

CENTRO UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO-UNIBRA  
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ISABELA PATRICIA DE VASCONCELOS  
LIVIA MARTINS DE OLIVEIRA  
LUANA KAREN DA SILVA GONÇALVES

**A IMPORTÂNCIA DA CITOGENÉTICA E DA  
BIOLOGIA MOLECULAR NO DIAGNÓSTICO DA  
LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA**

RECIFE/2023

ISABELA PATRICIA DE VASCONCELOS  
LIVIA MARTINS DE OLIVEIRA  
LUANA KAREN DA SILVA GONÇALVES

**A IMPORTÂNCIA DA CITOGENÉTICA E DA  
BIOLOGIA MOLECULAR NO DIAGNÓSTICO DA  
LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentando á Disciplina TCC II do Curso de Bacharelado em Biomedicina do Centro Universitário Brasileiro-UNIBRA, como parte dos requisitos para conclusão do curso.

Orientador: Prof. Dr. Andriu dos Santos Catena

RECIFE/2023

Ficha catalográfica elaborada pela  
bibliotecária: Dayane Apolinário, CRB4- 2338/ O.

V331i Vasconcelos, Isabela Patricia de.  
A importância da citogenética e da biologia molecular no diagnóstico da leucemia mieloide crônica/ Isabela Patricia de Vasconcelos; Livia Martins de Oliveira; Luana Karen da Silva Gonçalves. - Recife: O Autor, 2023.  
31 p.

Orientador(a): Dr. Andriu dos Santos Catena.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA. Bacharelado em Biomedicina, 2023.

Inclui Referências.

1. Citogenética. 2. Leucemia mielóide crônica. 3. Diagnóstico molecular. I. Oliveira, Livia Martins de. II. Gonçalves, Luana Karen da Silva. III. Centro Universitário Brasileiro. - UNIBRA. IV. Título.

CDU: 616-071

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a Deus por ter nos dado a força e a sabedoria necessárias para completar este trabalho.

Além disso, gostaria de agradecer aos nossos familiares pelo amor incondicional, apoio e incentivo durante esses quatro anos de graduação e a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para o sucesso desta monografia, seja através de sua orientação e apoio emocional. Em especial, quero agradecer ao nosso orientador e Dr. Andriu Catena, que esteve ao nosso lado durante todo o processo, oferecendo palavras de incentivo e motivação, e nos ajudando a superar os desafios que surgiram ao longo do caminho.

Agradeço também aos colaboradores, que gentilmente dedicaram seu tempo e conhecimento para nos ajudar a melhorar este trabalho.

A banca de avaliadores Sem a ajuda de vocês, esta conquista não seria possível.

Muito obrigado por tudo!

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	11
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	11
<b>2.2 Objetivo específico</b> .....	11
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	12
<b>3.1 Etiologia e definição da Leucemia Mieloide Crônica</b> .....	12
3.1.1 Epidemiologia .....	14
3.1.2 Sintomatologia .....	16
<b>3.2 FASES DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA</b> .....	16
3.2.1 Fase crônica .....	17
3.2.2 Fase acelerada .....	18
3.2.3 Fase blástica .....	18
<b>3.4 EXAME DE ROTINA: HEMOGRAMA COM SUAS POSSÍVEIS ALTERAÇÕES</b> .....	19
<b>3.5 DIAGNÓSTICOS MOLECULARES E CITOGENÉTICOS</b> .....	21
3.5.1 Análise citogenética convencional por bandejamento G .....	22
3.5.2 Citogenética molecular: Hibridização in situ por fluorescência .....	23
3.5.3 Técnica de reação em cadeia polimerase PCR (RQPCR e RT-PCR) .....	24
3.5.4 Reação em Cadeia da Polimerase Digital de Gotículas .....	25
<b>4 DELINEAMENTO METODOLÓGICO</b> .....	27
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	29
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	36
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABL-	<i>Abelson Leukemia Vírus</i>
ABL1-	<i>Abelson murineleukemia viral oncogenehomolog1</i>
Anti -	Anticorpo
BCR-	<i>Breakpoint Cluster Region</i>
cDNA-	Ácido Desoxirribonucleico complementar
CE -	<i>Conformite Europeene</i>
CE -	Eritrócitos
CHCM -	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CP -	Contagem de plaquetas
CTHs-	Células tronco
CTL -	Contagem total de leucócitos
DEPC –	Água tratada com Dietilpirocarbonato
DNA -	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA -	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FISH -	Hibridação in situ por fluorescência
FISH-	Hibridização in situ por fluorescência FISH
FSC -	<i>Forwardscatter</i>
Hb -	Hemoglobina
HCM -	Hemoglobina corpuscular média
Ht -	Hematócrito
IFN- $\alpha$ -	Interferon- $\alpha$
ITK -	Inibidores de tirosina quinase
IVD -	Europa em vitro regulamentos de diagnósticos
KCL -	Cloreto de potássio
LDH -	Desidrogenase láctica LDH
LMC -	Leucemia mieloide crônica
M-bcr -	A maior quebra
m-bcr-	A quebra menor
MO -	Medula óssea
Ng -	Nanograma
p16 -	Gene supressor 16
p53 -	Gene supressor 53

Ph -	Cromossomo Philadelphia (Ph)
q -	Braço longo cromossômico
RT-qPCR-	Reação em cadeia da polimerase em tempo real
RDW-	<i>Redcell distribution width</i>
RM -	Resposta molecular
RNA -	Ácido ribonucleico
RNAm -	Ácido ribonucleico mensageiro
RTddPCR	Reação em Cadeia da Polimerase Digital de Gotículas de Transcriptase Reversa.
SSC -	<i>Sidescatter</i>
ST -	Sangue total
t-	Translocação
TRIzol-	<i>Amresco</i>
VCM -	Volume corpuscular médio
μ-bcr -	A quebra micro

## RESUMO

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa caracterizada por anormalidades cromossômicas, em particular, a translocação cromossômica (9;22), conhecida como cromossomo Philadelphia (Ph). Essa translocação gera o gene quimérico BCR-ABL1, que desregula as células pluripotentes na medula óssea, interrompendo as sinalizações das interleucinas, acarretando na produção excessiva de células imaturas e neoplásicas.

Portanto, esta análise tem como objetivo enfatizar a importância do principal marcador citogenético e molecular no diagnóstico preciso da Leucemia Mieloide Crônica sendo crucial para a conduta terapêutica e prognóstica. A pesquisa foi conduzida por meio de uma revisão bibliográfica, abrangendo a consulta às bases de dados Pubmed e BVS. Foram selecionados artigos em inglês, português e espanhol, publicados no período de 2018 a 2023.

Os dados compilados evidenciam de maneira inequívoca que o exame de hemograma, juntamente com as metodologias utilizadas nos testes citogenéticos e moleculares desempenham um papel crucial na detecção desta neoplasia, contribuindo de maneira significativa para um eficaz monitoramento e gerenciamento clínico.

Palavras chave: “cytogenetics”, “chronic myeloid leucemia”, “molecular diagnosis” e “chronic myeloid leucemia”.

## **ABSTRACT**

Chronic Myeloid Leukemia (CML) is a myeloproliferative neoplasm characterized by chromosomal abnormalities, particularly the chromosomal translocation (9;22), known as the Philadelphia chromosome (Ph). This translocation generates the BCR-ABL1 chimeric gene, which disrupts pluripotent cells in the bone marrow, interrupting interleukin signaling and leading to the excessive production of immature and neoplastic cells.

Therefore, the purpose of this analysis is to emphasize the importance of the primary cytogenetic and molecular marker in the accurate diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia, which is crucial for therapeutic and prognostic decisions. The research was conducted through a literature review, including consultation of the Pubmed and BVS databases. Articles in English, Portuguese, and Spanish published from 2018 to 2023 were selected.

The compiled data unequivocally highlight that the complete blood count examination, along with the methodologies used in cytogenetic and molecular tests, plays a crucial role in detecting this neoplasm, contributing significantly to effective monitoring and clinical management.

Keywords: "cytogenetics," "chronic myeloid leukemia," "molecular diagnosis," and "chronic myeloid leukemia."

## INTRODUÇÃO

A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa adquirida, que afeta as células mieloides, um subtipo de leucócitos produzidos na medula óssea (MO), afetando principalmente adultos entre 40 e 50 anos. A LMC foi o primeiro tipo de neoplasia relacionada a anormalidades genéticas, devido à translocação do cromossomo Philadelphia (Ph) 9q34 e 22q11, a fusão do gene nestes cromossomos gera uma proteína anormal denominada de BCR-ABL, com atividade elevada de tirosina quinase, acarretando no aumento significativo de leucócitos, eritrócitos e plaquetas (DORFMAN *et al.*, 2018).

O curso clínico da doença integra três fases: fase crônica, fase acelerada, fase blástica, sendo esta considerada a mais grave. A hipótese diagnóstica da LMC pode ser verificada através de exames periódicos, como por exemplo, o hemograma. Nos achados hematológicos, esta neoplasia é caracterizada por leucocitose, trombocitose, células granulocíticas imaturas (mieloblastos, metamielócitos, mielócitos), basófila, desvio à esquerda, avançando-se na sequência para biopsia de medula óssea (CRUZ *et al.*, 2022).

Os principais exames citogenéticos e moleculares utilizados são: cariótipo por banda G, Hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), reação da cadeia polimerase, BCR-ABL quantitativo e qualitativo e Reação em Cadeia da Polimerase Digital de Gotículas. (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Após o início do tratamento, o acompanhamento do paciente é fundamental para obter a resposta hematológica completa, juntamente com a monitoração do desaparecimento do cromossomo Philadelphia na medula óssea, tendo como estimativa de um ano a diminuição em 35% de glóbulos brancos com este cromossomo no recurso terapêutico (BRITO *et al.*, 2022).

As leucemias são muito heterogêneas geneticamente e a evolução tecnológica no diagnóstico tem permitido que os portadores da LMC tenham um melhor prognóstico, resultando em perspectivas promissoras em respostas aos tratamentos, e em maior expectativa de vida (VRÁBLOVÁ *et al.*, 2023).

Este trabalho busca, portanto, oferecer uma visão abrangente e atualizada sobre as técnicas citogenéticas e moleculares empregadas ao diagnóstico da LMC.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver uma revisão de literatura sobre o principal marcador molecular e citogenético BCR-ABL1 enfatizando sua importância para a conduta terapêutica e o prognóstico de pacientes com LMC.

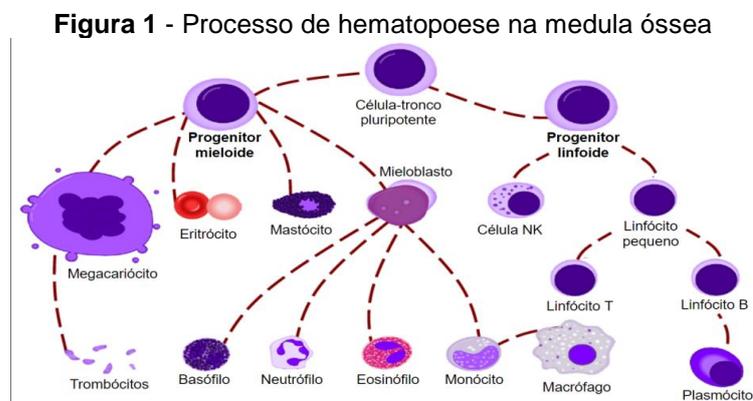
### **2.2 Objetivos específicos**

- Demonstrar como a t(9:22) (q34;q11) e a identificação do gene de fusão BCR-ABL1 são indicadores fundamentais para o diagnóstico citogenômico da leucemia mieloide crônica (LMC);
- Relatar a sensibilidade e a especificidade das técnicas de análise citogenéticas e moleculares;
- Enfatizar a importância das principais técnicas citogenéticas e moleculares no diagnóstico e prognóstico dos pacientes com LMC.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Etiologia e definição da Leucemia Mieloide Crônica

A medula óssea (MO) é um tecido altamente vascularizado contendo células-troncos hematopoéticas, responsáveis pela produção de todas as linhagens celulares do corpo humano, incluindo glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas. As células sanguíneas são formadas na MO através de um processo chamado hematopoese, que envolve a divisão e diferenciação das células troncos (CTHs) em células sanguíneas maduras, que são liberadas na corrente sanguínea e transportadas para os tecidos e órgãos do corpo. As leucemias são um tipo de neoplasia que afeta negativamente os constituintes sanguíneos, desencadeando mutações e conseqüentemente transformando as CTHs em células anormais impedindo sua maturação, gerando-as de formas imaturas e defeituosas, resultando em Neoplasia hematológica maligna (CUNHA, 2018).



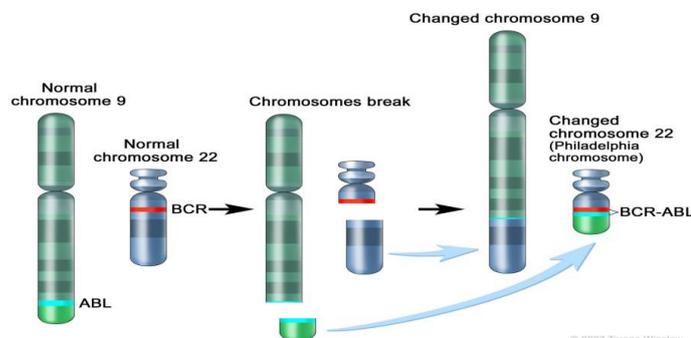
**Fonte:** <https://www.sanarmed.com/hematologia-conceitos-basicos-colunistas>

As leucemias podem ser divididas em diferentes tipos, dependendo do estágio de desenvolvimento das células afetadas e do tipo de célula sanguínea atingida. Os principais tipos de leucemia incluem as formas agudas e crônicas, que podem ter origem mielóide provenientes de seus precursores (mastócitos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos e monócitos), ou linfóide resultantes de seus protótipos (células NK, linfócitos T, linfócitos B e plasmócitos), quanto à velocidade de reprodução celular desta neoplasia hematológica, apresenta-se em duas maneiras discrepantes, dentre elas, as leucemias agudas, acarretando na multiplicação de

células imaturas exacerbadas e as leucemias crônicas com aumento de células semimaduras anormais e com reprodução lenta (BEZERRA *et al.*,2021).

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia sanguínea maligna do grupo das mieloproliferativas crônicas, caracterizada por uma hiperplasia na medula óssea decorrente de um distúrbio celular. A LMC é adquirida, e sua principal alteração genética é uma translocação cromossômica mútua  $t(9;22)(q34;q11.2)$ , conhecido como cromossomo Filadélfia (Ph). Essa translocação ocorre entre o gene Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1 (ABL1), localizado no cromossomo 9q34, e o gene BCR (Breakpoint Cluster Region), localizado no cromossomo 22q11.2 resultando na formação da oncoproteína de fusão BCR-ABL1. A presença do cromossomo Filadélfia é encontrada em mais de 95% dos pacientes diagnosticados com LMC. A BCR-ABL1 desregula os mecanismos de sinalização intracelular, levando ao desenvolvimento e progressão da doença. É importante ressaltar que a identificação do cromossomo Filadélfia é essencial para o diagnóstico da LMC e para a escolha do tratamento mais adequado (BRITO *et al.*,2022).

**Figura 2 - Translocação cromossômica**



Fonte: (BISPO, 2019)

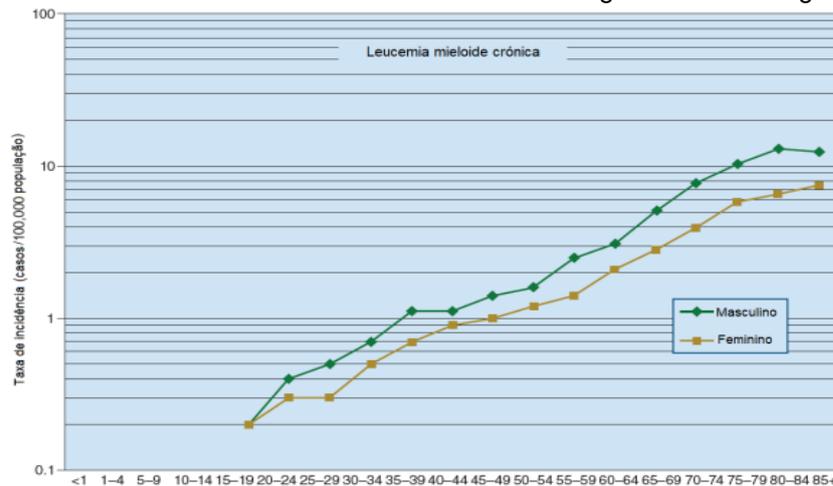
O gene BCR é dividido em três partes: M-bcr (a maior quebra), m-bcr (a quebra menor) e  $\mu$ -bcr (a quebra micro). Dependendo da região em que ocorrem as quebras, a proteína quimérica pode ter tamanhos diferentes, variando de 190 kD a 230 kD. A proteína p190 BCR-ABL é codificada pela conexão do primeiro éxon do BCR com o alelo ABL, causando uma troca de segmentos cromossômicos que aumenta significativamente a via de sinalização de tirosina quinase em comparação com a p210 BCR-ABL. O gene ABL pode se unir a uma das três regiões diferentes do BCR, sendo que a M-bcr está relacionada à sua maior capacidade

transformadora e está associada a manifestações graves de leucemia (MINCIACCHI *et al.*, 2021).

A p190 BCR-ABL é responsável por codificar a proteína e os transcritos quiméricos b2a2 e b3a2 são responsáveis por sua codificação na parte central. A proteína Abelson normal apresenta fosforilação de tirosina, mas mesmo em níveis elevados do gene, não gera carcinogenicidade. Isso bloqueia o ciclo celular, garantindo um crescimento celular regular sem a utilização do ABL. Cerca de 5% dos pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) não apresentam positividade para o marcador molecular Ph, o que requer análises de DNA das células hematopoéticas para detectar o gene BCR-ABL e garantir a eficácia nos resultados. A detecção da oncoproteína BCR-ABL é fundamental para o diagnóstico preciso da LMC. A presença do gene híbrido BCR-ABL e da proteína oncogênica P210 caracteriza a LMC típica, enquanto a ausência dos marcadores Ph e BCR-ABL indica um prognóstico grave, classificando a LMC como atípica (BOMFIM *et al.*, 2022).

### 3.1.1 Epidemiologia

Dentre as doenças mieloproliferativas, a leucemia mieloide crônica (LMC) é uma das mais prevalentes, entre 1 a 2 casos em 100.000 habitantes adultos, que corresponde cerca de 15% a 20% de todas as leucemias. Essa neoplasia acomete ambos os sexos e podem ocorrer em adultos e crianças, mais comuns em indivíduos do sexo masculino, sendo frequentemente diagnosticada em pessoas entre 50 e 60 anos de idade. Em países desenvolvidos, a LMC é diagnosticada com mais frequência em indivíduos entre 30 e 40 anos de idade. Embora rara, a LMC também pode ocorrer em crianças, correspondendo a cerca de 2% a 3% dos casos, com uma incidência de 0,6 a 1,2 crianças por ano (REINATO; MARTINI, 2019).

**Figura 3** - Incidência da leucemia mieloide crônica segundo a idade e gênero.

Fonte : (CUNHA, 2018)

Em relação aos diagnósticos de LMC nos Estados Unidos em 2020, estima-se que houve cerca de 8.450 novos casos e uma estimativa de 1.080 mortes relacionadas à doença. Desde a introdução do medicamento imatinibe em 2000, o índice de mortalidade anual da LMC diminuiu significativamente, passando de 10-20% para 1-2%. No mesmo ano ocorreu um aumento no número de novos casos de LMC, de 7.000 para 8.800, o que equivale a um aumento de 180.000 habitantes/ano. Essa estimativa indica que a prevalência da doença continuará a aumentar até 2030 ou 2040. Com base na taxa de incidência atual de 9.000 casos por ano nos Estados Unidos, juntamente com a taxa de mortalidade anual de 2%, acredita-se que o platô de prevalência (quando a incidência anual é igual à mortalidade anual de 9.000 casos) será atingido somente em 2040 ou 2050, estimando um número total de casos entre 400.000 a 450.000 nos EUA. Esses dados sugerem que o número de casos de LMC continuará a crescer nas próximas décadas (JABBOUR; KANTARJIAN, 2020).

Existem diversos fatores epidemiológicos que podem estar associados ao desenvolvimento da LMC, afetando o funcionamento da medula óssea e resultando no mau desenvolvimento das células que se transformam em glóbulos brancos. Dentre eles, destacam-se o benzeno, as radiações ionizantes e os agrotóxicos. O benzeno é uma composição química presente em diversos produtos, como a fumaça do cigarro, a gasolina e a indústria química, e pode causar mutações nas células, comprometendo sua função. Já as radiações ionizantes, como as utilizadas em radioterapia e exames de raios-X, podem danificar o DNA das células, resultando

em alterações citogenéticas e linhagens celulares anormais, principalmente em casos de leucemia. Além disso, os agrotóxicos também podem causar lesões nas células primitivas e diminuir sua quantidade, resultando em alterações citogenéticas e linhagens celulares anormais, também associadas à leucemia (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

### 3.1.2 Sintomatologia

A leucemia mieloide crônica é uma doença que se desenvolve lentamente, podendo ser assintomática em seu estágio inicial. Com o avanço da doença, os sinais tornam-se evidentes, como fadiga, fraqueza, perda de peso inexplicável, sudorese noturna, febre, perda de apetite e esplenomegalia, que pode causar dor ou desconforto na região abdominal. Alguns pacientes também podem apresentar dor óssea, especialmente nas costelas, quadris e crânio, além de sangramentos e hematomas com facilidade, devido à diminuição das plaquetas no sangue. Outros sintomas incluem infecções recorrentes, falta de ar, tontura, retinopatia, alterações neurológicas, acometimento cardiovascular com insuficiência cardíaca, anemia, sangramento nasal e gengivas. O diagnóstico pode ser feito através de exames de rotina, como o hemograma completo, que identifica leucocitose, desvio a esquerda escalonado, basófila, discreta trombocitopenia ou trombocitose. É importante ressaltar a importância de exames laboratoriais de rotina tanto em pessoas saudáveis quanto em portadoras da doença, para monitoração adequada (MINCIACCH, 2021).

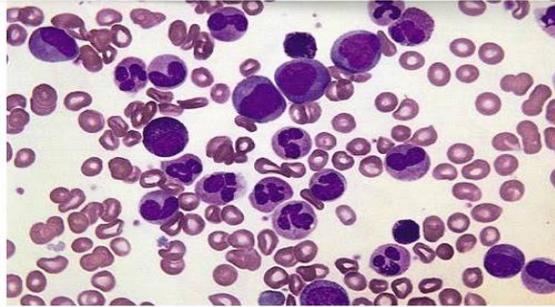
### 3.2 Fases da Leucemia Mieloide Crônica

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia caracterizada por uma multiplicidade de características clínicas. É crucial identificar as diferentes fases da doença para um monitoramento adequado e escolha terapêutica adequada. É crucial diagnosticar a LMC precocemente para que a terapia possa ser iniciada o mais rápido possível e melhorar o prognóstico do paciente (VIEIRA, 2019).

### 3.2.1 Fase crônica

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma doença hematológica que apresenta duas fases principais: a fase crônica e a fase acelerada. Na fase crônica, que tem duração média de três a cinco anos, a progressão da doença é lenta e caracterizada pela hiperplasia da medula óssea e intensa maturação das células mieloides. Cerca de 90% dos pacientes são diagnosticados nesta fase, e 20% a 40% deles podem ser assintomáticos, sendo a leucocitose detectada em exames de rotina o primeiro sinal da doença. Geralmente, não é analisada a presença de displasia importante na medula óssea, e os blastos estão abaixo de 2% na contagem global leucocitária. A basófila é comum no valor relativo e a eosinófilia pode ser observada no leucograma. O aumento de monócitos no valor absoluto pode ocorrer na automação, porém abaixo de 3%. Em casos excepcionais, associados ao BCR-ABL1 p190, a LMC pode ser confundida com a leucemia mielomonocítica crônica (ADNAN-AWAD *et al.*, 2020).

É importante observar que, no perfil hematológico, as plaquetas podem variar do seu valor normal, podendo atingir valores acima de  $1.000 \times 10^9/L$ . A trombocitopenia não é frequente. No exame de medula óssea, é detectado o aumento da celularidade devido ao critério de maturação, semelhante ao sangue periférico. Os blastos geralmente estão abaixo de 5% no tecido hematopoiético, e quando atingem 10% ou mais, isso é indicativo de progressão da leucemia. É usual os megacariócitos estarem normais ou discretamente diminuídos, porém cerca de 40-50% dos pacientes apresentam moderadas ou hiperplasia megacariocítica. O exame inicial da medula óssea frequentemente apresenta de forma moderado a marcada fibrose reticulínica, em aproximadamente 30% dos diagnósticos clínicos, relacionado ao aumento de número de megacariócitos, levando a um desfecho desfavorável. As alterações genéticas contribuem para a progressão da doença e aumento no potencial proliferativo celular. É comum observar a presença de anemia normocítica e normocrômica, bem como a diminuição da fosfatase alcalina intraleucocitária na maioria dos casos clínicos. Em alguns casos, a elevação da fosfatase alcalina pode ocorrer à medida que a doença progride (SOUSA *et al.*, 2022).

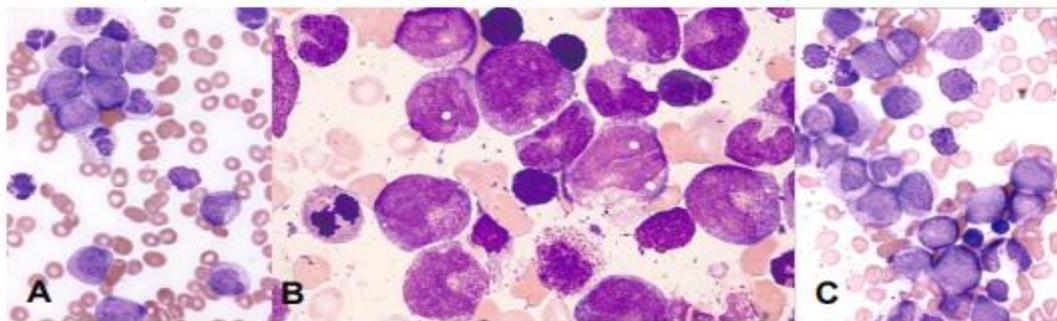
**Figura 4 - Leucemia mieloide crônica**

Fonte: <https://www.pharmadoor.com.br/blog/398-tratamento-leucemia-mieloide-cronica.html>

### 3.2.2 Fase acelerada

Esta fase é menor que o estágio crônico, onde ocorre a transição, podendo haver resistência terapêutica, apresentando um pouco de perda na diferenciação, resultando no aumento de blastos. Esta etapa é caracterizada por aumento dos leucócitos na contagem global ( $> 10 \times 10^9/L$ ), esplenomegalia, devido a falha terapêutica, trombocitose ( $> 1.000 \times 10^9 /L$ ), resultante da ausência em resposta ao tratamento ou trombocitopenia, progressão citogenética, confirmada após cariotipagem, 20% de basófilos ou mais no sangue periférico ou no tecido hematopoiético, 10-19% de blastos na MO ou sangue venoso, e podem ocorrer anormalidades cromossômicas adicionais, tais como duplo Ph, trissomia 8 isocromossomo17q, trissomia 19 (REIS *et al.*, 2019).

**Figura 5 - Leucemia mieloide crônica em sangue periférico; (A-B) Esfregaço sanguíneo em fase acelerada, com basófila, mieloblastos, entre outros precursores mieloides, e trombocitopenia; (C) Aspirado de medula óssea com basófilia, mieloblastos e promielócitos.**



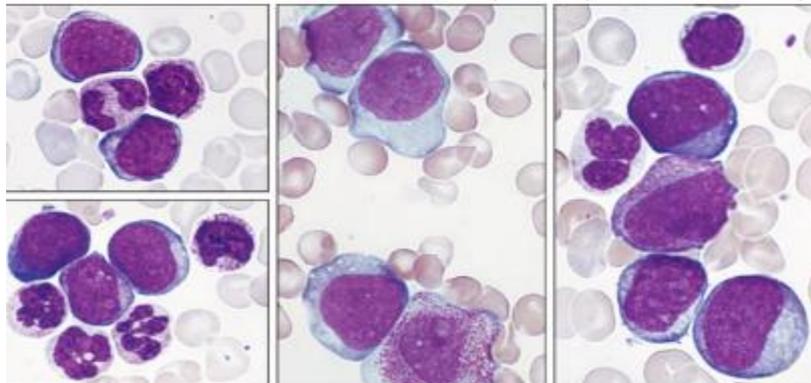
Fonte: (CUNHA, 2018).

### 3.2.3 Fase blástica

A fase blástica é a etapa mais complexa da doença, com um aumento de blastos superior a 20% no tecido hematopoiético e sangue periférico, comportando-

se como uma leucemia aguda. Imunofenotipicamente, esse avanço pode evoluir para uma leucemia aguda de linhagem mieloide ou linfoide. Cerca de 20-30% dos casos apresentam fenótipo linfoide, e cerca de 50% apresentam características mieloides. Em diagnósticos raros, a doença pode apresentar-se de forma bifenotípica (linhagem linfoblástica e mieloblástica). Em cerca de 80% dos pacientes em crise blástica, ocorrem aberrações genéticas e alterações cromossômicas, tais como translocações, deleções e inversões envolvendo principalmente o cromossomo 17, poliploidias, aneuploidias e super expressão de proteínas de outras oncogenes, como CMYC e BCL-2. O avanço da crise blástica está associado a deleções de genes supressores de tumor, como o p16 e p53. Nas células progenitoras anormais, ocorre um aumento na expressão de  $\beta$ -catenina, que está associada à capacidade de auto-renovação (PEIXOTO, 2017).

**Figura 6** - Esfregaços de sangue periférico de leucemia mieloide crônica em fase blástica, linhagem mieloide, com numerosos mieloblastos, neutrófilos atípicos e promielócitos. Ampliação: 1000x.



Fonte: (CUNHA, 2018).

### 3.4 EXAMES DE ROTINA: HEMOGRAMA COM SUAS POSSÍVEIS ALTERAÇÕES.

O hemograma é um exame laboratorial que avalia as células do sangue, incluindo a série vermelha, a série branca e a série plaquetária. A série vermelha é composta pela contagem de eritrócitos (CE), dosagem da hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM). Com a automação das avaliações das células, é possível obter informações sobre o tamanho das hemácias (RDW) por meio de histogramas e gráficos de distribuição das células. A série branca é avaliada por meio da contagem total de leucócitos (CTL), contagem diferencial de leucócitos (em % ou valor relativo e em  $10^3 / \text{mm}^3$  ou

valor absoluto) e índices para neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos. É importante destacar que o valor absoluto é considerado melhor como expressão diagnóstica. As plaquetas são avaliadas quantitativamente pela contagem de plaquetas (CP: 103 /mm<sup>3</sup>). Toda essa análise é realizada com a ajuda de programas de informática e automação das avaliações celulares ( DULTRA , 2020).

**Figura 7** - Valores hematológicos de referência em adultos-série vermelha

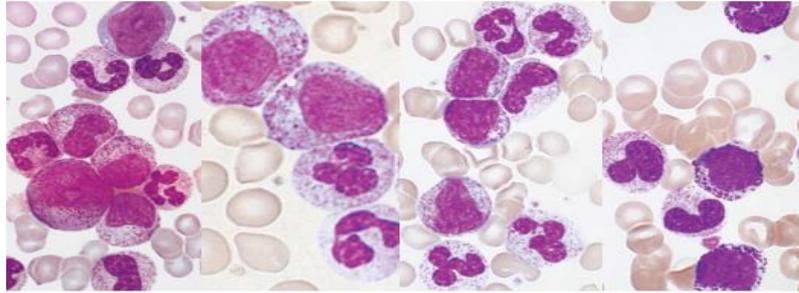
Parâmetro	Escala de concentração	Homens	Mulheres
Hemácias	x10 <sup>12</sup> /μL	5,00 ± 0,5	4,3 ± 0,5
Hemoglobina	g/dL	15,0 ± 2,0	13,5 ± 1,5
Hematócrito	(%)	45 ± 5	41 ± 5
VCM – Volume Corpuscular Médio	fL (fentilitro)		92 ± 9
HCM – Hemoglobina Corpuscular média	pg (picograma)		29,5 ± 2,5
CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média	g/dL		33 ± 1,5
RDW – Red Cell Distribution Width	Coefficiente de Variação, CV (%)		12,8 ± 1,2

Fonte: (PNCQ, 2019)

O hemograma é uma ferramenta crucial para o diagnóstico precoce de inúmeras doenças hematológicas e pode ser utilizado como exame clínico de triagem, devido à sua importância na análise morfológica das células sanguíneas. No eritrograma, é comum observar um perfil de anemia normocrômica normocítica de gravidade variável, com eritroblastos em sangue periférico, hiperleucocitose e desvio à esquerda (promielócitos, mielócitos, metamielócitos, eosinófilos e basófilos). É fundamental quantificar de forma precisa a morfologia das células na microscopia, pois o resultado diferencial pode identificar a fase da doença (CUNHA, 2018).

Durante a fase crônica da LMC, ocorre um aumento nos níveis circulantes de histamina. Nessa fase, o valor médio de histamina é de 5000 ng/ml, enquanto em indivíduos saudáveis é de aproximadamente 50 ng/ml. Esse aumento excessivo de histamina leva à basofilia, que é uma característica da leucemia. Nos pacientes com um aumento acentuado de basófilos e uma elevação significativa nos níveis séricos de histamina (≥100 vezes o valor normal), é comum a manifestação de sintoma, como prurido intenso, urticária e hiperacidez gástrica (SADOVNIK *et al.*, 2023).

**Figura 8** - Leucemia mieloide crônica, apresentando, leucocitose, células granulocíticas imaturas e basófilia .



Fonte: (CUNHA, 2018)

### 3.6 DIAGNÓSTICOS CITOGENÉTICOS E MOLECULARES

A citogenética é uma área da genética dedicada ao estudo dos cromossomos, que consistem em moléculas de DNA associadas a conjuntos de proteínas. Essa disciplina investiga sua função, comportamento biológico, patológico, hereditariedade e estrutura. A citogenética se divide em duas grandes categorias: convencional e molecular. A citogenética convencional envolve o cultivo de células para análise, enquanto o molecular (FISH) utiliza técnicas e tecnologias baseadas em DNA. Esses diferentes enfoques permitem obter informações precisas sobre as alterações cromossômicas associadas à leucemia mieloide crônica (LMC). A investigação citogenética desempenha um papel crucial no diagnóstico e monitoramento da LMC, pois é altamente eficaz na identificação visual das alterações cromossômicas características dessa leucemia (FERNANDES *et al.*, 2022).

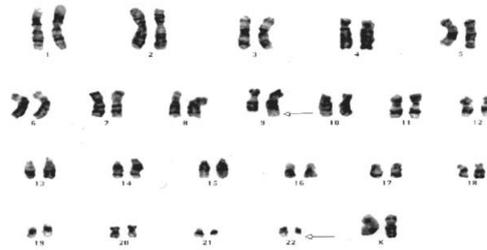
A coleta de amostras é realizada por meio de sangue periférico ou medula óssea, visando detectar a presença do cromossomo Filadélfia, que é um marcador diferencial da doença em relação a outros distúrbios mieloproliferativos. Além do diagnóstico, a análise citogenética é utilizada para monitorar a eficácia do tratamento e a progressão da leucemia ao longo do tempo. Durante o acompanhamento, é possível identificar mudanças na presença ou quantidade do cromossomo Filadélfia. Um decréscimo progressivo ou a ausência desse cromossomo indicam uma resposta terapêutica positiva. Por outro lado, um aumento ou persistência do cromossomo pode sinalizar resistência ao tratamento ou recidiva da doença (SANTOS *et al.*, 2019).

A biologia molecular é de extrema valia no diagnóstico de indivíduos com LMC, devido à sua eficácia na detecção de novas mutações e reorganização

genética. Isso resulta em estratégias de diagnóstico e tratamento terapêutico superiores, o que leva à utilização de novas técnicas avançadas na avaliação clínica dos pacientes, incluindo a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) convencional, PCR em tempo real (qPCR), PCR digital. A PCR convencional é uma técnica amplamente utilizada que permite amplificar segmentos específicos do DNA, permitindo a detecção de mutações genéticas associadas à LMC. A qPCR é uma variação da PCR convencional que permite a quantificação precisa do DNA amplificado em tempo real. Isso é especialmente útil na monitorização da resposta ao tratamento e na detecção precoce de recidivas. A PCR digital é uma técnica mais recente que permite a detecção e quantificação precisa de sequências de DNA individuais. Ela pode identificar mutações genéticas raras e monitorar a evolução da doença com alta sensibilidade (CAYUELA *et al.* , 2019).

### 3.6.1 Análise citogenética convencional por bandeamento G

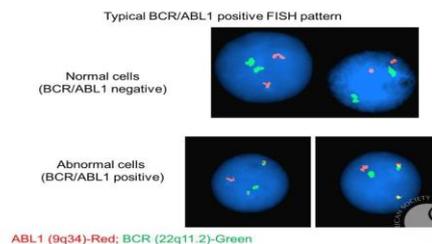
O Cariótipo com banda G é considerado um ponto de partida essencial para a investigação do cromossomo Philadelphia (Ph+), sendo um método que envolve a cultura de células da medula óssea e a análise dos cromossomos. Nesse processo, as células cultivadas são induzidas a se dividirem e são interrompidas na fase de metáfase. Após a interrupção com Colchicina, às células são submetidas a um choque hipotônico com solução salina (KCL), seguido de lavagem e fixação com um fixador contendo ácido acético e metanol na proporção de 3:1. O material obtido é então pingado em uma lâmina com o objetivo de obter um bom espalhamento cromossômico. A identificação dos cromossomos ocorre através da indução de bandas pelo uso de tripsina e da coloração com Giemsa. No Cariótipo, é possível observar o número, tamanho e estrutura dos cromossomos. Para uma análise adequada, é necessário examinar no mínimo 20 metáfases. Além de evidenciar a presença do Ph+, o estudo por citogenética convencional também pode detectar outras anormalidades cromossômicas (BELIGOY *et al.* , 2019).

**Figura – 9 - Cariótipo por bandeamento G**

Fonte: <https://www.abrale.org.br/doencas/leucemia/lmc/cromossomo-filadelfia-e-o-bcr-abl>

### 3.6.2 Citogenética molecular: Hibridização in situ por fluorescência

A citogenética molecular, especificamente a técnica de Hibridização in situ por fluorescência (FISH), desempenha um papel importante na identificação de rearranjos genéticos, como o rearranjo BCR/ABL. Essa abordagem é particularmente útil no diagnóstico da Leucemia Mieloide Crônica quando o cromossomo Philadelphia não é detectado na citogenética convencional ou quando as células não estão na fase de metáfase. A técnica de FISH emprega sondas de DNA específicas que se ligam a regiões específicas dos genes BCR e ABL. Essas sondas são marcadas com corantes fluorescentes, sendo a sonda do gene BCR marcada com cor verde e a sonda do gene ABL marcada com cor vermelha. A presença da fusão entre essas duas cores, resultando na cor amarela, indica a presença da translocação t(9;22) característica do cromossomo Philadelphia. Em células normais, espera-se observar dois sinais verdes (gene BCR) e dois sinais vermelhos (gene ABL), indicando a localização normal dos genes BCR/ABL. Essa técnica, rápida, sensível e específica, é indispensável para o diagnóstico, monitoramento e acompanhamento de pacientes com leucemia mieloide crônica (ZHOU *et al.* , 2018 ).

**Figura – 10 - técnica de FISH / BCR-ABL**

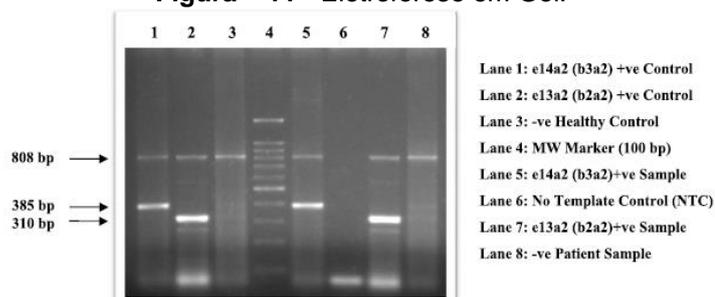
Fonte: <https://imagebank.hematology.org/image/60151/bcrabl-fish>

### 3.6.3 Técnica de reação em cadeia polimerase PCR (RQPCR)

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) ou RT-qPCR envolve a extração do RNA total tanto do sangue periférico quanto de amostras de medula óssea, a transcrição reversa do mRNA (RNA mensageiro) tem o principal objetivo que o cDNA (DNA complementar que é derivado de uma molécula de RNA mensageiro, fazendo uma cópia de DNA pela enzima transcriptase reversa) e ampliando quantitativamente em tempo real. Focando em cDNA do gene BCR-ABL e cDNA de um gene de controle interno. Para estudos clínicos moleculares quantitativos, o método padrão é realizado através de diluições em série de quantidade que é conhecida como plasmídeo clonado apresentando o DNA de fusão, ou diluições em série de células K562 (efeito do cortisol em células neoplásicas) em DNA. Atualmente, esse material é ofertado em forma de kits baseados em sonda Taqman disponíveis para serem adquiridos (SHANMUGANATHAN *et al.*, 2018).

Na análise molecular qualitativa Serão coletados quatro mililitros de sangue periférico em um tubo de EDTA (tampa lilás) dos pacientes com Leucemia Mielóide Crônica (LMC), logo após as amostras passaram pelo processo de centrifugação de gradiente de densidade (Ficoll, Sigma), e a linhagem de células brancas no sangue total (ST), fica submetida a extração do RNA TRIzol (Amresco). Foi realizada uma análise de RNA extraído, mais específica feita através de eletroforese em gel tratado de DEPC, para garantir a pureza e a integridade. Através do kit de síntese e o cDNA Maxima ,o cDNA que transcreve o RNA reversamente, sendo submetido a uma Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa multiplex (RT-PCR) ou PCR qualitativa para genotipagem do transcrito do gene de fusão de eletroforese em gel, os transcritos são genes BCR-ABL característicos da LMC e cada coluna representa um gene em específico (CARVALHO, 2017).

**Figura – 11 - Eletroforese em Gel.**



**Fonte:** (Azad *et al.*, 2018)

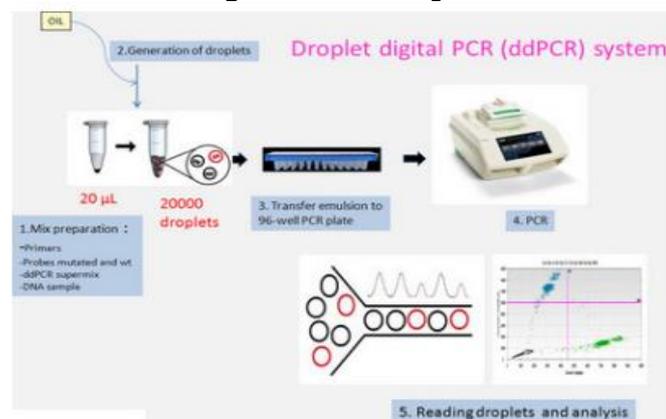
Análise Molecular Quantitativa logo após a normalização para a concentração de 500ng aproximadamente, as amostras de RNA são sintetizadas integralmente a cDNA e amplia-se em tempo real para a quantidade esperada de carga de transcrição de fusão. As durações de acompanhamento podem ser de três meses, seis meses ou um ano, utilizando a sonda de Taqman que tem como princípio a utilização de kit de quantificação de transcrição do gene BCR-ABL (GenoSen 's Genome Diagnostics Pvt. Ltd.) Em tempo real na plataforma de PCR Agilent Stratagene Mx-3000-P. Se o valor ultrapassar o limite a partir da curva padrão o mesmo será expresso pela proporção normal do transcrito BCR-ABL para o do gene ABL de controle (AZAD *et al.*, 2018).

#### 3.6.4 Reação em Cadeia da Polimerase Digital de Gotículas

A Reação em Cadeia da Polimerase Digital de Gotículas de Transcriptase Reversa (RTddPCR) é uma técnica que permite a separação de uma reação de PCR em milhares de conjuntos de reações moleculares específicas em forma de gotículas, isso possibilita uma quantificação precisa do número de moléculas alvo. Ao contrário da Reação em Cadeia da Polimerase de Transcriptase Reversa Quantitativa (RTqPCR). O RTddPCR não depende de uma correlação indireta entre o transcrito BCR-ABL1 e uma curva de calibração para realizar a quantificação, o que pode ser um processo complexo e sujeito a erros. O RTddPCR oferece uma medição precisa do número de cópias das moléculas alvo, ou seja, das moléculas específicas. Isso é especialmente relevante no tratamento da Leucemia Mieloide Crônica (LMC), onde o objetivo é obter uma resposta molecular (RM) mais rápida e evitar a progressão da doença para estágios mais graves. Para realizar o RTddPCR, é necessário utilizar um kit específico, como o QDX BCR-ABL %IS. Essa opção é considerada uma alternativa viável ao método atualmente utilizado como "padrão ouro". O RTddPCR permite a quantificação das amostras sem a necessidade de curva de calibração, reduzindo a variação entre laboratórios e apresentando uma boa linearidade em comparação com o RTqPCR. Isso demonstra que o RTddPCR, utilizando o mesmo kit (QDX BCR-ABL %IS), é capaz de gerenciar os pacientes de forma comparável em diferentes cenários, oferecendo um bom desempenho na medição do BCR-ABL (SCOTT *et al.*, 2021).

Em relação ao custo do kit QXDX BCR-ABL %IS da Bio-Rad é similar ao Cepheid Xpert que se baseia em automatização de sistemas com cartucho, porém sendo mais caro em relação aos convencionais de RTqPCR produzidos em laboratórios, quando os poços extras (detecção de resposta profunda) são utilizados para compensar a falta da obrigatoriedade de uma curva padrão e validação diminuída que são necessárias ao utilizar o kit com outra marca que seria Confort e Europeana (CE) alterações oportunas para a Europa em vitro regulamentos de diagnósticos (IVD) e o seu impacto em testes desenvolvidos nos laboratórios. Com o RTddPCR é possível avaliar e detectar a capacidade das respostas profundas fazendo o uso do kit Bio-Rad QXDX BCR-ABL %IS, que juntamente com a linearidade aprimorada e CVs interlaboratoriais diminuídas, comparando o RTqPCR que oferta um potencial melhor de classificação dos pacientes baseado nos critérios de avaliação do ELN 2020 em resposta molecular e o nível de resposta profunda (CHUNG , 2020).

**Figura -12-** PCR digital



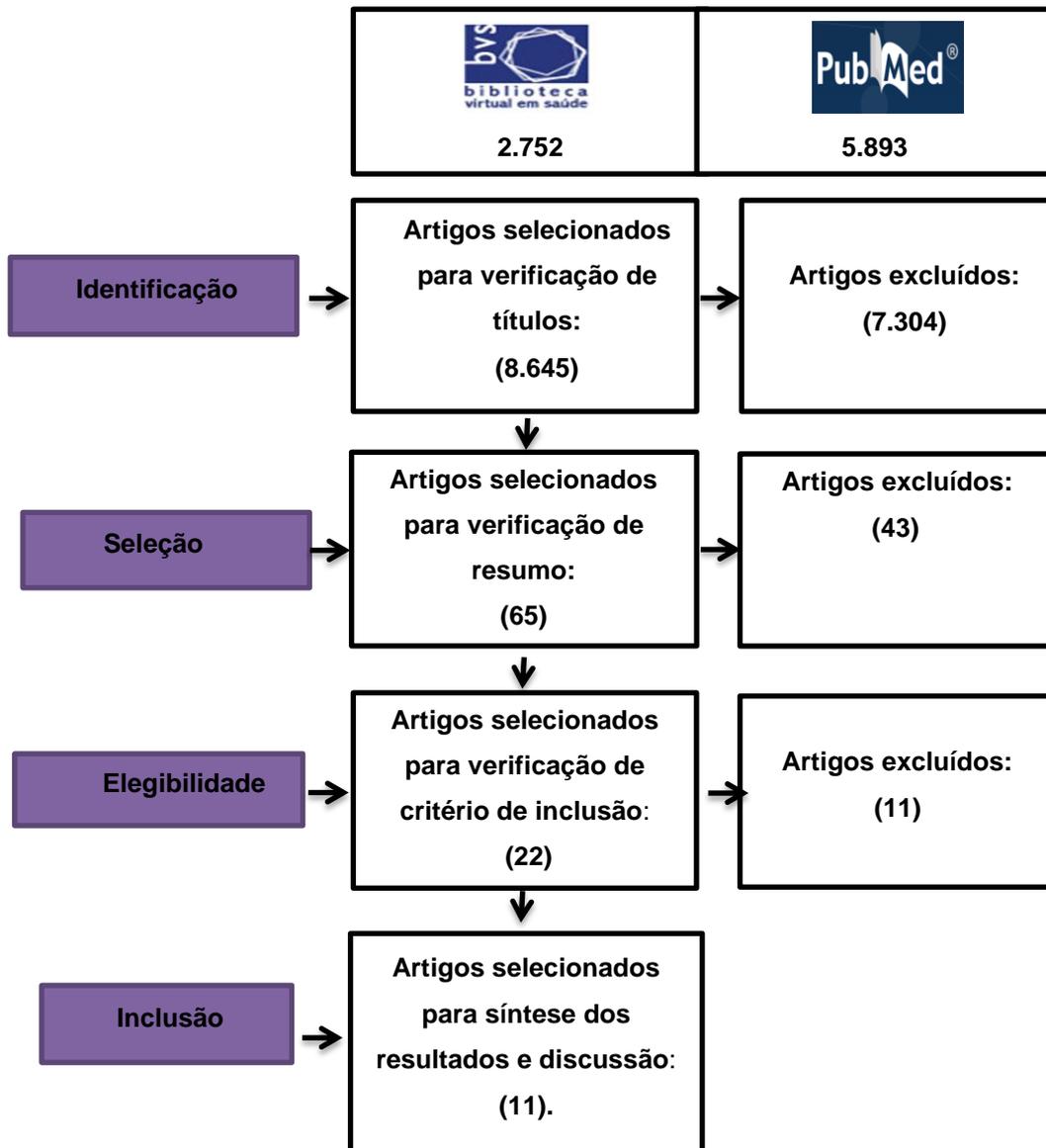
**Fonte:** <https://www.onconews.com.br/site/atualizacao-cientifica/dropsdegen%C3%B4mica/4655-pcr-digital-em-gotas-dd-pcr.htm>

#### 4 DELINEAMENTO METODOLÓGICO

O presente estudo se trata de uma pesquisa de revisão bibliográfica integrativa, com base em artigos científicos de relevância acadêmica sobre o tema. Foram realizadas buscas nas seguintes bases de dados: *National Library of Medicine* (Pubmed) e Portal Regional da Biblioteca Virtual da Saúde (BVS). As buscas ocorreram no período de 2023, utilizando combinações com as seguintes palavras-chaves: “*cytogenetics*”, “*chronic myeloid leucemia*”, “*molecular diagnosis*” e “*chronic myeloid leucemia*” utilizando o marcador booleano AND.

Como critério de inclusão foram selecionados artigos científicos mais atualizados, publicados nos últimos 5 anos, que se enquadravam com o tema abordado na pesquisa. Além disso, foram incluídos apenas artigos disponíveis em português, inglês e espanhol. Como critérios de exclusão, foram rejeitados os materiais literários em duplicidade ou que não tinham relação direta com tema.

**Figura 13** - Fluxograma detalhando a metodologia adotada para a seleção de artigos, com base em critérios de exclusão e inclusão.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com bases nas pesquisas realizadas, os testes citogenéticos e moleculares continuam sendo os mais empregados em pacientes diagnosticados com LMC, destacando-se pela sua sensibilidade e eficácia, influenciando diretamente as decisões clínicas.

Quadro 1 apresenta resumos de 11 artigos científicos que destacam os principais testes citogenéticos e moleculares como padrão-ouro para monitorar e prognosticar pacientes com leucemia mieloide crônica.

**Quadro 1-** Documentação que refletem estudos baseados em técnicas citogenéticas e moleculares aplicadas a indivíduos diagnosticados com leucemia mieloide crônica.

AUTOR/ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	SÍNTESES/RESULTADOS
ANKATHIL <i>et al.</i> , 2020.	Clinical implications of conventional cytogenetics, fluorescence in situ hybridization (FISH) and molecular testing in chronic myeloid leukaemia patients in the tyrosine kinase inhibitor era – A review	Destacar a importância do CCA regular e oportuno, da análise FISH e dos testes moleculares no diagnóstico, prognóstico, avaliação da eficácia terapêutica, avaliação da DRM e na detecção de mutações da quinase BCR-ABL1 que causam resistência terapêutica em pacientes adultos com LMC.	A análise citogenética convencional (CCA) pode identificar o cromossomo Filadélfia (Ph) padrão e variante e quaisquer anormalidades cromossômicas complexas adicionais no diagnóstico. A hibridização fluorescente in situ (FISH), é de extrema valia para células da LMC em metáfase e variantes Ph, não detectado em (CCA)
JABBOUR; KANTARJIAN, 2020	Chronic myeloid leukemia: 2020 update on diagnosis, therapy and monitoring.	Explicar o uso da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase Transcriptase Reversa (RT-PCR) na detecção de doença residual mínima em pacientes com Leucemia Mieloide Crônica (LMC) e fornecer informações sobre as diferentes abordagens qualitativas e	A RT-PCR amplifica a região da junção entre os genes BCR e ABL1, sendo altamente sensível na detecção de doença residual mínima. A PCR qualitativa é útil no diagnóstico da LMC, enquanto a PCR quantitativa é ideal para monitorar a doença residual. Uma resposta citogenética completa (CCyR) é

		quantitativas e uma comparação entre os resultados da citogenética e do teste FISH para avaliar a resposta ao tratamento da LMC.	equivalente a um teste FISH negativo e a uma quantidade de BCR-ABL1 abaixo de 1% em relação ao Padrão Internacional (IS).
BRANFORD, 2020	Why is it critical to achieve a deep molecular response in chronic myeloid leukemia?	Discutir o uso da PCR digital na detecção de DNA e RNA residual de BCR-ABL1 e sua contribuição no tratamento em pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC)	A PCR digital, especialmente na forma de gotículas digitais (ddPCR), melhora a sensibilidade e precisão na detecção de transcritos BCR-ABL1 em pacientes com LMC.
BERNARDI, 2019	Digital PCR improves the quantitation of DMR and the selection of CML candidates to TKIs discontinuation	Avaliar a confiabilidade e a eficiência do dPCR para uma melhor avaliação da DMR. A PCR digital detectou transcritos <i>BCR-ABL1</i> nos casos indetectáveis de RT-qPCR.	O dPCR demonstrou maior precisão e sensibilidade em comparação com a RT-qPCR convencional para monitorar os níveis de BCR-ABL1.
DORFMAN, 2018	The role of cytogenetics and molecular biology in the diagnosis, treatment and monitoring of patients with chronic myeloid leukemia	Destacar a importância das técnicas citogenéticas e de biologia moleculares na detecção de anomalias cromossômicas e mutações envolvidas na Leucemia mieloide crônica	A citogenética e a biologia molecular exercem um papel crucial no rastreamento, diagnóstico e monitoramento terapêutico, bem como na avaliação da resposta dos pacientes ao tratamento.
CILLONI, 2019	Digital PCR in Myeloid Malignancies: Ready to Replace Quantitative PCR?	Avaliar a eficácia da PCR digital (dPCR) na obtenção de alta precisão e sensibilidade na quantificação de alvos moleculares, comparando-a com a abordagem de referência que incorpora um gene de referência em um RT-PCR.	Na leucemia mieloide crônica (LMC), a dPCR tem potencial para aprimorar a detecção de transcritos BCR-ABL1, monitorar respostas profundas ao tratamento e identificar candidatos adequados para descontinuação do tratamento.

SPIESS, 2018	The benefit of quality control charts (QCC) for routine quantitative BCR-ABL1 monitoring in chronic myeloid leukemia	Garantir a fidelidade, precisão e reprodutibilidade da técnica qRT-PCR para o monitoramento longitudinal de pacientes com BCR-ABL1,	O monitoramento rigoroso da qualidade e validação são essenciais na qRT-PCR para garantir a fidelidade e precisão nos resultados.
TANG <i>et al.</i> , 2020	Chronic myeloid leukemia with insertion-derived BCR-ABL1 fusion: redefining complex chromosomal abnormalities by correlation of FISH and karyotype predicts prognosis	Demonstrar que o acompanhamento citogenético desempenha um bom direcionamento para o prognóstico, pois é capaz de detectar a presença dos genes que estão implicados na patogênese da Leucemia Mieloide Crônica.	A complexidade das anomalias cromossômicas, quando correlacionada com os resultados do cariótipo e do FISH.
COSTA <i>et al.</i> , 2019	Conventional and molecular cytogenetic studies to characterize 32 complex variant Philadelphia translocations in patients with chronic myeloid leukemia	Avaliar a presença e as características de alterações cariotípicas adicionais na doença mielóide crônica.	A citogenética convencional e molecular permitiu detectar e quantificar o gene de fusão BCR/ABL1, bem como caracterizar as translocações variantes complexas e detectar translocações crípticas e translocações variantes.
SALMON <i>et al.</i> ,2022	Impact of BCR: ABL1 transcript type on RT-qPCR amplification performance and molecular response to therapy	Descrever a importância clínica e relevância dos testes de biologia molecular no Brasil pacientes com LMC, demonstrando seu custo-efetividade.	RT-qPCR assume o mesmo desempenho de múltiplas amplificações separadas (BCR-ABL1) e gene de referência para a amostra e uma curva padrão de 6 pontos´.
CHUNG <i>et al.</i> ,2019	Performance Evaluation of the QXDx BCR-ABL %IS Droplet Digital PCR Assay	Avaliar o desempenho analítico do novo ensaio QXDx BCR-ABL %IS ddPCR.	ddPCR demonstrou-se uma ferramenta confiável e promissora para monitoramento de DRM em pacientes com LMC.

A leucemia mieloide crônica é uma neoplasia mieloproliferativa, conhecida e diagnosticada pela translocação cromossômica (9;22), resultando no cromossomo Ph e no gene BCR-ABL1. Devido às suas variações genéticas aberrantes, a monitorização e prognóstico eficazes dos pacientes com essa doença requerem exames de alta tecnologia e precisão, como a citogenética e a biologia molecular. Esses exames são considerados o padrão-ouro para o sucesso no tratamento.

De acordo com ANKATHIL *et al.*, (2020) e DORFMAN, (2018), o hemograma desempenha um papel crucial no diagnóstico precoce de várias doenças hematológicas, podendo ser utilizado como um exame clínico de triagem devido à sua importância na análise morfológica das células sanguíneas, identificado em microscopia, como eritroblastos, hiperleucocitose, desvio à esquerda, basofilia, blastos, mielócitos, promielócitos entre outros achados que caracterizam a Leucemia Mieloide Crônica (LMC). Para a investigação diagnóstica, são realizados exames complementares, tais como citogenética convencional por bandeamento G, hibridização *in situ* por fluorescência e diversos testes de biologia molecular, incluindo PCR qualitativo, PCR quantitativo e PCR digital. A análise citogenética convencional (CCA) continua sendo considerada a técnica indispensável padronizado usado mundialmente. O FISH é uma junção do cariótipo com a metodologia molecular usando sondas de DNA marcadas com fluorocromo, sem depender da metáfase, usando células em fase de interfase que não se dividiram para detecção de anormalidades e translocações não detectáveis na CCA.

A perspectiva apresentada por JABBOUR e KANTARJIAN (2020) está alinhada com as de ANKATHIL *et al.*, (2020), enfatizando a relevância dos exames de rotina, com destaque para o hemograma, na detecção de trombose, leucocitose persistente acima de 100 mil. Conforme ressaltado por DORFMAN (2018), a relevância dos testes de diagnóstico citogenético reside na detecção do cromossomo Ph, ao passo que a técnica FISH (Hibridização *In Situ* por Fluorescência) se destaca na identificação de sinais do gene de fusão BCR-ABL1.

Por outro lado, os testes moleculares baseados na PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) são capazes de identificar e quantificar a fusão BCR-ABL1. A reação de cadeia polimerase-transcriptase reversa pode ser qualitativa ou quantitativa, um teste extremamente sensível utilizado na identificação da doença residual mínima. Estudos paralelos de RT-PCR de sangue periférico e medula óssea mostram um alto nível de consenso sendo vantajoso na diferenciação e no

diagnóstico inicial da LMC, porém tendo uma limitação já que a transcrição alvo não pode ser quantificada, necessitando de mais um método complementar quantitativo, o PCR (qRT-PCR) ,inclui a extração de RNA da medula óssea ou amostra de sangue periférico, na conversão de mRNA específico da doença para cDNA .

De maneira similar, conforme discutido por ANKATHIL *et al.*, (2020), JABBOUR e KANTARJIAN (2020), e DORFMAN (2018), o autor TANG *et al.*, (2020) e COSTA *et al.*, (2019) não abordam explicitamente as técnicas da biologia molecular. Em vez disso, eles enfatizam a relevância do método FISH. No entanto, isso não descarta a importância do cariótipo, visto que ele representa a base genômica para a investigação inicial da doença. A hibridização in situ por fluorescência (FISH) é essencial na detecção de variações complexas de Ph, permitindo a caracterização das 32 translocações variantes. Essas translocações podem envolver novos pontos de quebra, sendo potencialmente recorrentes e desempenhando um papel fundamental na compreensão desta forma de leucemia.

Os autores SPIESS (2018) e SALMON *et al.*, (2022) compartilham pontos de vista semelhantes em suas análises, alinhando-se com as perspectivas apresentadas por Ankathil *et al.*, (2020), JABBOUR e KANTARJIAN (2020), DORFMAN (2018), TANG *et al.*, (2020) e COSTA *et al.*, (2019). Eles convergem ao destacar apenas a importância das técnicas da biologia molecular no monitoramento da resposta ao tratamento. Grande parte dos laboratórios usa o ensaio de reação em cadeia da polimerase quantitativa da transcriptase reversa Europe Against Cancer (EAC) (RT-qPCR), ou variantes utilizando um único par de primers/sonda para detectar e quantificar o 13a2 ou 14a2 no mesmo procedimento aplicando um único teste para os pacientes com LMC.

Os autores acima citados também observam que a técnica de PCR quantitativa apresenta uma lacuna de falha na amplificação e14a2 é aproximadamente duas vezes maior que o e13a2 (149 pb vs 74 pb), Existem limitações inerentes associadas à técnica utilizada, uma vez que os resultados dependem da configuração específica do ensaio, favorecendo a utilização de uma nova técnica conhecida como ddPCR, que produz um resultado menos variável produzidos por RT-qPCR sendo desnecessário uma curva padrão.

Em concordância com TANG *et al.*, (2020) e COSTA *et al.*, (2019), BRANFORD (2020) também observa que não conseguiram antecipar a remissão sem tratamento, utilizando a técnica de PCR quantitativa, por não detectar nos

pacientes os transcritos mRNA de BCRABL1 no momento da descontinuação do TKI, enfatizando a importância da utilização da técnica PCR digital para medir DNA e RNA residual de *BCR-ABL1*, porém destacando que os transcritos indetectáveis foram realizados pela técnica de qRT-PCR padrão. A crítica levantada pelos autores refere-se à possibilidade de contaminação, uma vez que a PCR é uma técnica sensível, o que pode resultar em falsos positivos, que é transcido pela quantificação dos pontos de interrupção do DNA genômico *BCR-ABL1*. O aprimoramento da técnica PCR de gotículas digitais (ddPCR) assegura uma taxa de falsos positivos de apenas 5%, detectou de forma confiável nos transcritos de *BCR-ABL1 para MR5 (0,001%)*, contudo a PCR digital tem o potencial de desempenhar um papel crucial como complemento à qRT-PCR na tomada de decisões de remissão sem tratamento.

BERNARDI (2019) e BRANFORD (2020) compartilham uma visão convergente em suas análises, enfatizando que a técnica qRT-PCR apresenta limitações em sua sensibilidade, dificultando a detecção abrangente de respostas em pacientes com transcrição *BCR-ABL1* indetectável. Em estudos realizados com dPCR, concluem que essa técnica empregada é eficaz na identificação de um conjunto de respondedores moleculares ideais e estáveis com base nos níveis e na estabilidade do MRD ( $<0,468$  cópias de *BCR-ABL1* / $\mu$ L).

Por outro lado, CILLONI (2019) concorda com BRANFORD (2020) que a PCR digital é altamente precisa e sensível, não dependendo de uma curva padrão como o RT-PCR e converge com BERNARDI (2019) desconsiderando a sensibilidades da qRT-PCR, Cilloni ressaltou que o ddPCR possui três características principais: a compartimentalização do alvo, PCR em cada molécula e estatística de Poisson. Esse método, baseado em PCR de emulsão, divide a amostra em 20.000 gotas, amplificando as moléculas em cada gota. A alta separação resulta em um método altamente sensível e potencialmente útil para pesquisa e diagnóstico, destacando sua reprodutibilidade.

Em suma, CHUNG (2019) concorda parcialmente com BERNARDI (2019), CILLONI (2019), BRANFORD (2020) enfatizando que pacientes com leucemia mieloide crônica precisam de técnicas de PCR sensíveis, como ensaios de PCR quantitativos em tempo real (RQ-PCR) na detecção do gene *BCR-ABL* transcrições de fusão durante o tratamento, monitorando doença residual mínima (DRM) e identificando pacientes em risco de recaída. Sugere-se que os testes sejam

realizados a cada 3 meses e os resultados sejam relatados em unidades da Escala Internacional (% IS) para relato padronizado da resposta molecular (MR), porém o RQ-PCR é limitado em detecção quanto na quantificação, afetando Decisões clínicas podendo resultar em interrupções inadequadas ou precoces do tratamento. CHUNG relata que o ddPCR é capaz de quantificar o número total de cópias alvo em amostras sem precisar de padrões como afirma os outros autores, mas contesta a limitação do PCR digital, relatando que essa técnica detecta apenas os transcritos de fusão e13a2 e e14a2, mas não e1a2, e19a2 bem como outros transcritos raros, Além disso, o autor identifica outras desvantagens identificadas, como o tempo de resposta longa, resultando em tempo adicional necessário para a geração de gotículas (60-70 min/placa) e leitura de gotículas (120-140 min/placa), embora sem relato de falso positivo. Conclui-se que ddPCR pode ser uma ferramenta confiável e promissora para monitoramento de DRM em pacientes com LMC.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do bandeamento G e da técnica FISH é fundamental para identificar translocações genéticas na Leucemia Mieloide Crônica (LMC), as vantagens da citogenética convencional incluem: a capacidade de oferecer uma visão abrangente do cariótipo; análise simultânea de todas as metáfases cromossômicas; eficaz na detecção do cromossomo Filadélfia e identificação de anomalias cromossômicas em larga escala, abrangendo tanto alterações numéricas quanto estruturais; fornece informações prognósticas iniciais úteis com base em outras alterações cromossômicas e apresenta uma relação custo-benefício favorável.

As vantagens do método FISH incluem a capacidade de realizar testes de detecção de alterações cromossômicas sem depender da divisão celular para a identificação dessas anormalidades, detectar translocações muito pequenas não sendo identificadas na citogenética convencional, possibilita a detecção de alterações específicas em genes localizados no braço curto do cromossomo 17, como o gene p53, ampliando assim a precisão e sensibilidade na análise genética.

Nas técnicas de biologia molecular as vantagens da PCR Qualitativa residem na identificação de mutações genéticas específicas associadas à LMC. Na PCR Quantitativa, sua principal vantagem está na capacidade de quantificação do gene BCR-ABL1, Isso possibilita não apenas a identificação da presença da mutação, mas também fornece insights valiosos sobre a carga da doença, permitindo o monitoramento ao longo do tempo.

A PCR Digital apresenta vantagens significativas, como uma sensibilidade aprimorada capaz de quantificar o número total de cópias alvos em amostras sem precisar de padrões, sem ocorrência de falso positivo.

Em suma, o uso destas técnicas, exerce um papel essencial durante o tratamento, permitindo o monitoramento da doença residual mínima, contribuindo para a melhoria da condição dos pacientes com Leucemia Mieloide Crônica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADNAN-AWAD, SHADY *et al.* CHARACTERIZATION OF P190-BCR-ABL CHRONIC MYELOID LEUKEMIA REVEALS SPECIFIC SIGNALING PATHWAYS AND THERAPEUTIC TARGETS. *LEUKEMIA*, [S.L.], v. 35, n. 7, p. 1964-1975, 9 nov. 2020. **Springer Science and Business Media LLC**.  
<http://dx.doi.org/10.1038/s41375-020-01082-4>. Disponível em:  
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8257498/pdf/41375\\_2020\\_Article\\_1082.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8257498/pdf/41375_2020_Article_1082.pdf). Acesso em: 08 set. 2023.

ANKATHIL, Ravindran *et al.* Clinical implications of conventional cytogenetics, fluorescence in situ hybridization (FISH) and molecular testing in chronic myeloid leukaemia patients in the tyrosine kinase inhibitor era – A review. **A Review. Malays J Pathol**, Malasia, v. 3, n. 42, p. 307-321, dez. 2020.

AWELINO, Jessica Fernanda *et al.* FATORES EPIDEMIOLÓGICOS DAS LEUCEMIAS MIELOIDE E LINFOIDE. **Revista Uningá**, [S.L.], v. 56, n. 3, p. 9-19, 5 set. 2019. Editora UNINGA.  
<http://dx.doi.org/10.46311/23180579.56.euj2810>. Disponível em:  
<https://revista.uninga.br/uninga/article/view/2810>. Acesso em: 22 mar. 2023.

AZAD, Niyaz A. *et al.* Real-time quantitative PCR: a reliable molecular diagnostic and follow-up tool for :minimal residual disease:: assessment in chronic myeloid leukemia. *Bioscience Reports*, [S.L.], v. 38, n. 5, p. 1-11, 5 out. 2018. Portland Press Ltd.. <http://dx.doi.org/10.1042/bsr20180974>.

BELIGOY, Luis Bendek *et al.* **Guías de Diagnóstico y Tratamiento: leucemia mieloide crónica**. [Si]: Sociedad Argentina de Hematología, 2019. 479 p.

BEZERRA, J. M. *et al.* DIAGNÓSTICO MOLECULAR DAS LEUCEMIAS. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 5, n. 1, p. 20 - 34, 15 ago. 2022.

BONFIM, A. C. S *et al.* O papel da citogenética e da biologia molecular no diagnóstico da Leucemia Mieloide Crônica / The role of cytogenetics and molecular biology in the diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. 5153–5164, 2022. DOI: 10.34119/bjhrv5n2-098.  
 Disponível em:  
<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/45552>. Acesso em: 23 mar. 2023.

BRITO, Aline Gama *et al.* INIBIDORES DA TIROSINA QUINASE (TKI): tratamento da leucemia mieloide crônica. **Recima21 - Revista Científica Multidisciplinar - Issn 2675-6218**, [S.L.], v. 3, n. 12, p. 1-10, 23 dez. 2022. RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar. <http://dx.doi.org/10.47820/recima21.v3i12.2405>.

BRANFORD, Susan *et al.* Why is it critical to achieve a deep molecular response in chronic myeloid leukemia? **Haematologica**, Australia, v. 12, n. 105, p. 2730-2737, 29 abr. 2020. Disponível em:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7716360/#:~:text=A%20deep%20mol>

ecular%20response%20(DMR,%2Dfree%20remission%20(TFR).. Acesso em: 10 ago. 2023.

BERNARDI, Simona et al. Digital PCR improves the quantitation of DMR and the selection of CML candidates to TKIs discontinuation. **Cancer Medicine**, [S.L.], v. 8, n. 5, p. 2041-2055, 4 abr. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cam4.2087>.

CAYUELA, Jean-Michel et al. Recommandations du France Intergroupe des leucémies myéloïdes chroniques (Fi-LMC) pour l'examen des mutations du domaine kinase de BCR-ABL1 dans la leucémie myéloïde chronique. **Bulletin Du Cancer**, [S.L.], v. 107, n. 1, p. 113-128, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bulcan.2019.05.011>. Acesso em :10 abr.2023

CHUNG, Hee-Jung *et al.* Performance Evaluation of the QXDx BCR-ABL %IS Droplet Digital PCR Assay. **Annals Of Laboratory Medicine**, [S.L.], v. 40, n. 1, p. 72-75, 1 jan. 2020. Annals of Laboratory Medicine. <http://dx.doi.org/10.3343/alm.2020.40.1.72>.

CILLONI, Daniela et al. Digital PCR in Myeloid Malignancies: ready to replace quantitative pcr?. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 9, p. 2249-2263, 7 maio 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20092249>.

COSTA, Dolores et al. Conventional and molecular cytogenetic studies to characterize 2 complex variant Philadelphia translocations in patients with chronic myeloid leukemia. **Oncology Letters**, [S.L.], p. 5705-5710, 12 abr. 2019. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/ol.2019.10245>.

CRUZ, Samara Silveira da *et al.* Chronic Myelogenous Leukemia with Double Philadelphia Chromosome and Coexpression of p210 and p190 Fusion Transcripts. **Genes (Basileia)**, Suíça, v. 580, n. 13, p. 2-8, 22 mar. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9025354/>. Acesso em: 08 set. 2023.

CUNHA, B.G. **Leucemia Mieloide Crônica**. Monografia (Trabalho de Conclusão de curso)-Faculdade de farmácia Universidade Porto, Porto, 2018.

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**, v. 54, n. 2, p. 83–91, mar. 2018. Disponível em [http://old.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-24442018000200083&lng=en&nrm=iso](http://old.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442018000200083&lng=en&nrm=iso). Acesso em 01 mar. 2023. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20180015>

FERNANDES, Adelina et al. Genomic Mechanisms Influencing Outcome in Chronic Myeloid Leukemia. **Cancers**, Suíça, v. 620, n. 14, p. 1-20, 26 jan. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/3/620>. Acesso em: 08 set. 2023.

GAMA BRITO, A.; et al. inibidores da tirosina quinase (tki): tratamento da leucemia mieloide crônica. **RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar - ISSN 2675-6218**, [S. l.], v. 3, n. 12, p. e3122405, 2022. DOI: 10.47820/recima21. V3i12.2405. Disponível em: <https://recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/2405>. Acesso em: 13março. 2023.

GUIMARÃES, L.C.; FAZENDA, J. Diagnóstico diferencial de leucemia por imunofenotipagem. **Investigação, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 11, n. 14, pág. e485111436754, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i14.36754. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/36754>. Acesso em: 22 mar. 2023. Hoffbrand AV, Moss PAH. Chronicmyeloidleukaemia.

JABBOUR, Elias; KANTARJIAN, Hagop. Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring. **American Journal Of Hematology**, [S.L.], v. 93, n. 3, p. 442-459, 7 fev. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ajh.25011>.

MARIN, Anelis Maria et al. Molecular BCR. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 12, p. 10118-10139, 14 jun. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms241210118>.

MINCIACCHI, Valentina R. et al. Chronic Myeloid Leukemia: A Model Disease of the Past, Present and Future. *Cells*, Suíça, v. 117, n. 10, p. 1-23, 10 jan. 2021. Semestre. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7827482/pdf/cells-10-00117.pdf>. Acesso em: 08 set. 2023.

OLIVEIRA, R. F. et al. leucemia mieloide crônica (lmc): aspectos fisiopatológicos, diagnósticos e tratamentos: chronicmyeloidleukemia (LMC): physiopathological, diagnosticandtreatmentaspects. **REVISTA FIMCA**, v. 8, n. 2, p. 12-18, 14 set. 2021.

PEIXOTO, Paloma Pinheiro de Aquino. **LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA POR PALOMA PINHEIRO DE AQUINO PEIXOTO ORIENTADORA: Profª Christiane Medeiros Bezerra DEZEMBRO/2017**. 2017. 51 f. Monografia (Especialização) - Curso de Biomedicina, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Nort, Rio Grande do Norte, 2017. Disponível em: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE CENTRO DE BIOCÊNCIAS CURSO DE BIOMEDICINA PALOMA PINHEIRO DE AQUINO PEIXOTO LEUCEMIA. Acesso em: 22 abr. 2023.

PNCQ.**Programa Nacional de Controle De Qualidade**.Provedordr ensaios de proficiênciapara laboratórios Clínicos,Bancos de Sangue, Organizações de Diagnóstico In Vitro E Alimentos 2019.Disponível em:<https://pncq.org.br/certificacoes/>

REINATO, M. H.; MARTINI, T. G. Diagnóstico diferencial e atualização em relação ao tratamento da leucemia mieloide crônica: revisão da literatura especializada. **InternationalJournalof Health Management Review**, [S. l.], v. 5, n. 3, 2019. DOI: 10.37497/ijhmreview.v5i3.179. Disponível em: <https://ijhmreview.org/ijhmreview/article/view/179>. Acesso em: 22 may. 2023.

REIS, Aline Leao Oliveira *et al.* EXPRESSÃO DO GENE HÍBRIDO BCR-ABL RESULTANTE DA TRANSLOCAÇÃO ENTRE OS CROMOSSOMOS 9 E 22 NA OCORRÊNCIA DA LEUCEMIA MIELOÍDE CRÔNICA. **Brazilian Journal Of Surgery And Clinical Research - Bjsr**. Minas Gerais, p. 35-41. 14 nov. 2018. Disponível em: [https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190306\\_115032.pdf](https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190306_115032.pdf). Acesso em: 12 mar. 2023.

SADOVNIK, I. *et al.* Identification of CD203c as a New Basophil-Specific Flow-Marker in Ph+ Chronic Myeloid Leukemia. **Cells**, v. 12, n. 1, p. 3, 20 dez. 2022.

SALMON, Matthew *et al.* Impact of BCR. **Leukemia**, [S.L.], v. 36, n. 7, p. 1879-1886, 8 jun. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-022-01612-2>.

SANTOS, Mirella Meireles Ferreira dos *et al.* LEUCEMIA MIELOIDE, AGUDA E CRÔNICA: DIAGNÓSTICOS E POSSÍVEIS TRATAMENTOS. **Revista Saúde em Foco**, Sao Paulo, v. 11, p. 1-16, 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](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: 03 mar. 2023.

SANTOS, Vitorino Modesto dos *et al.* DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM FASE ACELERADA: relato de caso. **Brasília Médica**, [S.L.], v. 55, p. 22-26, 2018. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/2236-5117.2018v55a02>.

SCOTT, Stuart *et al.* Assessment of droplet digital polymerase chain reaction for measuring BCR-ABL1 in chronic myeloid leukaemia in an international interlaboratory study. **British Journal Of Haematology**, [S.L.], v. 194, n. 1, p. 53-60, 10 jun. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/bjh.17521>.

SHANMUGANATHAN, Naranie *et al.* Molecular monitoring in CML: how deep? How often? How should it influence therapy? **Blood**: American Society of Hematology, [S.L.], v. 132, n. 20, p. 2125-2133, nov. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30429156/>. Acesso em: 30 abr. 2023

SOUSA, Carolina Santos de *et al.* Citogenética e biologia molecular no curso clínico e diagnóstico da leucemia mieloide crônica. **Repositório Universitário da Ânima (Runa)**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 1-19, 18 jun. 2022. Disponível em: <https://repositorio.animaeducacao.com.br/handle/ANIMA/22667>. Acesso em: 10 mar.

SPIESS, Birgit *et al.* The benefit of quality control charts (QCC) for routine quantitative BCR-ABL1 monitoring in chronic myeloid leukemia. **Plos One**, Italia, v. 4, n. 13, p. 1-12, 24 abr. 2018.2023. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196326>.

TANG, Zhenya *et al.* Chronic myeloid leukemia with insertion-derived BCR-ABL1 fusion: redefining complex chromosomal abnormalities by correlation of fish and

karyotype predicts prognosis. **Modern Pathology**, [S.L.], v. 33, n. 10, p. 2035-2045, out. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/s41379-020-0564-6>.

Vieira, T.H.M. **Análise dos nichos da medula óssea na Leucemia Mieloide Crônica**. Dissertação (obtenção do título de Mestre)- Universidade Estadual Paulista Faculdade De Medicina, Botucatu ,2019.

VRÁBLOVÁ, L. et al. Deep Molecular Response Achieved with Chemotherapy, Dasatinib and Interferon  $\alpha$  in Patients with Lymphoid Blast Crisis of Chronic Myeloid Leukaemia. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2050, 20 jan. 2023. Disponível em <https://doi.org/10.3390/ijms24032050>.

ZHOU, Ting; MEDEIROS, L. Jeffrey; HU, Shimin. Chronic Myeloid Leukemia: beyond bcr-abl1. **Current Hematologic Malignancy Reports**, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 435-445, 29 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11899-018-0474-6>.