



FISIOPATOLOGIA E DIAGNÓSTICO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

PHYSIOPATHOLOGY AND DIAGNOSIS OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Camila do Lago¹

Tatiane Ferreira Petroni²

RESUMO: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença caracterizada pela perda progressiva da diferenciação celular. Essa patologia está associada à anormalidade citogenética no cromossomo Philadelphia (Ph), que resulta em uma translocação recíproca entre os cromossomos 9-22, levando à formação de um novo gene, que é detectável por exames inespecíficos de rotina, como o hemograma e para diagnóstico confirmatório pode-se realizar citogenética, ensaio de reação em cadeia polimerase (PCR, sigla em inglês) ou o exame de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH, sigla em inglês). A fusão desses genes codifica uma proteína que apresenta uma atividade tirosina-quinase elevada. Este trabalho teve como objetivo descrever a fisiopatologia da LMC e os ensaios laboratoriais envolvidos no diagnóstico desta patologia.

Palavras-chave: Leucemia mieloide crônica, BCR-ABL, biologia molecular

ABSTRACT: Chronic myeloid leukemia (CML) is a disease characterized by progressive lost of cell differentiation. The pathology is associated with cytogenetic abnormality on chromosome Philadelphia (Ph), result of a reciprocal translocation between the

¹ Graduada em Biomedicina pelo Unitoledo Araçatuba

² Biomédica, doutora em Patologia Experimental pela Universidade Estadual de Londrina, Docente e Coordenadora do Curso de Biomedicina Unitoledo

Revista Saúde UniToledo, Araçatuba, SP, v. 01, n. 01, p. 121-133, mar./ago. 2017.

chromosomes 9-22, leading to the formation of a new gene, detected by nonspecific routine exams, as the blood count and confirmatory diagnosis cytogenetics can be performed, polymerase Chain Reaction (PCR) assay or the fluorescence *in situ* hybridization test. The fusion of these genes encodes a protein that shows a high tyrosine kinase activity. The aim of this work was to describe the pathophysiology of CML and laboratorial assays involved in the diagnosis.

Key words: Chronic myeloid leukemia; BCR-ABL; Molecular Biology

1. INTRODUÇÃO

As células cancerosas são definidas por duas propriedades hereditárias: (1) reprodução anormal, não respeitando aos limites normais de divisão celular e (2) invasão e colonização de outras células ou órgãos (metástase). Uma célula que cresce e se prolifera dessa maneira anormal, dará origem a um tumor, ou neoplasia. De acordo com Robbins, neoplasma é uma massa anormal de tecido cujo crescimento é descontrolado e ultrapassa o do tecido normal, persistindo de maneira excessiva mesmo após o término de estímulos que provocaram a alteração.

Na terminologia médica neoplasma é muitas vezes considerado como tumor. Um tumor é classificado como benigno quando não ocorre metástase, ou seja, suas características microscópicas e macroscópicas são, relativamente, inofensivas, sugerindo que ele permanecerá localizado, não poderá se disseminar para outros locais e será acessível à remoção cirúrgica. Já os tumores malignos, também denominados cânceres, aderem de maneira obstinada a qualquer parte, pode invadir e destruir estruturas adjacentes e se disseminar para locais distantes, ou seja, sofre metástase (ROBBINS & CONTRAN, 2010).

Sabe-se que a maioria dos cânceres se origina de uma única célula que sofreu alguma mutação inicial. Porém, essa alteração não é o suficiente para que a célula se torne cancerosa, também é necessário que ocorra alguns eventos epigenéticos. O termo epigenética se caracteriza pela alteração herdável na expressão gênica, sem que haja

mudança na sequência primária de DNA. Ou seja, há uma alteração no padrão da expressão dos genes sem modificar a sequência de DNA (WOLFFE, GUSCHIN, 2000).

Acredita-se que os mecanismos epigenéticos são os padrões estáveis para a propagação do genoma durante as múltiplas divisões celulares, além disso, os eventos epigenéticos fornecem mecanismos à diversidade e diferenciação por meio da regulação da acessibilidade da informação genética para a maquinaria celular. Pode-se citar como exemplo desses mecanismos regulatórios de diversidade e diferenciação a metilação do DNA e modificações de histona (ALBERTS; JOHNSON et al, 2010).

A metilação do DNA consiste em uma modificação covalente do DNA, na qual um grupamento metil (CH_3) é transferido da S-adenosilmetionina para o carbono 5 de uma citosina (5-Mec) que geralmente precede a uma guanina (dinucleotídeo CpG), pela ação de uma família de enzimas que recebe o nome de DNA metiltransferase (DNMT). Esse processo controla diversas funções importantes do genoma e é essencial durante a morfogênese, para que ocorra o desenvolvimento normal de cada célula. Dentre todas as funções da metilação, pode-se citar: replicação, controle de DNAs “parasitas” que se inserem no genoma humano (DNA viral), estabilização e manutenção da expressão gênica e regulação da diferenciação celular (Revista Brasileira de Cancerologia, 2010).

O DNA encontra-se associado a proteínas histonas que se encontram sob a forma de nucleossomo. O nucleossomo é a unidade básica da cromatina, portanto, a proteína de histona condiciona todo o material genético, feito um “pacote”. Por isso, todas as modificações que as histonas sofrem, alteram as funções da cromatina, conseqüentemente, alterando a acessibilidade do DNA aos diferentes fatores, como as enzimas de transcrição (MULLER et al., 2008).

Evidencia-se então, que para uma célula normal tornar-se uma célula cancerosa ela precisa (1) sofrer uma mutação inicial, (2) desenvolver habilidades subversivas e, além disso, (3) depender de eventos epigenéticos. Mesmo com os diversos tipos de câncer e diversas combinações dessas propriedades, pode-se traçar uma lista sucinta de comportamentos de células cancerosas em geral. Por exemplo, as células cancerígenas são mais independentes do que as células normais, elas podem sobreviver e se proliferar em cultivo mesmo quando não aderem a um substrato e flutuam livres em suspensão; são relativamente insensíveis aos sinais antiproliferativos extracelulares; menos pré-dispostas a

Revista Saúde UniToledo, Araçatuba, SP, v. 01, n. 01, p. 121-133, mar./ago. 2017.

apoptose; tem mais facilidade em controlar mecanismos intracelulares que normalmente param a divisão celular permanentemente em resposta ao estresse ou a danos no DNA, induzem a angiogênese, são invasivas e tem capacidade de formar metástase e são geneticamente instáveis (ALBERTS; JOHNSON et al, 2010).

Os diversos tipos de cânceres são classificados de acordo com o tipo de tecido onde eles surgem; os principais tipos se dividem em: Carcinomas (tecido epitelial), sarcomas (tecido conjuntivo), linfomas (tecido linfático), gliomas (células da glia do SNC) e as leucemias (órgãos hematopoiéticos). A classificação das leucemias é dependente de marcadores celulares presentes na membrana e no citoplasma de cada célula leucêmica. Desse modo, elas podem ser classificadas em Leucemias Agudas (LA) e Leucemias Crônicas (LC).

As LA são neoplasias primárias da Medula Óssea (MO), acontece a substituição de células medulares e sanguíneas normais por células imaturas. Como as células leucêmicas tem capacidade proliferativa exarcebada, o seu número cresce rapidamente e a doença se agrava em um curto intervalo de tempo. Divide-se em Leucemia Linfóide Aguda (LLA) e Leucemia Mieloide Aguda (LMA) (INCA 1996 [2016]).

A LLA incide na população de 0 a 14 anos, em uma frequência de 1/2500 indivíduos/ano e o risco de desenvolver a doença nos primeiros 10 anos de vida é de 1/2800 (Revista Brasileira de Cancerologia, 2007). Na maioria das vezes, se caracteriza pela presença e acúmulo de blastos na MO e na corrente sanguínea. A LMA é caracterizada pela expansão e acúmulo de mieloblastos, que suprimem a atividade hematopoiética normal.

Já nas LC, as células leucêmicas ainda conseguem fazer algum trabalho das células normais. É uma doença que se agrava lentamente e quando surgem, os sintomas são brandos. São classificadas em Leucemia Linfóide Crônica (LLC) e Leucemia Mieloide Crônica (LMC) (INCA 1996 [2016]).

A Leucemia Linfóide Crônica (LLC) é de origem desconhecida, os linfócitos têm seu material genético alterado e começam a se multiplicar descontroladamente na MO, acarretando o seu aumento no sangue. A doença é considerada crônica porque essa mutação provoca o crescimento desordenado de linfócitos maduros e não impede a produção de células normais; ou seja, ao mesmo tempo em que há um acúmulo de

linfócitos “doentes” na MO, o processo de fabricação e maturação das células saudáveis continua. A LMC é caracterizada por leucocitose com desvio à esquerda; esplenomegalia e presença do cromossomo Philadelphia (Ph) (LOPES et al., 2009).

O diagnóstico das leucemias é confirmado através do mielograma, o qual consiste na coleta de sangue por meio de punção da MO (geralmente na crista ilíaca ou osso esterno). Através desse exame, o médico hematologista, consegue definir marcadores celulares presentes na membrana e no citoplasma de cada célula leucêmica, capaz de distinguir o subtipo específico da doença (INCA 1996 [2016]).

Diante disso, torna-se necessário o maior entendimento sobre esta patologia e de que forma o laboratório clínico pode colaborar no diagnóstico precoce e acompanhamento do tratamento dos pacientes com LMC.

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi descrever a fisiopatologia da LMC e os ensaios laboratoriais envolvidos no diagnóstico desta patologia.

3. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo, baseado em revisão da literatura a partir de artigos científicos disponíveis nas bases SCIELO, Pubmed, LILACS e em livros didáticos de Patologia, Hematologia e Genética disponíveis na Biblioteca Central do Centro Universitário Toledo de Araçatuba-SP.

4. DESENVOLVIMENTO

A LMC é caracterizada por leucocitose com desvio a esquerda; esplenomegalia e presença do cromossomo Ph. A incidência de LMC é de 1 a 2 casos para cada 100 mil habitantes e representa aproximadamente cerca de 15% de todas leucemias. (CHAUFFAILLE, 2010).

Embora a doença seja relacionada à presença de uma única alteração genética, a progressão clínica apresenta-se heterogênea em várias fases da doença classificando-se em fase crônica (FC), fase acelerada (FA) e crise blástica (CB). A FC é caracterizada por hiperplasia medular e maturação das células mieloides, é facilmente controlada por terapia medicamentosa. A FA caracteriza-se por leucocitose e basofilia, anemia e trombocitopenia. A progressão da FA para a CB está associada à instabilidade genômica, nesse estágio da doença, muitos pacientes evoluem para óbito entre três a seis meses (BORTOLHEIRO, CHIATTONE, 2008).

Na FC acontece a apresentação clínica de hepatoesplenomegalia e desvio à esquerda com predomínio de granulócitos neutrófilos, podendo haver presença de células imaturas, como o mieloblasto, promielócito, mielócito e metamielócito. Também apresentando, na maioria dos pacientes, um quadro de basofilia e eosinofilia, um aumento moderado de monócitos e alguns eritroblastos ou fragmentos de megacariócitos no sangue periférico. Quanto à série vermelha, pode haver uma anemia discreta e aumento de plaquetas (BORTOLHEIRO, CHIATTONE, 2008).

A LMC evolui da FC para um período mais avançado da doença e de difícil controle, chamada FA. Essa fase foi descritas pelo M.D. Anderson Câncer Center (MDACC), International Blood and Marrow Transplantation (IBMTR) e também pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Independente da classificação usada elas possuem critérios objetivos, como o número de blastos, basófilos e presença de evolução clonal, também tem como característica leucocitose persistente. Pacientes com LMC raramente são diagnosticados em FA e o número de pacientes que evoluem da FC para FA tende a reduzir drasticamente. A sobrevivência de pacientes em FA é de apenas um a dois anos (BORTOLHEIRO, CHIATTONE, 2008).

De acordo com Bortolheiro e Chiattonne (2008), na CB o quadro é diferenciado, pois se apresenta exuberante, é mais fácil de identificar pacientes nessa fase (embora alguns pontos permaneçam controversos). Um paciente é considerado em CB, quando o

número de blastos é $\geq 30\%$ ou quando a soma de promielócitos e blastos for $\geq 30\%$. É importante salientar que o número de blastos é uma variável contínua. Em cerca de 70% dos casos de CB, a transformação é mieloide, e em 20% a 30%, linfoide. Na CB Mieloide (CBM), a transformação pode ocorrer em múltiplas linhagens ou predominar em uma linhagem: mieloblástica, eosinofílica, basofílica, monocítica, megacarioblástica, eritroblástica ou combinação destas. A CB Linfoide (CBL) pode surgir subitamente, sem ser precedida pela FA, e nela geralmente não ocorre displasia e nem basofilia.

A desordem da LMC começa com uma superprodução não letal de leucócitos, que logo evolui para uma leucemia. Essas células leucêmicas são identificadas, principalmente, pela presença de uma translocação cromossômica.

Sabe-se que a LMC está associada à presença do cromossomo Ph. Embora ele seja observado em outras leucemias e até mesmo em condições neoplásicas não hematopoiéticas, ele é reconhecido como marcador da LMC (BERGANTINI, et al.,2005). Segundo Nowell & Hungerford (1960) e Johansson et al (2000), o cromossomo Ph foi a primeira alteração cromossômica associado a um tipo específico de neoplasia.

O cromossomo Ph é resultado de uma translocação recíproca entre o braço longo do cromossomo 9 e o braço curto do cromossomo 22. Essa translocação resulta em um gene quimérico, conhecido como gene BCR-ABL, que possui atividade de tirosina quinase elevada. O gene BCR possui diferentes pontos de quebra, dependendo de cada *loci* para produzir uma resposta, cada um desses pontos produz transcrições de diferentes tamanhos que possuem capacidade de codificar vários produtos quiméricos, como proteínas p190, p210 e p230, que estão relacionadas com a diferenciação dos fenótipos leucêmicos. São responsáveis por alterações nas vias intracelulares, como por exemplo, independência nos fatores de crescimento da célula, inibição da apoptose e desequilíbrio celular. Todas essas alterações ocorrem devido à atividade de tirosina quinase elevada (SANTOS, FERREIRA, 2006).

A atividade molecular do gene ABL está diretamente ligada à tradução da proteína p145, que regula a atividade de tirosina quinase, fazendo com que a homeostase do organismo permaneça.

É importante salientar, que apesar da translocação acontecer de forma recíproca, o cromossomo 9, que recebe parte do cromossomo 22 (BCR), até o momento não possui

correlação com o prognóstico da LMC e em algumas linhagens celulares ocorre sua deleção (SANTOS, FERREIRA, 2006).

Como foi dito anteriormente, o fenótipo das leucemias está relacionado com o ponto de quebra ou ponto de fusão específico para a formação do gene híbrido BCR-ABL. O proto-oncogene ABL pode fazer a junção em três regiões distintas, como o M-bcr, que está envolvido na parte central do gene BCR e traduz a proteína p210, que provoca o fenótipo maligno da LMC, pois promove a mieloproliferação e aumento da atividade quinásica. O m-bcr é outra região onde pode haver translocação, ocorre a tradução da p190 e está presente nos casos de pacientes com LLA. Já o *loci* μ -bcr é considerado a forma mais branda para a formação do gene BCR-ABL e traduz p230.

Os aspectos biológicos do gene BCR-ABL, consistem principalmente na independência de fatores que levam à instabilidade genômica e, conseqüentemente, mutações que agravam a regulação do ciclo celular, promovendo resistência a apoptose e a perda da capacidade de adesão da célula no estroma da MO e matriz extracelular (SANTOS, FERREIRA, 2006).

O diagnóstico precoce possibilita o início do tratamento e aumentam as chances de cura; diante disto, e sabendo que o diagnóstico laboratorial confirma o diagnóstico de LMC, torna-se importante conhecer quais métodos de diagnóstico encontram-se disponíveis para utilização e a realização de uma avaliação crítica das vantagens e limitações de cada técnica.

Quando uma alteração molecular leva ao aparecimento de uma proliferação intensa na linhagem granulocítica, com predomínio de formas mais maduras, é um quadro característico de LMC. A LMC pode manifestar-se em qualquer idade, mas sua frequência aumenta regularmente com a idade.

O diagnóstico de LMC ocorre de maneira frequente após exames hematológicos de rotina. Em decorrência da leucocitose acentuada com predominância de precursores mieloides imaturos e algumas vezes em plaquetose. Os sinais e sintomas da LMC são fadiga, perda de peso, anorexia, dor no quadrante superior do abdome (devido à esplénomegalia), a doença evolui lentamente e de forma progressiva, porém os sinais e sintomas começam a aparecer depois que o número de leucócitos atinge 30 a 90 mil (TEIXEIRA, 2006)

A doença evolui para a CB, fase mais grave da doença, que é semelhante à LA. A leucocitose é variável, mas geralmente o número de leucócitos é superior à 100 mil. Observa-se desvio à esquerda com quebra da relação escalonada. No esfregaço sanguíneo há presença desde mieloblastos até neutrófilos segmentados, com predomínio destes. No início do curso da doença, a contagem absoluta de basófilos encontra-se elevada, há certo grau de eosinofília e monocitose que também é observado. Os valores de promielócitos e mieloblastos representam uma pequena porcentagem do total de números de células, até que ocorra a evolução para a CB.

A anemia do tipo normocrômica em geral é frequente, não há alteração morfológica nos eritrócitos e a contagem de reticulócitos apresenta-se normal ou ligeiramente elevada. Geralmente o quadro de anemia está diretamente relacionado à leucocitose, sendo assim, quanto maior o grau de leucocitose, maior o grau de anemia apresentado pelo paciente. A contagem de plaquetas está elevada em aproximadamente 50% dos pacientes e sua elevação está relacionada a um prognóstico ruim (TEIXEIRA, 2006).

Devido às novas tecnologias, o diagnóstico hematolinfóide passou por uma grande transformação. De fato, o exame microscópico é a peça central do diagnóstico patológico. Porém, a aplicação de novas metodologias diagnósticas, como citotóxica especial, imuno-histoquímica, citometria de fluxo, citogenética (incluindo hibridização *in situ* por fluorescência [FISH]) e a genética molecular, possibilitou o aprimoramento diagnóstico.

Muitas técnicas laboratoriais complementares são usadas para identificar anomalias genéticas tumorais específicas, elas apresentam sensibilidades variáveis e a escolha da metodologia depende da fase da doença e do tipo de amostra. Diante dessa sensibilidade das técnicas, podemos observar quatro cenários do diagnóstico molecular (McPHERSON, PINCUS, 2012).

De início, a investigação molecular pode estabelecer um diagnóstico nas situações em que os detalhes morfológicos sejam inconclusivos para malignidade. A presença de anormalidades genéticas específica de uma população celular, pode estabelecer a existência de um processo patológico clonal.

Segundo cenário, os métodos moleculares são utilizados para subclassificar as entidades mórbidas; Para essa finalidade, a classificação da OMS referente às neoplasias

hematológicas inclui a caracterização molecular como um aspecto que define muitas leucemias e linfomas (JAFFE, 2001).

A seguir, anomalias genéticas específicas nas malignidades, têm valor prognóstico importante, por sua vez, influenciando no tratamento inicial de certos tumores. E por fim, tendo potencialmente alta sensibilidade, as técnicas moleculares, podem ser usadas para avaliar os pacientes após o início da terapia, monitorando a presença e a extensão de doença residual mínima (McPHERSON, PINCUS, 2012).

O cariótipo específico da LMC é representado pelo cromossomo Ph. É necessário que haja reconhecimento do padrão inicial do cariótipo, pois existem diversas possibilidades, tais como: apenas a presença do cromossomo Ph clássico variante simples variante complexo, clássico com alterações adicionais, evolução clonal, ausência do cromossomo Ph (com ou sem cromossomo Ph mascarado) ou outras anomalias na ausência do cromossomo Ph.

Como já foi descrito, o cromossomo Ph clássico é resultado da translocação entre os cromossomos 9 e 22 e ocorre em cerca de 90% dos casos de LMC. O Ph variante ocorre entre 5% a 10% dos casos e pode ser simples ou complexo.

A forma simples é quando ocorre a participação de um cromossomo extra, por exemplo, t(9;22;6) e o complexo conta com a participação de dois ou mais cromossomos extras, por exemplo, t(1;9;22;11). O cromossomo Ph variante pode implicar doença de comportamento agressivo, devido ao fenômeno de instabilidade genômica. Ele pode ser formado simultaneamente ao evento biológico que originou a t(9;22) ou pode ser originado de dois eventos sucessivos, o primeiro, no qual se deu a t(9;22), e um subsequente, que envolveu outros dois cromossomos e originou a forma complexa, ou seja, duas translocações em série. Essa última eventualidade pode ser considerada como evolução clonal, e pode ser detectada na fase de CB (CHAUFFAILE, 2008).

Também existe a possibilidade da ausência do cromossomo Ph em diagnóstico de LMC. Nesses casos deve-se investigar a presença do rearranjo BCR-ABL por FISH ou PCR, já que o mesmo pode estar presente na alteração cromossômica. Esse fenômeno de Ph negativo (Ph -) acontece quando as células não entram em divisão e o clone não pode ser detectado pelo método citogenético. Essa situação ocorre em <5% dos casos e é

conhecida como “cromossomo Ph mascarado”. A evolução do quadro clínico é igual à de pacientes Ph positivo (CHAUFFAILE, 2008).

Portanto em caso de suspeita de LMC deve-se investigar o cariótipo do paciente para investigar qual anomalia genética ele possui. A partir disso o paciente é encaminhado para realizar outros exames para acompanhamento e monitoramento.

O exame de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) é o método que utiliza sonda complementar ao alvo que se pretende analisar. Usa-se para detecção do rearranjo BCR-ABL, é preconizado em pacientes que possuem Ph-mascarado no cariótipo. Há três gerações de sondas, a primeira sonda (fusão simples) permite a visualização de um sinal, representado através de cores, por exemplo, correspondente ao ABL, cor vermelha, e outro ao BCR, cor verde e quando há presença do gene BCR-ABL, existem dois sinais, um verde e um vermelho. Como pode haver justaposição dos sinais, sugerindo uma falsa fusão, foram criadas as sondas de segunda geração. Além do gene BCR-ABL representar seus sinais de fusão, um sinal extra surgia, correspondente ao cromossomo 9. E a terceira geração de sondas é conhecida como dupla fusão, pois apresenta sinais extras nos cromossomos 9 e 22, o que aumenta a sensibilidade e especificidade do método e permite a detecção de deleções adicionais em ambos cromossomos (CHAUFFAILE, 2008).

O conceito de gene quimérico corresponde a presença de uma anomalia que pode ser detectada através da espécie correspondente de mRNA quimérico, seja qual for a localização variável dos pontos de quebra genômica (McPHERSON, PINCUS, 2012).

Outro método para diagnóstico molecular é o da transcrição reversa pela reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para converter primeiro a fusão do transcrito de mRNA em seu DNA complementar (cDNA) e, então, amplificar essa molécula específica. A capacidade de realizar a análise de RT-PCR evidencia as dificuldades impostas pelas regiões de flanco do DNA intrônico, que circundam os *loci* genômicos de quebra e fusão, os quais normalmente não seriam passíveis de amplificação por abordagens padronizadas de PCR baseadas no DNA. Além disso, a presença de tal espécie aberrante de mRNA é altamente específica da doença, pois teoricamente não deve estar presente em células normais (McPHERSON, PINCUS, 2012).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do conhecimento da fisiopatologia da LMC, torna-se de extrema importância o papel do biomédico para colaborar com o diagnóstico precoce, acompanhamento, tratamento e possível cura dos pacientes com LMC.

REFERÊNCIAS

BERGANTINI, Ana Paula F. et al. Leucemia mielóide crônica e o sistema Fas-FasL. Rev bras hematol hemoter, v. 27, n. 2, p. 120-25, 2005.

BORTOLHEIRO, Teresa Cristina; CHIATTONE, Carlos S. Leucemia Mielóide Crônica: história natural e classificação. Rev. bras. hematol. hemoter, v. 30, n. 1, p. 3-7, 2008.

CHAUFFAILLE, M.L.L.F. Análise citogenética e FISH no monitoramento da LMC em tratamento com inibidores da tirosino quinase. São Paulo: Rev. Bras. Hematol. Hemoter, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842008000700005>. Acesso em: 21 nov. 2016.

CHAUFFAILLE, Maria de Lourdes Lopes Ferrari. Neoplasias mieloproliferativas: revisão dos critérios diagnósticos e dos aspectos clínicos. Revista Brasileira de hematologia e hemoterapia, 2010.

JAFFE, ES; HARRIS, NL; STEIN, H; VARDIMAN, JW. World Health Organization Classifications of Tumours. Pathology and Genetics of Tumour of Haematopoietic Tissues. IARC Press, Lyon, France, 2001.

JOHANSSON, B.; FIORETOS, T.; MITELMAN, F. Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia. Acta Haematol., v. 107, n. 2, p. 76-94, mar. 2002.

McPHERSON, Richard, A; PINCUS, Matthew R.; Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais de HENRY. 21 ed. Barueri, SP: Manoele, 2012.

Revista Saúde UniToledo, Araçatuba, SP, v. 01, n. 01, p. 121-133, mar./ago. 2017.

NOWELL, PC. Discovery of the Philadelphia chromosome: a personal perspective. *Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(8):2033-2035. doi:10.1172/JCI31771.

OLIVEIRA, NFP; PLANELLO, AC; ANDIA, DC; PARDO, APS; Metilação de DNA e Câncer. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2010; 56(4): 493-499. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/rbc/n_56/v04/pdf/11_revisao_metilacao_dna_cancer.pdf>

SANTOS, I.L.; FERREIRA, R.J. Aspectos biológicos, genéticos e moleculares do gene bcr-abl e sua relação com a leucemogênese. *Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar*, p. 55-59, 2006.

TEIXEIRA, J.E.C. *Diagnostico Laboratorial em Hematologia*, Roca, 1a. ed. 2006.