descoberta inovadora: o cromossomo Ph não era resultado de simples deleção, mas sim de uma translocação recíproca que ocorria entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22. Nesse processo, uma extensa porção do cromossomo 22 migrava para o cromossomo 9, enquanto uma pequena fração do cromossomo 9 se deslocava para o cromossomo 22, isso culminava na redução do tamanho do cromossomo Ph em comparação com o cromossomo 22 normal.¹²

Os segmentos genéticos do BCR e do ABL se uniram para formar um cromossomo 22 quimérico, conhecido como Ph. A fusão desses genes gerou um novo gene híbrido chamado BCR-ABL, que produz uma proteína quimérica com potencial cancerígeno. Conseqüentemente, isso leva a um aumento na atividade da tirosina quinase, estimulando a multiplicação celular, promovendo a transformação maligna de granulócitos e linfócitos em estágios iniciais e inibindo o processo de apoptose. Adicionalmente, essas mudanças também impactam a diferenciação das células-tronco e a reparação do DNA.¹³ As células que apresentam o cromossomo Ph exibem uma instabilidade genética que as torna suscetíveis ao desenvolvimento de diversas anormalidades no genoma. Isso, por sua vez, contribui para a transição da fase crônica (FC) para a fase acelerada (FA) e, eventualmente, para a fase blástica, também conhecida como crise blástica (CB).¹⁴

Com o passar do tempo, as técnicas citogenéticas e as inovações em biologia molecular passaram por aprimoramentos substanciais. Abordagens como análise cariotípica com bandamento G, hibridização in situ por fluorescência (FISH), cariótipo espectral (SKY), reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR) e PCR quantitativa em tempo real (RQ-PCR) foram refinadas e atualmente são empregadas tanto na investigação clínica quanto no diagnóstico de pacientes que enfrentam o câncer em progresso.¹⁵ Através dessas metodologias avançadas, tornou-se viável uma análise minuciosa dos cromossomos, ultrapassando os limites de resolução da tradicional citogenética, que só identifica anormalidades de dimensões superiores a 5 megabases, dependendo do local do cromossomo que está sendo analisado. Desta maneira, abriu caminho para a detecção de novas alterações cromossômicas associadas a diversos tipos de leucemias, frequentemente envolvendo mudanças de natureza complexa.¹⁶

ANÁLISE CROMOSSÔMICA ASSOCIADA A ESTUDO MOLECULAR

Tradicionalmente, o procedimento envolve o cultivo de células da medula óssea do paciente com LMC por um período de 24 a 48 horas, visando à análise cromossômica. A seguir, uma substância chamada colchicina é adicionada, essa substância evita a formação dos fusos acromáticos, mantendo as células em um estágio conhecido como metáfase, no qual os cromossomos estão altamente condensados. As células são submetidas a um processo de choque hipotônico utilizando cloreto de potássio e depois

são tratadas com uma solução fixadora composta por ácido acético e metanol. O material resultante, é então colocado em lâminas de vidro e submetido a coloração convencional, empregando uma técnica de bandamento cromossômico que utiliza o corante Giemsa.¹⁷

Os conjuntos de cromossomos adquirem uma marcação distinta, revelando faixas claras e escuras, conhecidas como bandas G. Isso permite a identificação individualizada dos cromossomos, tornando esse método o mais amplamente empregado nas técnicas de citogenética. Realizando uma análise minuciosa de no mínimo 20 metáfases, com uma inspeção cuidadosa da lâmina e a seleção das células mais representativas, a identificação de pelo menos quatro cromossomos Ph + pode resultar em um diagnóstico afirmativo de LMC.⁶

Para além da translocação Ph t(9;22), é possível identificar outras anormalidades cromossômicas por meio da técnica de bandamento cromossômico. A aplicação da hibridização in situ com fluorescência (FISH) e da reação em cadeia da polimerase (PCR) permite a detecção de variantes incomuns de BCR-ABL e locais de quebra que muitas vezes escapam à detecção da citogenética clássica, pois oferecem maior precisão e sensibilidade. Esses métodos se destacam por sua sensibilidade ampliada e desempenham um papel fundamental não apenas na identificação da doença e na avaliação da eficácia do tratamento, mas também na distinção entre outras condições mieloproliferativas. Em situações em que a citogenética convencional não consegue detectar o cromossomo Ph, a FISH é recomendada como uma ferramenta diagnóstica.¹⁸ Esse método de FISH se apoia na utilização de sondas que são marcadas com um corante fluorescente. Essas sondas consistem em sequências de bases que são perfeitamente complementares ao DNA contendo genes específicos que servem como alvo. A característica notável dessa técnica é sua capacidade de detecção de translocações em várias partes de qualquer cromossomo, abrangendo tanto o braço curto quanto o braço longo, e até mesmo a região central do cromossomo.¹⁹

A SKY, técnica de cariotipagem espectral, é utilizada quando o cariótipo tradicional e o FISH não são suficientes. O método emprega corantes fluorescentes para se acoplar a áreas particulares nos cromossomos e evidenciá-lo de forma que cada cromossomo apresente-se com um padrão de coloração única e exclusiva.¹⁹

A detecção de doença residual mínima (DRM) é o procedimento realizado após o transplante de medula óssea e é preferencialmente realizada por meio de técnicas mais sensíveis, como a PCR quantitativa em tempo real (RQ-PCR) e a PCR com transcrição reversa (RT-PCR). Essas abordagens destacam-se por sua capacidade de identificar

precocemente a recorrência da doença e por serem mais apropriadas para avaliar a eficácia do tratamento em comparação com os métodos convencionais.¹⁸

A RT-PCR qualitativa, que verifica se há ou não transcritos BCR-ABL, surgiu no final dos anos 1980, mas já em 1992, foi substituída por uma PCR quantitativa (RQ-PCR), oferecendo dados consideravelmente mais precisos sobre os níveis da DRM. A metodologia RQ-PCR quantifica o total de cópias de mRNA resultantes da expressão da proteína p210 do gene BCR-ABL em amostras individuais. Este procedimento se destaca por sua rapidez na realização e por proporcionar resultados altamente consistentes em termos de reprodutibilidade. A técnica RQ-PCR se fundamenta na utilização de sondas fluorescentes que possuem sequências particulares capazes de se ligar à sequência alvo, resultando na emissão de um sinal luminescente. O sistema possibilita estabelecer uma relação entre a potência do sinal e a quantidade do produto amplificado, resultando em um aprimoramento na precisão e na exatidão dos resultados.²⁰

Dentro das principais tecnologias da PCR em tempo real, destaca-se o sistema conhecido como SYBR Green. O SYBR Green é um corante que se adere à dupla hélice de DNA, e à medida que os ciclos da PCR se sucedem, a quantidade de fita dupla de DNA aumenta de forma exponencial, resultando em um aumento correspondente na quantidade de SYBR Green associado e, como resultado, na intensidade da fluorescência liberada. Assim, a medição dos transcritos de BCR-ABL possibilita um acompanhamento eficaz da progressão e sucesso do tratamento, permitindo a detecção de alterações que possam indicar uma provável recorrência da doença.²⁰

ESTÁGIOS DA LMC

A neoplasia pode ser dividida em três fases distintas: Fase Crônica, Fase Acelerada e Fase Blástica. A fase crônica é a primeira delas e acomete a maioria dos pacientes, durando cerca de 3 a 6 anos. Nessa fase, os sintomas são relativamente brandos e os pacientes respondem bem ao tratamento. Além disso, é comum que haja uma presença reduzida de blastos no sangue e na medula, geralmente inferior a 5%. Cerca de 90% dos pacientes são diagnosticados nesta fase, sendo que 15% a 20% deles, apresentam-se assintomáticos no momento do diagnóstico. À medida que a LMC avança, há uma fase intermediária ou acelerada que pode durar entre 6 e 18 meses, onde ocorrem mudanças significativas nos sinais clínicos e biológicos. O tratamento torna-se menos eficaz e surgem sintomas mais gerais, como anemia, trombocitopenia,

basofilia periférica maior que 20%. Ademais, há um aumento no número de células imaturas, como os blastos e promielócitos, no sangue e/ou na medula óssea, chegando a representar 10 a 20% das células.^{3,4}

A última fase da LMC, conhecida como fase blástica ou crise, tem uma duração média de 2 a 6 meses. Durante esta fase, as células cancerosas se proliferam de forma descontrolada e invadem outros tecidos além da medula óssea, o que é conhecido como infiltração blástica extramedular. Mais de 20% das células na medula óssea ou no sangue periférico são blastos, o que leva a um perfil clínico semelhante ao da leucemia aguda. Infelizmente, a quimioterapia é menos eficaz nesta fase e a resistência ao tratamento é comum. Geralmente, a progressão da LMC é gradual, passando da fase crônica para a fase acelerada e, eventualmente, para a fase blástica. No entanto, há casos em que a doença pode evoluir aceleradamente da fase crônica para a crise blástica, e esse modelo de progressão que ocorre sem uma fase anterior de aceleração é o mais comum, sendo observado em cerca de 60% dos pacientes.⁴ Os resultados clínicos, hematológicos e citogenéticos obtidos a partir da análise do sangue periférico e medula óssea são utilizados para realizar o diagnóstico. Fatores de risco para LMC incluem idade, sendo maior risco com o envelhecimento e exposição à radiação, especialmente em situações de altas doses, como acidentes nucleares ou tratamentos com radioterapia. No entanto, a maioria dos pacientes com LMC não teve exposição significativa à radiação.²

TERAPÊUTICA

No início do tratamento para LMC, os procedimentos iniciais envolvem o equilíbrio das condições do sangue e avaliação citogenética. A resposta hematológica envolve a diminuição do número absoluto de glóbulos brancos, a eliminação das células imaturas da linhagem mieloide da corrente sanguínea e a erradicação dos indícios e manifestações clínicas associados à doença. Já a resposta citogenética focaliza na diminuição ou erradicação das células que carregam o cromossomo Ph+.²²

O tratamento da LMC deu um salto significativo à frente com o advento dos inibidores da tirosina quinase, notavelmente o imatinibe. Este medicamento tem mostrado sua eficácia em uma grande parcela dos pacientes com LMC, resultando em respostas de longa duração. No entanto, é importante observar que existem pacientes que mostram resistência ao tratamento com esse medicamento, ou que a desenvolvem

ao longo do processo. Como resposta a essa situação, foram desenvolvidos inibidores de tirosina quinase de segunda geração, como o dasatinibe e o nilotinibe, que apresentam maior eficácia com o objetivo de reduzir a probabilidade de surgimento da resistência.²³

MONITORAMENTO

A terapia com TKIs (Inibidores de Tirosina Quinase) demanda a aplicação de técnicas precisas para acompanhar a eficácia dos medicamentos. A supervisão citogenética e molecular é valiosa na escolha da terapia com TKIs mais adequada e na melhoria do tratamento, sendo aconselhável para obter resultados confiáveis. Além disso, a eficácia dos TKIs é avaliada através de hemogramas, para determinar a resposta no aspecto hematológico. É necessário realizar uma monitorização da presença do cromossomo Ph por meio de estudos citogenéticos clássicos, a fim de alcançar uma resposta citogenética completa (RCC), ou por meio da avaliação dos níveis de transcritos do gene BCR-ABL utilizando a técnica de RQ-PCR para determinar uma resposta molecular (RM).²⁴

O controle citogenético pode ser empregado como parte do monitoramento regular de um paciente, e, caso ocorra falha no tratamento, pode ser considerada a possibilidade de alterar a terapia. A técnica de FISH só é uma alternativa viável à análise cromossômica quando não é possível obter células da medula óssea ou quando se busca determinar a remissão citogenética completa (CCyR). O monitoramento molecular é conduzido através de RQ-PCR em amostras de sangue a cada trimestre até que se alcance a resposta molecular principal, com continuação das verificações a cada 3 a 6 meses.²⁴

O acompanhamento das respostas citogenéticas e moleculares à terapêutica surgiu como um elemento crucial para alcançar êxito no manejo de uma condição crônica. O CCyR é estabelecido quando não se observa a presença de células Ph+ em no mínimo 20 células da medula óssea examinadas no estágio metastático. Pacientes que atingem uma remissão citogenética ou molecular rápida (dentro de 3 meses) e alcançam o estado de CCyR geralmente desfrutam de um prognóstico positivo, com uma taxa de sobrevida superior a 70% após 10 anos. A análise do cariótipo desempenha um papel crucial na determinação da terapia após a remissão, enquanto fatores moleculares orientarão o tratamento em pacientes com cariótipo normal. Embora um monitoramento

excessivo possa representar um ônus financeiro significativo, é importante considerar que a falha no tratamento pode levar a uma rápida progressão da doença ou até mesmo ao óbito do paciente.^{25,26}

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Leucemia mieloide crônica representa um importante quadro dentre as leucemias, sendo uma condição especial decorrente de uma alteração cromossômica entre os cromossomos 9 e 22, presente em 95% dos pacientes. Sendo assim, a citogenética vem se mostrando como uma das técnicas de diagnóstico mais utilizadas neste caso de leucemia, uma vez que avalia a estrutura do cromossomo com precisão. E sua associação com demais técnicas moleculares como FISH e PCR quantitativo tem mostrado uma correlação positiva pela maioria dos autores analisados aqui nesta revisão, tanto para a compreensão da evolução da doença como para avaliação da progressão da terapia medicamentosa e remissão pós transplante de medula.

REFERÊNCIAS

- 1-Bortolheiro TC, Chiattoni CS. Leucemia Mieloide Crônica: história natural e classificação. Rev Bras Hematol Hemoter. 2008; 30 (1): 3-7.
- 2-Bergabini AP, Castro FA, Souza AM, Fett-Conte AC. Leucemia mieloide crônica e o sistema Fas-fasL. Rev Bras Hematol Hemoter. 2005; 27(2):120-5.
- 3-Dorta MQ, Florido GP, DB Álvarez, Calero KC, Uría JC. Resultados citogenéticos em pacientes com leucemia mieloide crônica. Rev cubana med. 2011; 50(4): 341-7.
- 4-Valia PM, Porfirio HR, Gisela MA, Olga AL, Carlos JFJ, Jeny BR. Leucemia Mieloide Crônica: Atualização em Citogenética e Biologia Molecular. Rev Cubana Hematol Immunol Hemoter [periódico na internet]. 2005 [citado 2023 Jun 1]; 21(2). Disponível em: <http://ref.scielo.org/6krzw9>.
- 5-Frazer R, Irvine AE, McMullin MF. Leucemia mieloide crônica no século 21. Ulster Med J. 2007; 76(1): 8-17.
- 6-Montenegro VS, Santos VMVO, Veith M. Análise citogenética na leucemia mieloide crônica. Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba. 2008; 10(3): 5-12.
- 7- Kantarjian HM, Talpaz M, Giles F, O'Brien S, Cortes J. Novos conhecimentos sobre a fisiopatologia da leucemia mieloide crônica e da resistência ao imatinibe. Ann Intern Med. 2006; 145(12): 913-23.

- 8- Melo JV, Hughes TP, Apperley JF. Leucemia mieloide crônica. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2003; 2003(1): 132-52.
- 9- Kantarjian H, Melo JV, Tura S, Giralt S, Talpaz M. Chronic Myelogenous Leukemia: Disease Biology and Current and Future Therapeutic Strategies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2000; 2000(1): 90-109.
- 10-Chauffaille MLLF. Citogenética e biologia molecular em leucemia linfocítica crônica. *Rev. Bras. Hematol Hemoter*. 2005; 27(4): 247-52.
- 11-Hamerschlak N. Leucemia: fatores prognósticos e genética. *Jornal de pediatria*. 2008; 84(4): 52-7.
- 12-Rowley JD. Translocações cromossômicas: ligações perigosas revisitadas. *Nat Rev Câncer*. 2001; 1(3): 245-50.
- 13-Chung C. Omacetaxina para leucemia mieloide crônica do adulto resistente ou intolerante ao tratamento. *Sou J Saúde Syst Pharm*. 2014; 71(4): 279-88.
- 14- Baccarani M, Pileri S, Steegmann JL, Muller M, Soverini S, Dreyling M. Leucemia mieloide crônica: Diretrizes de prática clínica ESMO para diagnóstico, tratamento e acompanhamento. *Ana Oncol*. 2012; 23(7): 72-7.
- 15-Wan TS, Ma ES. Citogenética molecular: uma ferramenta indispensável para o diagnóstico do câncer. *Chang Gung Med J*. 2012; 35(2): 96-110.
- 16-Dorfman LE, Floriani MA, Oliveira TMRDR, Cunegatto B. O papel da citogenética e da biologia molecular no diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com LMC. *J. Bras. Patol. Laboratório*. 2018; 54(2): 83-91.
- 17-Trevisan P, Rosa RFM, Rosa RCM, Koshiyama DB, Paskulin GA, Zen PRG. Citogenética das leucemias: identificando anormalidades genéticas com significado clínico e prognóstico. *Br J Med Res*. 2014; 4(12): 2296-311.
- 18-Tantiworawit A, Kongjarern S, Rattarittamrong E. Diagnóstico e monitoramento da leucemia mieloide crônica: Experiência da Universidade de Chiang Mai. *Asiático Pac J Câncer Prev*. 2016; 17(4): 2159-64.
- 19- Fett-Conte AC, Vendrame-Goloni CB, Homsy CM, Borim LNB, Zola PA. Estudo cromossômico no sangue periférico de pacientes com diferentes tipos de leucemia do Hospital de Base, São José do Rio Preto SP. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2000; 22(3): 374-86.
- 20- Grando AC, Wagner SC. Avaliação laboratorial da doença residual mínima na leucemia mieloide crônica por Real-Time PCR. *J Bras Patol Med Lab*. 2008; 44(6): 433-40.
- 21-Arber DA, Orazi A, Hasserjian R. A revisão de 2016 da classificação da Organização Mundial da Saúde de neoplasias mieloides e leucemia aguda. *Sangue*. 2016; 127(20): 2391-406.

- 22- Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, Guilhot F, Schiffer C, Gambacorti-Passerini C. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med.* 2002; 346(9): 645-52.
- 23- Vedrame-Goloni CB, Carvalho-Salles AB, Ricci Junior O, Miguel CE, Fett-Conte AC. Análise do rearranjo BCR/ABL por bandamento GTG e FISH: comparação das frequências ao diagnóstico da LMC. *Arq Cienc Saude* 2006; 13(1):7-11.
- 24- Recomendações europeias da leucemia para o manejo da leucemia mieloide crônica. *Sangue.* 2013; 122(6): 872-84.
- 25- Hughes TP, Kaeda J, Branford S. Frequência das principais respostas moleculares ao imatinibe ou interferon alfa associado à citarabina na leucemia mieloide crônica recém-diagnosticada. *N Engl J Med.* 2003; 349(15): 1423-32.
- 26- Gambacorti-Passerini C, Brummendorf TM, Kim DW. Eficácia e segurança do bosutinibe na leucemia mieloide crônica de fase crônica após resistência ou intolerância ao imatinibe: seguimento mínimo de 24 meses. *Sou J Hematol.* 2014; 89(7): 732-42.