

**A LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA E O USO DO**  
**MESILATO DE IMATINIBE EM SEU TRATAMENTO**

**Nathália Lopez Duarte**

Rio de janeiro

Dezembro de 2005

Por:

Nathália Lopez Duarte

**A LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA E O USO DO  
MESILATO DE IMATINIBE EM SEU TRATAMENTO**

Monografia apresentada como requisito para a conclusão do Curso Técnico de  
Nível Médio em Laboratório em Bodiagnóstico em Saúde

Orientador: Marcos Antônio Pereira Marques

Fundação Oswaldo cruz

Rio de Janeiro

# Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me guiado nesta época tão importante de minha vida.

Agradeço aos meus pais (Ailton Duarte Pinto e Maria de Las Nieves Lopez Duarte) por todo apoio que me deram, mas, em especial, agradeço à minha mãe, que foi muito compreensiva, paciente e doce nos momentos em que eu mais precisei de sua ajuda.

Agradeço a todos os meus amigos que, querendo ou não, sempre estavam dispostos a ouvir meus lamentos e reclamações, e muitos deles até serviram de “bengala psicológica” para que eu continuasse escrevendo.

Agradeço ao meu orientador Marquinhos (Marcos Antônio Pereira Marques) que, além de ter me proporcionado a inspiração parcial para o tema, sempre que possível tentava me ajudar, dando dicas simples, que foram muito valiosas para a confecção desta monografia. Também quero agradecer aos componentes da banca por terem aceitado avaliar o meu trabalho.

Aproveitando o ensejo, quero dizer que a tarefa de escrever um trabalho científico é mais complicada do que eu imaginava, e agradeço à escola por ter me proporcionado essa experiência, pois “a primeira monografia a gente nunca esquece”.

Finalmente, quero agradecer de coração ao meu namorado (Gabriel Moraes de Oliveira), que, literalmente, permaneceu sempre ao meu lado durante o período que escrevia esta monografia, e se mostrou (como eu já sabia que era) um grande amigo e companheiro, dividindo as conquistas e as angústias dessa etapa de nossas vidas.

*“(...) quando passei a tomar o Imatinibe  
meu estado de saúde melhorou, me sinto bem. Tenho disposição para  
o trabalho e levo uma vida normal.  
Agora, me alimento bem e durmo bem.” – J.A.S. (57 anos).*

# Sumário

|  |    |
|--|----|
| Introdução-----  | VI |
| Capítulo I: Elementos do sangue e Hematopoese -----  | 1  |
| 1.1: Componentes sangüíneos-----   | 2  |
| 1.2: Estrutura funcional da medula óssea-----  | 3  |
| 1.3: O processo de hematopoese-----  | 5  |
| 1.4: Descrição e função dos granulócitos -----   | 15 |
| 1.5: Achados laboratoriais-----  | 17 |
| 1.6: Fatores reguladores da hematopoese -----  | 19 |
| Capítulo II: Leucemia Mielóide Crônica-----  | 22 |
| 2.1: Aspectos gerais das leucemias -----   | 23 |
| 2.2: LMC: definição e etiologia -----  | 25 |
| 2.3: Observações clínicas e hematológicas -----  | 29 |
| 2.3.1: Fase Crônica-----   | 29 |
| 2.3.2: Fase Acelerada-----   | 35 |
| 2.3.3: Fase Blástica -----   | 39 |
| 2.3.4: Exames a serem realizados-----  | 43 |
| 2.4: Patogênias citogenéticas e moleculares -----  | 45 |
| 2.5: Estatísticas e incidência -----   | 46 |
| Capítulo III: Mesilato de Imatinibe-----   | 47 |
| 3.1: Acerca das possibilidades de tratamento da LMC-----   | 48 |
| 3.2: Mesilato de Imatinibe-----  | 49 |
| 3.3: Farmacodinâmica -----   | 53 |
| 3.4: Implicações de sua utilização no tratamento da LMC -----  | 57 |
| 3.4.1: Relação entre dosagem, efeitos colaterais e fase da doença-----                                   | 58 |
| 3.4.2: Relação entre resposta hematológica, resposta citogenética, dosagem diária e fase da doença ----- | 60 |
| 3.4.2: Avaliação dos fatores que influenciaram na resposta ao Mesilato de Imatinibe-----                 | 63 |
| Conclusões-----  | 64 |
| Bibliografia-----  | 66 |

# Introdução

As leucemias são neoplasias hematológicas que provocam a proliferação desordenada de leucócitos. São doenças complexas, classificadas em mielóides ou linfóides – de acordo com a linhagem atingida -, e crônicas ou agudas – de acordo com o nível de diferenciação do tipo celular predominante.

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença considerada rara (pois representa somente cerca de 20% de todas as leucemias), sendo um de seus fatores de causa o rearranjo do material genético, com a formação de um gene inexistente previamente e com grande atuação no desenvolvimento da doença, o Cromossomo Philadelphia (Ph).

Este gene de fusão tem como produto uma proteína anormal, com intensa atividade de tirosina quinase, a qual é responsável pela proliferação desordenada encontrada na doença.

O tratamento da LMC conta, atualmente, com drogas de efeito citostático (que funcionam apenas como tratamento paliativo, diminuindo a porcentagem de leucócitos no sangue periférico); transplante de medula óssea (o único tratamento considerado efetivamente curativo, porém de difícil acesso); e esquemas baseados em IFN- $\alpha$  (fármaco capaz até de promover remissões citogenéticas nos pacientes com ele tratados).

Há aproximadamente 5 anos, surgiu no âmbito terapêutico da LMC um novo antineoplásico: o Mesilato de Imatinibe, que tem por princípio básico inibir a ação da

proteína anômala. Desse modo, age diretamente na patogênese dessa leucemia, funcionando de maneira eficaz e com poucos efeitos colaterais, uma vez que atinge apenas as células doentes. No entanto, esse medicamento possui restrições diversas, devido a seu curto tempo de uso, o que implica em escassez de informações a seu respeito.

Para a feitura desta monografia, primeiramente foi realizado um levantamento bibliográfico que contou com informações detalhadas sobre a LMC, e gerais sobre seus principais tratamentos (com ênfase nos medicamentosos). Em um segundo momento, o trabalho contou com a coleta de informações somente acerca do Mesilato de Imatinibe e suas implicações no tratamento da LMC. Assim, foram utilizados dados provenientes tanto da literatura (livros, periódicos e, principalmente, estudos e pesquisas), quanto de relatos de pacientes que fazem uso deste medicamento há tempos variados.

# **Capítulo I:**

## **Elementos do sangue** **e Hematopoese**

## **1.1: Componentes sangüíneos**

O sangue é um tecido formado por duas partes, contendo 55% de líquido e 45% de sólidos. O plasma - parte líquida - contém glicídios, lipídios, vitaminas, minerais, além de proteínas. Dentre essas, se destaca a fibrina, sem a qual o sangue é incapaz de coagular. A parte sólida, por sua vez, é formada de hemácias, plaquetas e leucócitos. Esta última classe de células é dividida em granulócitos ou polimorfonucleares - neutrófilos, basófilos e eosinófilos - e agranulócitos ou monomorfonucleares - linfócitos e monócitos (Bueno, 2005).

## **1.2: Estrutura funcional da medula óssea**

A medula óssea vermelha é um órgão difuso, volumoso (com cerca de 1.500 gramas), muito ativo e com ausência de vasos linfáticos. Possui estrutura celular bastante variada, em virtude da presença de grande número de células ainda não diferenciadas (em sua maioria da linhagem granulocítica) e das células que compõe seu ambiente (Verrastro, 2002).

As células estromais – também provenientes das células pluripotentes - formam o tecido de sustentação para a medula hematopoética, constituindo o *microambiente* ou *estroma medular*. Neste, são encontradas células reticulares, macrófagos, fibroblastos, células endoteliais, osteoblastos, osteoclastos e adipócitos. Além de possuir essas características, o microambiente é formado por uma *matriz extracelular*, composta de macromoléculas secretadas pelas células estromais, com função de permitir a fixação das *células pluripotentes* (através de moléculas de adesão), além de propiciar o contato entre essas células e os fatores de crescimento, mediado pelos respectivos receptores de membrana (Lorenzi, 2003).

Com relação à distribuição das células precursoras no interior da medula óssea, é importante salientar que há um arranjo pré-estabelecido para as mesmas. As células pluripotentes têm localização junto às trabéculas ósseas. Já nas regiões mais centrais, predominam os precursores granulocíticos e monocíticos mais diferenciados, e as células maduras, as quais penetram nos vasos venosos sinusoidais centrais, alcançando a circulação (Verrastro, 2002).

Um fato relevante é que a circulação medular é fechada, isto é, as arteríolas derivadas das artérias longitudinais centrais (nos ossos longos) conectam-se diretamente com seios venosos, que se anastomosam e terminam vertendo nas veias longitudinais centrais (Hutchison & Davey, 1999).

Antes do nascimento, o saco vitelino, o fígado e o baço fornecem o ambiente adequado para que as células iniciais cresçam e se proliferem. Após o nascimento, a medula óssea apresenta-se integralmente ativa, e todos os ossos na primeira infância contêm medula vermelha, a qual é hematógena, ou seja, com função hematopoética. A partir do terceiro ano de vida, inicia-se o processo involutivo, pelo qual grande parte da medula vermelha se torna adiposa (amarela). Contudo, esse quadro pode ser revertido se as circunstâncias exigirem.

A involução fisiológica da medula se dá centripetamente, isto é, das partes distais (membros) para o centro (tórax). No adulto, a medula vermelha é limitada aos ossos do tórax (esterno, clavícula e costelas), aos ossos do crânio, aos ossos chatos da pelve, às vértebras e nas proximidades do fêmur e do úmero (Oliveira Lima, 2001).

### **1.3: O processo de hematopoese**

A palavra hematopoese significa “formação das células sangüíneas”. Abrange o estudo de todos os fenômenos relacionados com a origem e com a multiplicação e maturação das células precursoras (ou primordiais) das células sangüíneas, ao nível de medula óssea (Verrastro, 2002).

Sua evolução compreende três períodos: o *embrionário*, o *hepatoesplênico* e o *medular*. É importante ressaltar que a hematopoese se processa em condições normais por intermédio de um mecanismo regulador, no qual deve haver o equilíbrio entre a ação dos fatores que estimulam a proliferação celular e daqueles que a inibem (Lorenzi, 2003).

As primeiras células sangüíneas do homem surgem no período embrionário, por volta da 7<sup>o</sup> ou 8<sup>o</sup> semana de vida. Daí até o 4<sup>o</sup> mês de vida, a formação dessas células se faz no saco vitelino. Esse é o período embrionário da hematopoese. Do 4<sup>o</sup> ao 6<sup>o</sup> mês de vida fetal, a formação das células do sangue no baço e no fígado denomina-se período hepatoesplênico da hematopoese. A partir de então, a produção das células sangüíneas passa a ser feita na porção medular dos ossos, iniciando-se o período medular.

A porção celular do sangue constitui-se de elementos provenientes de três linhagens diferentes, porém que se originam de uma célula mãe única, denominada célula **pluripotente**, **totipotente**, **célula-tronco** ou *stem-cell*. Essa célula origina células filhas que seguem dois caminhos: umas permanecem como células pluripotentes, mantendo essa população (a qual é constante), e outras evoluem em um sentido mais avançado. Ainda são indiferenciadas, capazes de multiplicação, mas já orientadas para uma única, ou apenas

para algumas linhagens celulares. Tais células são designadas **progenitoras** (Verrastro, 2002).

A orientação que as células pluripotentes adquirem é resultado da ação de fatores específicos para cada linhagem hematopoética. Esses fatores são, em geral, citocinas produzidas pelas células estromais, pelos linfócitos e pelos monócitos da medula, e atuam desde a fase pouco diferenciada, até a terminal. Assim, pode-se encontrar, durante a hematopoese, diversos grupos de população celular agrupados conforme seu grau de diferenciação, e divididos em células com capacidade de proliferação por mitoses (compartimento mitótico); e um grupo de células que estão em fase de amadurecimento celular (compartimento pós-mitótico) (Lorenzi, 2003).

No compartimento mitótico, encontram-se as Unidades Formadoras de Colônias (UFC), sendo as mais primitivas denominadas Unidades Formadoras de Colônias Blásticas (UFC-BI) e de células Linfóides e Mielóides (UFC-LM). A UFC-BI possui capacidade de originar todos os elementos celulares sanguíneos, além de reunir características de pluripotencialidade. Sua formação está ligada à atuação de fatores estimuladores de colônias (FEC), interleucinas (IL-1, IL-3, IL-6, IL-12), LK e fatores do estroma medular. A UFC-LM compreende uma fase mais evoluída, com diferenciação para a linhagem linfóide e mielóide, a partir dos mesmos estímulos citados anteriormente (Verrastro, 2002).

Além desses tipos, há outras unidades celulares mais diferenciadas, como as Unidades Formadoras de Colônias de Granulócitos, Eritrócitos, Monócitos e Megacariócitos (UFC-GEMM) – chamada mielóide - e as Unidades Formadoras de Linfócitos (UFC-L). Essas duas últimas unidades ainda são pluripotenciais, e sob ação de fatores estimulantes de granulócitos/monócitos (FEC-GM), LK, interleucinas (IL-3, IL-4 para todas e IL-1 somente para as segundas), diferenciam-se em unidades bipotenciais

UFC-EG (Unidades Formadoras de Eritrócitos e Granulócitos), UFC-GM (Unidades Formadoras de Granulócitos e Monócitos) e UFC-E Meg (Unidades Formadoras de Eritrócitos e Megacariócitos).

As células pluripotentes seguem na diferenciação graças à ação de fatores estimulantes mais específicos, como a eritropoetina (EPO) para os eritrócitos, fator estimulante de granulócitos/monócitos (FEC-GM), de granulócitos (FEC-G) e de megacariócitos (FEC-Meg). Com isso, diferenciam-se em unidades celulares com capacidade de seguir apenas uma linhagem com proliferação e ciclo distinto.

As UFC-GM, recebendo estímulos dos fatores de crescimento FEC-G, FEC-GM, LK e IL-4, se diferenciam em unidades bem definidas, denominadas UFC-G (Unidade Formadora de Colônia Granulocítica) e UFC-M (Unidade Formadora de Colônia Monocítica), onde ambas são capazes de chegar à circulação, porém não possuem poder de divisão. Finalmente, integrando a linhagem granulocítica, há as UFC-Eo (Unidades Formadoras de Colônias de Eosinófilos) e as UFC-Ba (Unidades Formadoras de Basófilos).

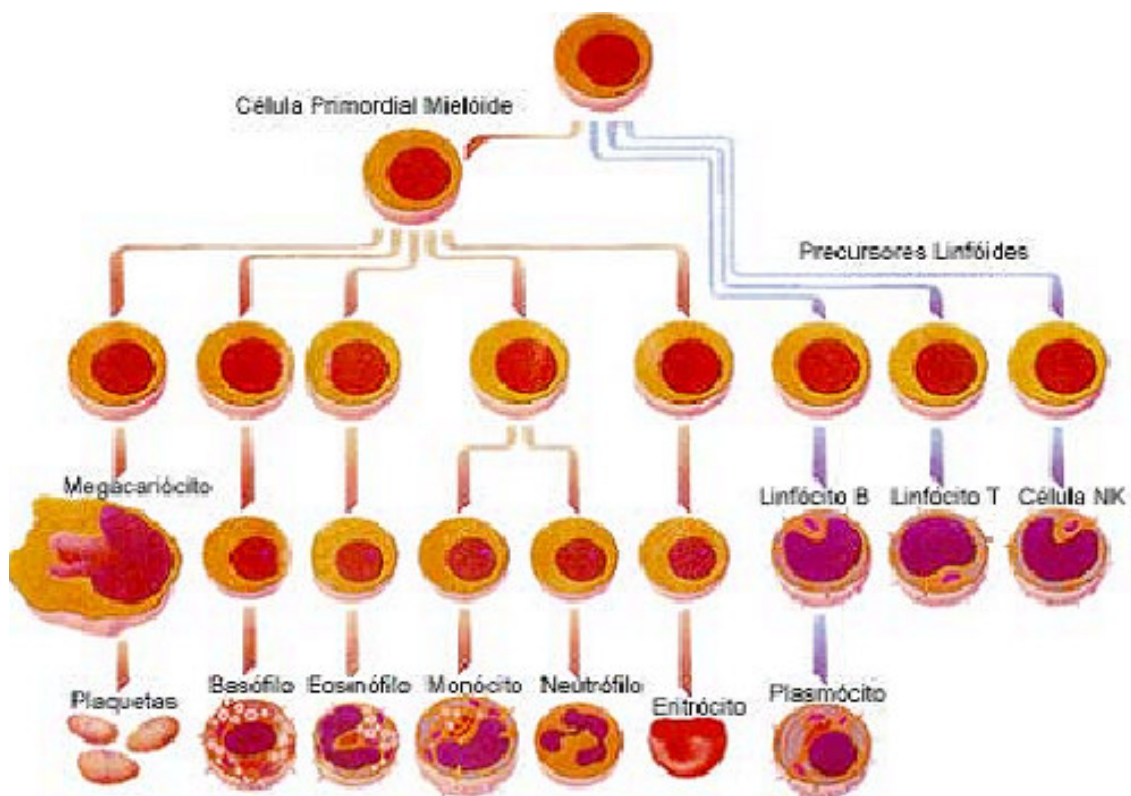
As unidades primitivas UFC-GEMM, sofrendo ação estimulante das interleucinas IL-3, IL-4, IL-6 e LK, originam unidades de linhagem megacariocítica, nos estágios de UFB-Meg (progenitora) e UFC-Meg (Unidade Formadora de Colônia Megacariocítica).

A UFC-L descende da UFC-LM por intermédio do estímulo da IL-1 e LK, diferencia-se em UFC-LT (Unidade Formadora de Colônia de Linfócitos Timo-dependentes) e UFC-LB (Unidade Formadora de Colônia de Linfócitos Bursa-dependentes). Ambas as unidades estão presentes na circulação e mantêm capacidade de duplicação.

As UFC - com células já morfológicamente definidas e distintas - constituem o compartimento terminal (amadurecimento), onde a atividade mitótica é limitada. Tais

células, designadas **precursoras**, passam por uma fase de maturação, formando elementos celulares com características funcionais e morfológicas bem definidas. Ao alcançarem a maturidade, essas células são, então, liberadas na circulação periférica. No entanto, há outras etapas envolvidas nesse processo, compreendidas entre o surgimento das células jovens diferenciadas e sua integração ao sangue periférico, as quais variam de tipo celular para tipo celular, e serão descritas a seguir (Verrastro, 2002).

**Figura 1.3 – A:** Esquema da hematopoese sangüínea



Fonte: <http://www.inca.gov.br>

- **Formação dos eritrócitos**

A eritropoese é um fenômeno dinâmico, em que várias de suas fases realizam-se devido à síntese de DNA e de hemoglobina com incorporação do ferro; ao mecanismo de

mitose; e à perda do núcleo e organelas, para resultar como produto final o eritrócito: anucleado e com reserva energética para vida média útil de 120 dias. Tal processo, com todas as suas etapas, realiza-se, em média, em sete dias.

Na medula óssea, a eritropoese se faz pela diferenciação da célula-tronco em célula da linhagem eritrocitária, o **Proeritroblasto**, o qual é uma célula relativamente grande e possui núcleo com cromatina jovem, dois nucléolos, aparelho de Golgi e mitocôndrias. Seu citoplasma é rico em polirribossomas, apresentando, pois, alta atividade protéica – principalmente hemoglobínica. Tal célula, ao sofrer influência dos fatores de amadurecimento, se diferenciará em **Eritroblasto**. Neste, a hemoglobina ocupa parte considerável do citoplasma e o número de ribossomas decresce. Assim, sua coloração passa de azulada (**Eritroblasto basófilo**) para parda (**Eritroblasto policromatófilo**), e então para avermelhada (**Eritroblasto ortocromático**), onde o citoplasma está completamente hemoglobenizado, e não há mais capacidade de replicação de tais células. Além disso, o núcleo se condensa, sendo expulso, e logo fagocitado por macrófagos. Esse novo tipo celular, ainda com presença de mitocôndrias, aparelho de Golgi e polirribossomas –que logo cessarão sua atividade protéica – chama-se **Reticulócito**. Essas células circulam no sangue periférico por 24 a 48 horas, perdem as organelas e passam a eritrócitos.

Os **Eritrócitos** são as unidades morfológicas da série vermelha circulante no sangue, com diâmetro de aproximadamente 7 a 8  $\mu$ , e forma de um disco bicôncavo. São células com excesso de membrana citoplasmática para o conteúdo hemoglobínico que transportam, e, devido a esse fator, à medida que circulam, perdem porções desta membrana, adquirindo a forma de esfera (esferócito). Partindo do princípio de que esta é bem menos flexível que a anterior, acaba por ser retida na rica malha de sinusóides do baço, onde é fagocitada por macrófagos locais (Verrastro, 2002).

- **Formação das plaquetas**

A partir da célula indiferenciada totipotente, origina-se o **Megacarioblasto**, que é de grande comprimento (15 a 50  $\mu$  de diâmetro). Seu núcleo redondo, ou até mesmo enovelado, é amplo em relação ao citoplasma, o qual costuma ser bastante basófilo. Há, em média, dois nucléolos visíveis.

Com porção citoplasmática mais avantajada em relação ao Megacarioblasto, encontramos o **Megacariócito**. Em seu citoplasma podem ser reconhecidas granulações grosseiras, que correspondem às zonas aonde as plaquetas irão se formar. O Megacariócito costuma ser a maior célula da medula óssea, embora seu diâmetro varie entre limites amplos (30 a 100  $\mu$ ). Seu núcleo é extenso e sua cromatina razoavelmente grosseira. A porção citoplasmática pode ser abundante e sem demarcações, ou com limites nítidos.

Possuindo forma variável, as **Plaquetas** apresentam de 3 a 4  $\mu$  de diâmetro, e cerca de 1 micrômetro de espessura. São elementos de constituição complexa, ricos em material mucopolissacarídeo e glicoproteico em sua superfície externa (atmosfera plaquetária); possuem sistema de canalículos e microtúbulos; apresentam enzimas hidrolíticas, localizadas em formações de natureza lisossomal em seu citoplasma; dentre outras peculiaridades que desempenham funções de suma importância nos processos de coagulação sanguínea (Lorenzi, 2003).

- **Formação dos linfócitos**

Advindas diretamente da UFC-L, as células linfóides denominadas **Linfoblastos** apresentam tamanho de 15 a 20  $\mu$ . Nucléolos são visíveis e seu núcleo possui formato redondo e cromatina frouxa, ocupando praticamente toda a área da célula. Em seu escasso

citoplasma basófilo praticamente não há granulações. Seu processo de amadurecimento dá origem ao **Prolinfócito**.

Este tipo celular tem seu tamanho variando entre 10 e 15  $\mu$  de diâmetro. Nucléolos ainda podem ser visualizados, e seu citoplasma agora é mais abundante e com presença de granulações. Sua estrutura cromatínica não é tão frouxa quanto à de sua predecessora, mas também não tão condensada como a de um linfócito maduro.

Os **Linfócitos** são encontrados em número apreciável no sangue periférico, sendo mais raros nos esfregaços de medula óssea. Seu diâmetro varia de 7 a 10  $\mu$ , e constituem mais de 90% das células dos linfonodos, do baço e de outros órgãos linfóides. O núcleo de tais células é grande em relação ao citoplasma, e este usualmente não apresenta nucléolos ou granulações. Pode-se classificar os linfócitos em *timo-dependentes* (maturados no timo) e *bursa-dependentes* (nome referente a um órgão presente nas aves, onde foram encontrados pela primeira vez).

Os **Linfócitos B** completam sua maturidade na medula óssea, porém, os **Linfócitos T** necessitam completar o processo de amadurecimento de sua Unidade Formadora de Colônia nos tecidos linfóides. Além disso, os linfócitos B, estimulados por agentes diversos, continuam sua diferenciação, até que transformam-se em células com citoplasma extremamente basófilo e de cromatina disposta em aros: os Plasmócitos - tipo celular responsável pela produção de anticorpos (Verrastro, 2002).

- **Formação dos monócitos**

O **Monoblasto** é a célula precursora da linhagem monócito-macrofágica. Descendendo da UFC-M, é encontrado apenas nos esfregaços de medula óssea, possuindo

cerca de 20  $\mu$  de diâmetro. Seu citoplasma é escasso, e apresenta núcleo redondo, cromatina delicada e nucléolos evidentes.

Possuindo o mesmo tamanho de seu antecessor, o **Promonócito** é uma célula de contorno irregular. Seu citoplasma é basófilo, apresentando numerosos grânulos azurófilos finos - lisossomos. Sua cromatina encontra-se mais condensada e há nucléolos presentes.

Os **Monócitos** possuem 20  $\mu$  de diâmetro, forma variável, núcleo irregular (com chanfraduras marcadas) e citoplasma abundante - levemente basófilo e com presença pequenos vacúolos e granulações finas. Essas células passam para a corrente sanguínea, onde permanecem por cerca de oito horas. Após esta etapa, migram para os tecidos, atravessando a parede das vênulas e capilares, diferenciando-se em **Macrófagos**.

Esses tipos celulares são maiores do que suas predecessoras e possuem morfologia praticamente inconstante, variando de acordo com seu estado funcional e o tecido em que se encontram. Apresentam núcleo em forma de ferradura, com ausência de nucléolos. Seu citoplasma é rico em vacúolos e restos celulares, uma vez que possuem alta capacidade fagocitária (Lorenzi, 2003).

- **Formação dos granulócitos**

Mesmo não descendendo da mesma unidade formadora de colônia bipotencial, os granulócitos possuem os mesmos precursores celulares, sendo assim denominadas *células mielóides*. São as células que predominam na medula óssea, representando cerca de 60 a 65% das células nucleadas. Dentre essas, predominam os granulócitos neutrófilos, pois os eosinófilos e basófilos jovens raramente atingem mais de 8% daquele total (Verrastro, 2002).

Como precursores da linhagem granulocítica, temos:

O **Mieloblasto** é o primeiro elemento da série granulocítica, apresentando cerca de 20  $\mu$  de diâmetro, forma e núcleo redondos, cromatina delicada, além de um a dois nucléolos. Seu citoplasma é escasso, basófilo e com granulações primárias ou azurófilas, e, a principal enzima presente nestas granulações é a mieloperoxidase (MPO).

O **Promielócito** possui o mesmo tamanho de sua predecessora, bem como a maioria das características também. No entanto, o citoplasma do promielócito é mais abundante, e este possui, além das granulações primárias, granulações secundárias ou específicas. Está presente em cerca de 3% no estroma medular.

O **Mielócito** é uma célula redonda, com núcleo também do mesmo formato. Medindo cerca de 18  $\mu$ , possui cromatina condensada, citoplasma acidófilo, granulações específicas em grande número e ausência de nucléolos. São as últimas células com capacidade de divisão e povoam a medula em torno de 12%.

O **Metamielócito** possui igual formato arredondado, com núcleo reniforme, cromatina grosseira e 15  $\mu$  de diâmetro. Seu citoplasma é acidófilo, abundante e somente com granulações específicas. Presentes na medula óssea em torno de 16%.

O **Bastonete** mede cerca de 12  $\mu$  de diâmetro, e recebe esse nome pois apresenta núcleo em forma de ferradura ou bastão. Sendo uma célula madura, em seu citoplasma há, somente, granulações específicas. Existindo apenas nas linhagens neutrofílicas e eosinofílicas, é encontrado de 5 a 6% no sangue periférico e em torno de 12% na medula óssea.

O tipo celular **Segmentado** também pode ser denominado polimorfonuclear, em virtude de seu núcleo em lobos, os quais costumam ser em número de dois ou três, sendo

formados por constrictões da cromatina, que os limitam. Seu citoplasma é semelhante ao do bastonete, porém, a quantidade de granulações varia entre eosinófilos, basófilos e neutrófilos, sendo esses últimos os campeões em quantidade. São células completamente amadurecidas e habitam a medula em aproximadamente 8% (Lorenzi, 2003).

È importante ressaltar que os precursores são comuns a todos os granulócitos (a não ser a não passagem dos basófilos pelo estágio de bastonetes), e que só podem ser diferenciados realmente a partir do estágio de mielócitos, cuja diferença dá-se, principalmente, no que diz respeito às granulações (Oliveira Lima, 2001).

## **1.4: Descrição e função dos granulócitos**

Sob estímulos de substâncias diversas e de partículas estranhas, os granulócitos são capazes de se locomover em direção às mesmas, num movimento denominado *quimiotaxia*. Tais substâncias podem ser produtos derivados de bactérias ou do sistema complemento, imunoglobulinas, histamina (no caso dos eosinófilos), dentre outras, sendo, portanto designadas *agentes quimiotáticos*.

Em seguida, graças à presença de estruturas localizadas na membrana de revestimento e no citoplasma dessas células, também são capazes de imobilizar, fagocitar e matar microorganismos invasores através da degranulação no interior dos vacúolos formados após a fagocitose – os fagossomas.

Desse modo, essas células desempenham papel importantíssimo na defesa do organismo, integrando, assim, o sistema imunitário. Vale salientar que tais funções descritas, mesmo sendo praticadas por todos os granulócitos, são especialidades dos neutrófilos, denominados, então, de fagócitos (Oliveira Lima, 2001; Verrastro, 2002).

Constituindo a variedade de leucócito mais abundante no sangue periférico (55% a 65%), os **Neutrófilos** apresentam núcleo composto de 3 a 5 lóbulos e medem de 12 a 15  $\mu$  de diâmetro (Verrastro, 2002). Seus grânulos azurófilos (em pequena quantidade) contêm enzimas lisossômicas – como a mieloperoxidase - e proteínas antibacterianas em sua maioria. Já os específicos (em maior quantidade) contêm lactoferrina e colagenase. Os grânulos terciários (presentes somente na célula madura) contêm gelatinase. Além dessas substâncias, os neutrófilos também são ricos em fosfatase alcalina em suas granulações citoplasmáticas - enzima de papel importante no combate a patógenos (Oliveira Lima, 2001).

Para cada neutrófilo no sangue periférico, há dezesseis precursores na medula óssea, transcorrendo cerca de quatorze dias desde a fase de mieloblasto até sua liberação na corrente sangüínea, onde permanecem durante 24 horas até atingirem os tecidos. A partir daí, se não forem utilizados em alguma reação inflamatória - pelo fato de serem a primeira linha de defesa celular no caso de qualquer invasão por microorganismos patogênicos, e logo, indicadores de inflamação aguda - são destruídos ou deixam o corpo por intermédio de secreções (Oliveira Lima, 2001).

Os **Eosinófilos** possuem núcleo bilobulado e granulações específicas – constituídas de proteínas básicas<sup>1</sup> – menos numerosas e maiores que as dos neutrófilos. Nessas estruturas, há a presença de uma enzima de papel importante no ataque a parasitas multicelulares: a peroxidase (EPO), que além dessa função, neutraliza a heparina e induz a liberação de histamina pelos basófilos (Lorenzi, 2003).

Medindo de 12 a 17  $\mu$  de diâmetro, os eosinófilos integram apenas 2% a 4% do total de leucócitos circulantes. Tais células passam menos de oito horas no sangue periférico e não reingressam na circulação depois de a terem deixado (Oliveira Lima, 2001).

Os **Basófilos** possuem tamanho variando de 10 a 14  $\mu$  de diâmetro e apresentam núcleo volumoso e irregular, representando menos de 1% do total de leucócitos do sangue periférico. Em seu citoplasma há granulações basófilas, maiores do que as citadas anteriormente, contendo histamina e fatores quimiotáticos, sendo assim importantes nas reações de hipersensibilidade (Lorenzi, 2003).

---

Nota<sup>1</sup>: Partindo do princípio de que esses grânulos têm afinidade por corantes ácidos, daí o fato desse tipo celular possuir tal nome.

## **1.5: Achados laboratoriais**

O estudo da conformação dos dois principais exames laboratoriais, o hemograma e o mielograma, em indivíduos saudáveis, faz-se necessário, pois servirá de parâmetro para futuras análises de deturpações em seus aspectos, as quais, de acordo com a abordagem do trabalho, estarão relacionadas com a proliferação anormal presente na Leucemia Mielóide Crônica.

- **Hemograma**

Um hemograma de um adulto saudável (sexo masculino) possui os seguintes valores de referência:

**Figura 1.5 – A:** Valores de referência de um hemograma saudável

|                 |  |
|-----------------|--|
| ERITRÓCITOS     | 4.500.000 a 6.000.000/mm <sup>3</sup>  |
| HEMOGLOBINA     | 13 a 16 g/dL                           |
| HEMATÓCRITO     | 42 a 52%                               |
| LEUCÓCITOS      | 6.000.000 a 10.000.000/mm <sup>3</sup> |
| Mielócitos      | 0%                                     |
| Metamielócitos: | 1 a 5%                                 |
| Bastonetes      | 1 a 7%                                 |
| Segmentados     | 40 a 65%                               |
| Basófilos       | 0 a 1%                                 |
| Eosinófilos     | 1 a 5%                                 |
| Linfócitos      | 22 a 45%                               |
| Monócitos       | 2 a 10%                                |
| PLAQUETAS       | 1500.000 a 450.000/mm <sup>3</sup>     |

Fonte: IPEC - FIOCRUZ

- **Mielograma**

A fórmula citológica da medula óssea normal de um adulto (sexo masculino) apresenta a seguinte conformação<sup>2</sup>:

**Figura 1.5-B:** Aspecto de um mielograma saudável

| <u>Elementos essencialmente medulares:</u> |        |
|--|--------|
| Mieloblastos.....                          | 5,54%  |
| Promielócitos.....                         | 9,10%  |
| Mielócitos neutrófilos.....                | 22,55% |
| Mielócitos eosinófilos.....                | 0,94%  |
| Mielócitos basófilos.....                  | 0,22%  |
| Metamielócitos neutrófilos.....            | 30,43% |
| Metamielócitos eosinófilos.....            | 0,73%  |
| Megacarioblastos.....                      | 0,16%  |
| Megacariócitos.....                        | 0,13%  |
| Proeritroblastos.....                      | 1%     |
| Eritroblastos basófilos.....               | 5,53%  |
| Eritroblastos policromatófilos.....        | 13,18% |
| Eritroblastos ortocromáticos.....          | 8,53%  |

| <u>Elementos pertencentes ao sangue periférico, mas que podem ser encontrados na medula:</u> |      |
|--|------|
| Bastonetes.....  | 12%  |
| Neutrófilos.....   | 8%   |
| Eosinófilos.....   | 3%   |
| Basófilos.....   | 1,1% |
| Reticulócitos.....   | 1%   |
| Monócitos.....   | 1%   |

Fonte: LIMA, Oliveira: *Técnicas de Laboratório aplicadas*. 8ª edição, 2001.

---

Nota<sup>2</sup>: As células que não estão presentes no mielograma apresentado não são encontradas na medula ou são de proporção insignificante (como eritrócitos, linfócitos T e B, dentre outras) (Oliveira Lima, 2001).

## **1.6: Fatores reguladores da hematopoese**

Como já é sabido, a hematopoese se dá em condições normais graças a um mecanismo regulador, constituído pelos fatores estimulantes e os inibidores do crescimento celular. Abaixo estão expostas as fontes e os alvos, bem como os principais efeitos de alguns destes fatores.

- **Fatores estimulantes da hematopoese**

A célula hematopoética pluripotente pode entrar em atividade progressiva pela ação de fatores estimulantes múltiplos, os chamados *fatores de crescimento celular* - citocinas (como as interleucinas), fatores estimulantes de colônias, dentre outros. Estes podem ser solúveis ou ligados à membrana, e consistem em glicoproteínas ácidas que são funcionalmente diversas, mas que se conservam estruturalmente.

Após o nascimento, a proliferação das células primitivas e progenitoras recebe o estímulo de substâncias produzidas pelas células do estroma e pelas próprias células linf-hematopoéticas, como os fatores estimulantes de colônias, interleucinas e eritropoetina. O sinal de proliferação ou diferenciação celular é dado por um fator extracelular e pela fixação do mesmo a um receptor específico de membrana que ativa e libera os mensageiros que traduzem o estímulo gerado no núcleo da célula (Verrastro, 2002).

A Eritropoetina (EPO) estimula a proliferação, crescimento e diferenciação dos precursores eritróides. É uma proteína de 18 kDA, codificada no braço longo do cromossomo 7, produzida pelos rins na vida adulta, sendo induzida pela hipoxia. A EPO recombinante é utilizada clinicamente no tratamento da anemia, quimioterapia, ou infiltração da medula óssea por câncer (Hutchison & Davey, 1999).

O Fator estimulante de colônias de granulócitos-monócitos (FEC-GM) incita a formação dos neutrófilos e monócitos, bem como aumenta a atividade citotóxica e

fagocítica dos primeiros (Verrastro, 2002). Seu peso molecular varia de 14 a 35 kDA, sendo codificada no braço longo do cromossomo 5. Pode ser utilizada clinicamente no combate à neutropenia em pacientes recebendo quimioterapia, e nos submetidos ao transplante de medula óssea.

O Fator estimulante de colônias de granulócitos (FEC-G) estimula a produção e ativação funcional dos granulócitos. É uma proteína de 18 kDA, codificada no braço longo do cromossomo 17. Sua utilidade encontra-se no tratamento da neutropenia.

O Fator estimulante de colônias de monócitos (FEG-M) favorece a formação de monócitos e também de granulócitos, induzindo à síntese do FEC-G, além da IL-1 e do FEC-BI. (Verrastro, 2002). Consiste em duas espécies de proteínas, ambas codificadas no braço longo do cromossomo 5.

A Trombopoietina (TPO) é o principal regulador da produção de plaquetas. É produzida por macrófagos, possuindo efeito homólogo ao da eritropoetina.

Kit do Ligando (LK) é o c-kit do ligando para o receptor da tirosinaquinase, sendo denominado *fator da célula tronco*. Age em sinergismo com a maioria dos outros fatores de crescimento, incluindo o FEC-GM e a IL-3, para estimular os precursores mielóides, eritróides e linfóides (Hutchison & Davey, 1999).

Interleucinas: fazem parte de um grupo de citocinas diversas, que agem sinergicamente com outros fatores de estimulantes de crescimento ou entre si. São produzidas, principalmente, por linfócitos ativados, tanto da medula, quanto do sangue periférico (Oliveira Lima, 2001).

- **Fatores inibidores da hematopoese**

Além dos fatores que estimulam a proliferação ou a maturação das várias linhagens de células sanguíneas, há, contudo, substâncias que inibem esses fenômenos. Estas podem ser denominadas *reguladores* ou *moduladores*, pois, até certo ponto, impedem a produção de quantidade excessiva de células. Os principais estão descritos abaixo:

O Interferon Gama (IFN- $\gamma$ ) é uma linfocina de efeito inibidor sobre a proliferação das células imaturas normais da medula óssea. Os interferons alfa (IFN- $\alpha$ ) e gama atuam sinergicamente sobre precursores mielóides, e, paralelamente à ação inibidora, o IFN- $\gamma$  estimula, de forma indireta, a proliferação dessas células. Por meio da ativação de linfócitos e macrófagos, o IFN- $\gamma$  induz a síntese de FEC-G, que, por sua vez, é um agente estimulador da diferenciação de granulócitos.

O Fator de Necrose Tumoral (TNF) tem ação inibidora sobre precursores da mielopoese quando colocado em cultura de medula óssea, e parece agir em sinergia com o IFN- $\gamma$ . Por estimular a liberação de FEC por células fibroblásticas e endoteliais, o TNF exerce, também, efeito estimulador sobre a mielopoese (Lorenzi, 2003).

# **Capítulo II:**

## **Leucemia Mielóide**

### **Crônica**

## 2.1: Aspectos gerais das leucemias

Leucemia é uma proliferação neoplásica generalizada, ou seja, um acúmulo de células leucopoéticas, com ou sem envolvimento no sangue periférico, onde leucocitose, células circulantes anormais e infiltração de tecidos estão freqüentes, porém não invariavelmente presentes. É uma doença clonal e, a partir da célula transformada, ocorrem perdas nos estímulos proliferativos e/ou maturativos.

Em termos moleculares, uma possível causa das leucemias seria uma translocação entre partes de cromossomos distintos, onde os pontos de quebra coincidem com a presença de *protooncogenes*. Estes consistem em genes transdutores de proteínas relacionadas com a estimulação do crescimento celular, que foram altamente conservados durante a evolução, uma vez que qualquer alteração nesta seqüência de bases nitrogenadas acarreta uma doença maligna.

Ao sofrerem esse processo, esses genes transformam-se em *oncogenes*, e passam a produzir proteínas quiméricas, responsáveis pelo descontrole da divisão e/ou da maturação celular (Hutchison & Davey, 1999). Secundariamente, porém não menos importantes, existem as alterações em outra classe de genes, denominados *antioncogenes*, os quais são transdutores de proteínas relacionadas com a inibição do crescimento celular. Logo, a inativação destas proteínas por quaisquer mutações implica em crescimento desregulado, e subsequente transformação neoplásica (Kumar & Cotran, 1994).

As leucemias são patologias classificadas de acordo com suas características citológicas, existindo duas categorias maiores: mielóide e linfóide, as quais são posteriormente divididas em aguda ou crônica de acordo com o nível de diferenciação do tipo celular predominante (Hutchison & Davey, 1999).

- **Síndromes Mieloproliferativas (SMP)**

Neste grupo estão enquadradas as neoplasias oriundas de células primitivas hematopoéticas, caracterizadas por proliferação e maturação efetivas, com acúmulo medular e periférico de células de uma ou mais séries mielóides. Evoluem de modo crônico, porém, em todas pode haver alteração clonal, com direcionamento para população blástica - similar ao que acontece nas leucemias agudas -, ou até evolução para insuficiência hematopoética. Assim, dentre essa classe de alterações leucocitárias estão a Policitemia Vera, a Trombocitose Essencial, Leucemia Mielomonocítica Crônica e a **Leucemia Mielóide Crônica** (Failace, 2003).

## 2.2: LMC: definição e etiologia

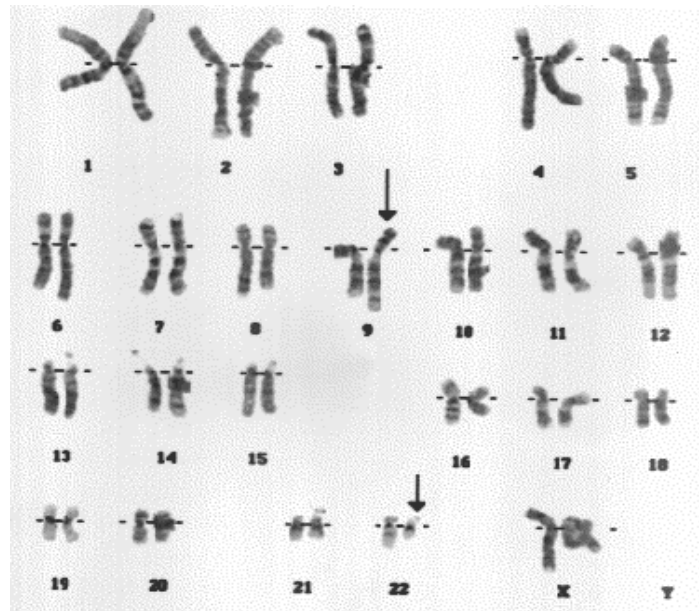
A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) caracteriza-se, basicamente, por uma proliferação de células granulocíticas que mantêm sua capacidade de diferenciação e maturação. Logo, considera-se que sua causa primária seja o aumento das células indiferenciadas comprometidas com a granulocitopoese (Verrastro, 2002).

Como é uma doença de origem clonal, surge em decorrência de anomalia na célula primordial pluripotente, onde o clone anômalo proveniente desta se expande e infiltra o parênquima medular, de modo lento e progressivo, em detrimento da proliferação das células normais. A anomalia citada ocorre devido a uma mutação genética, que pode estar relacionada com radiações nocivas, intoxicações por drogas (como o benzeno) ou infecções viróticas, tendo por resultado um cromossomo atípico: o **cromossomo Philadelphia** (Ph) (Lorenzi, 2003).

- **Anomalia genética primordial**

A célula hematopoética pluripotente sofre uma translocação recíproca nos braços longos dos cromossomos 9 e 22, entre as bandas q34.1 e q11.21, o que implica na **t (9;22) (q34.1;q11.21)** e dá origem a dois cromossomos alterados, denominados 9q+ e 22q-. Neste último, os genes *bcr* e *abl* passam a formar um gene de fusão, e o cromossomo passa, então, a ser designado de cromossomo Ph (Verrastro, 2002). Este cromossomo está presente nas células eritróides, mielóides, monocíticas e megacariocíticas; sendo menos comum nos linfócitos B, raro nos linfócitos T e não ocorrente nos fibroblastos da medula óssea (Goldman & Ausiello, 2005).

**Figura 2.2-A:** Ideograma destacando os cromossomos modificados 9q+ e 22q-.



Fonte: <http://www.gene.com>

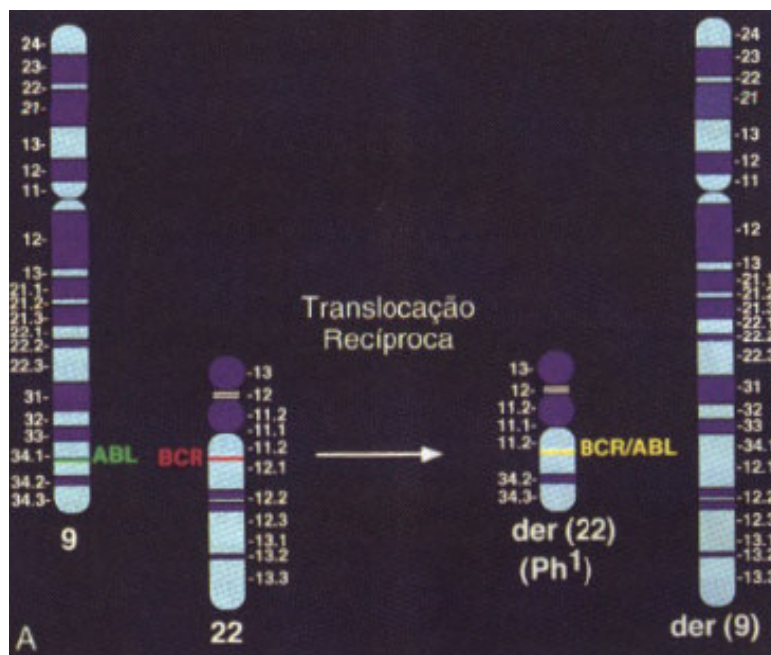
A figura demonstra claramente o ampliação do braço longo do cromossomo 9 e o encurtamento do braço longo do cromossomo 22 (9q+ e 22q-), por intermédio da translocação t(9,22).

Tal translocação resulta na transferência do oncogene *c-abl* (nomeado segundo o vírus da leucemia murina de Abelson), presente na banda q34 do cromossomo 9, a uma área do cromossomo 22, mais precisamente entre as bandas q12.3 e q13.1, onde se localiza o oncogene *c-sis*. Na maioria das vezes, o local de quebra se dá na região do cromossomo 22 denominada *breakpoint cluster region (bcr)*, que também dá nome ao gene. Este processo, por sua vez, tem como consequência o arranjo quimérico *bcr/abl*, responsável pela formação de um novo RNA transcrito e, subsequentemente, a produção de uma

proteína anormal (P210), diferente da convencional (P145), com intensa atividade de tirosina-quinase.

A grande correlação entre a presença da proteína *bcr/abl* hiperativa e a LMC explica a etiologia dessa patologia. Assim, essa proteína anômala intervém de modo leucemogênico na proliferação celular, uma vez que o sinal de transdução gerado pela tirosina-quinase dependente do gene *bcr/abl* acarreta anulações em funções celulares importantes, como os sinais para apoptose, a resposta aos estímulos dos fatores de crescimento e o ciclo celular (Simpson et al, 2000).

**Figura 2.2-B:** Translocação recíproca (t 9;22), arranjo *bcr/abl* e cromossomo Philadelphia



Fonte: <http://www.inca.gov.br>

Representação esquemática da translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, o que resulta na fusão dos genes *bcr* e *abl* e conseqüente formação de um mRNA e proteína híbridos.

Todavia, os locais de quebra dos genes *abl*, no cromossomo 9, e *bcr*, no cromossomo 22, variam, especialmente neste último, podendo acarretar a produção de diferentes proteínas. Na maioria das vezes, a quebra se faz na região denominada *bcr* ou *M-bcr* (*Major breakpoint cluster region*), como foi citado anteriormente, com formação da proteína P210. Outra quebra foi descrita na leucemia crônica do tipo neutrofílica, que ocorre na região denominada *μ-bcr*, a qual é raramente encontrada.

O cromossomo Ph denotou-se como “cariótipo marcador” da LMC por está presente em cerca de 95% dos casos diagnosticados, sendo então denominados de Ph+ (positivos). No entanto, em uma pequena porcentagem de doentes esse gene não é encontrado. São os chamados Ph- (negativos), e, os achados sobre a biologia molecular mostram que o rearranjo *bcr/abl* pode estar ou não presente. Como foi dito que essa disposição genética está relacionada à proteína com ação de tirosina-quinase, a LMC Ph- pode ter quadro clínico e hematológico semelhante ao da LMC Ph+, ou pode apresentar-se muito discordante, no geral tendendo para um péssimo prognóstico.

## **2.3: Observações clínicas e hematológicas**

Com relação à dinâmica da LMC, faz-se necessário ressaltar que, ao tempo que possui caráter evolutivo, apresenta-se em três fases bastante distintas e que encerram quadros clínicos e hematológicos próprios, sendo essas, respectivamente: a **fase crônica**, a **fase acelerada**, e a **fase blástica** (ou fase de agudização). Essa informação será importante para a descrição das mudanças ocorridas na citogenética das células hematopoéticas, as quais implicam no aparecimento de diferentes sintomas, e das quais dependem as possibilidades de prognósticos e de tratamentos (Lorenzi, 2003).

### **2.3.1: Fase Crônica**

- **Características gerais**

Na fase crônica, as células indiferenciadas não apresentam proliferação aumentada. Ao contrário, grande número delas permanece na fase G<sub>0</sub> do ciclo celular. A capacidade mitótica das células Ph<sub>1</sub><sup>+</sup> só se manifesta no momento em que a doença se modifica e apresenta suas primeiras transformações (fase acelerada).

A LMC destaca-se pelo fato de suas células leucêmicas serem capazes de amadurecer, e só então se integram ao sangue periférico. No entanto, esse fenômeno é observado somente na fase crônica, onde tais células apresentam esse comportamento por serem mais responsivas aos fatores estimulantes da diferenciação. As células alcançam a fase de precursores mais amadurecidos, sendo que estes, na verdade, apresentam maior poder proliferativo, o que se manifesta pelo aumento do número de mitoses, resultando na expansão do parênquima granulocítico da medula óssea. Além disso, a proteína *bcr/abl* é capaz de influir na apoptose, anulando-a.

Logo, todos esses fatores, somados ao fato de os granulócitos possuírem grande sobrevida, levam ao acúmulo destes no sangue periférico, na medula e em outros órgãos - como o fígado e o baço. Contudo, esses episódios se processam de modo lento, sendo necessários vários anos para que se instale o quadro típico de LMC. Assim, durante esse tempo, os clones de células normais da medula óssea persistem em sua diferenciação normal, mas, em determinada etapa, são suprimidos pelas células leucêmicas.

- **Diagnóstico e evolução**

A doença evolui de forma lenta e progressiva. Com frequência, é diagnosticada cerca de 12 meses após ter se instalado, e, no geral, por um hemograma de rotina (é válido ressaltar que o diagnóstico precoce de LMC é muito difícil de ser feito, levando em conta que a morfologia das células Ph+ e das sadias é praticamente a mesma, além do aumento da concentração daquelas no sangue periférico ocorrer de modo lento) (Lorenzi, 2003).

O hemograma, ainda em fase assintomática, assemelha-se a um de gravidez ou de tratamento com corticóide, mostrando leucocitose (faixa leucocitária entre 100.000 e 300.000 leucócitos/mm<sup>3</sup>) com neutrofilia e desvio à esquerda não-escalonado, apresentando alguns mielócitos (em torno de 5%). Há basofilia, eosinofilia discreta, e frequentemente trombocitose (contagem plaquetária em torno de 360.000/mm<sup>3</sup>); quando existente, a anemia se apresenta de forma fraca, não-hemolítica, além de normocítica e normocrônica.

Além dos dados hematológicos expostos, essa fase caracteriza-se por apresentar número de blastos circulantes desprezível, e soma de mieloblastos e promielócitos inferior a 10% (Failace, 2003). Quaisquer dados presentes no hemograma que estejam discordantes das informações apresentadas - como presença de trombocitopenia, de anemia aguda, ou

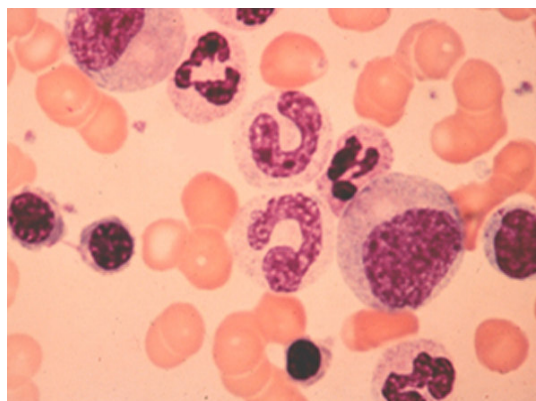
intensa basofilia – são, no geral, indicadores hematológicos de mau prognóstico (*National Cancer Institute* - NCI, 2005).

**Figura 2.3.1-A:** Hemograma de LMC em fase incipiente.

|             |           |                 |
|-------------|-----------|-----------------|
| ERITRÓCITOS | 4.520.000 | mm <sup>3</sup> |
| HEMOLOBINA  | 13,1      | g/dL            |
| HEMATÒCRITO | 41,1      | %               |
| LEUCÓCITOS  | 24.300    | mm <sup>3</sup> |
| Fórmula     | %         | absoluta        |
| Mielócitos  | 7,0       | 1.701           |
| Neutrófilos |           |                 |
| Bastonetes  | 12,0      | 2.916           |
| Segmentados | 64,0      | 15.552          |
| Linfócitos  | 11,0      | 2.673           |
| Monócitos   | 3,0       | 729             |
| Eosinófilos | 1,0       | 243             |
| Basófilos   | 2,0       | 486             |
| PLAQUETAS   | 373.000   | mm <sup>3</sup> |

Fonte: FAILACE, Renato. *Hemograma - Manual de Interpretação*. 4ª edição, 2003.

**Figura 2.3.1 – B:** Esfregaço sangüíneo de paciente em fase crônica mostrando segmentados, eosinófilos, basófilos, bastonetes e alguns mielócitos



Fonte: <http://www.vghtpe.gov>

Nesta etapa da LMC, há necessidade de diagnóstico diferencial com uma leucocitose reacional ou com outra SMP, já que todas possuem achados laboratoriais análogos em fase inicial. Os critérios para diferenciação estão baseados no predomínio da proliferação das diferentes linhagens (granulocítica, eritroblástica, plaquetária ou fibroblástica) (Failace, 2003). Já a pesquisa da enzima Fosfatase Alcalina dos neutrófilos - que tem concentração baixa na LMC e muito aumentada nas reações leucemóides - representa o exame diferencial de grande valia na maior parte dos casos de suspeita de infecção. Assim, como a fórmula leucocitária é semelhante àquela encontrada em alguns casos de infecção grave, esta deve ser, portanto, a principal hipótese a ser descartada (HEMORIO, 2005). Outro ponto que auxilia no diagnóstico diferencial da LMC com uma leucocitose é o fato de esta apresentar, no hemograma, desvio à esquerda escalonado (Hutchison & Davey, 1999).

Paralelamente ou não ao hemograma - uma vez que com este a doença pode ser descoberta ainda em fase assintomática -, a detecção da LMC pode ser uma consequência do aparecimento de sinais da doença crônica, tais como: fadiga, emagrecimento, cefaléia, febre e suores noturnos por hipermetabolismo; mais raramente, hemorragias e anemia, que são indicadores de mau prognóstico devido à presença de trombocitopenia e/ou de baixa concentração de eritrócitos circulantes. O diagnóstico também é suscitado ao paciente sentir desconforto no hipocôndrio esquerdo, devido a esplenomegalia por infiltração celular - presente em mais de 90% dos casos -, ou por hipersensibilidade no esterno, como sinal de expansão da doença na medula. Outrossim, complicações provenientes do número excessivo de plaquetas no sangue circulante (o que o torna mais viscoso) podem ocorrer, sujeitando-o a eventos isquêmicos no cérebro e no coração. Além disso, em casos extremos de leucocitose, fenômenos obstrutivos, denominados "leucostáticos", são passíveis de

acontecimento, dentre os quais se destacam o priapismo e as perturbações visuais (Failace, 2003; Lorenzi, 2003).

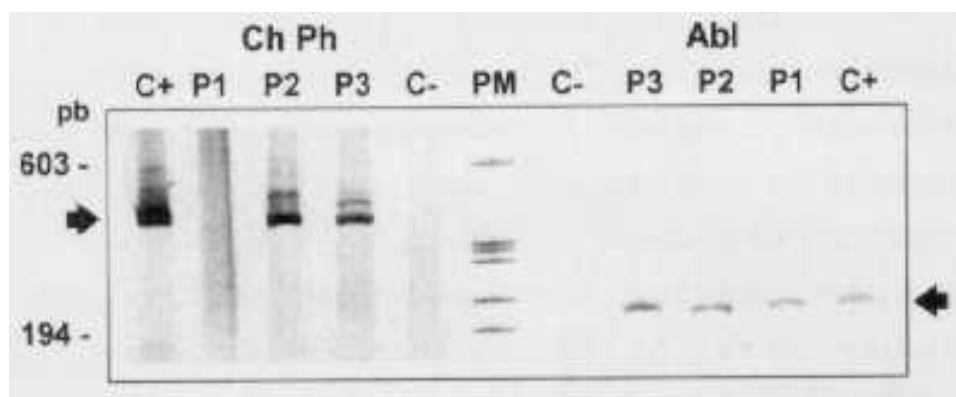
Ao se tornar clinicamente exuberante, a LMC também pode ser confirmada com exames que procuram ratificar o hemograma, tais como a biópsia de medula óssea - que, nesta fase, revela hiper celularidade e possível fibrose - e o mielograma - que igualmente denota hiper celularidade, devido à ampliação do parênquima granulocítico.

Ao contrário do que se pode imaginar, ambos exames não são de importância decisiva para a confirmação da LMC, uma vez que existem diagnósticos mais precisos, como a pesquisa pelo cromossomo Ph e/ou pela fusão *bcr/abl* (Lorenzi, 2003), os quais serão descritos a seguir:

Diagnóstico pela citogenética clássica: uma das maneiras de detecção da LMC faz-se através da presença do cromossomo Philadelphia. Para este fim existem várias técnicas, como o cariótipo de bandas G e o FISH (*Fluorescence "In Situ" Hybridization*), que utiliza sondas fluorescentes com seqüências de *bcr* e *abl*. Esses exames são realizados, preferencialmente, com sangue medular e, alternativamente, pode ser usado o sangue periférico, porém a sensibilidade tende a cair bastante (Simpson et al, 2000; Hamerschlak, 2004).

Diagnóstico pelo estudo molecular: Os exames para detecção do gene quimérico utilizam DNA extraído de sangue periférico ou de medula óssea (no caso de doença residual mínima - DRM). Dentre as técnicas utilizadas, tem-se o “Southern blotting”, o “Northern blotting” e a RT-PCR (*Reverse Transcriptase - Polimerase Chain Reaction*), de caráter extremamente sensível e qualitativo (Simpson et al, 2000).

**Figura 2.3.1-C:** Diagnóstico molecular da fusão *bcr-abl* por RT-PCR



Fonte: Simpson et al, 2000.

Esta figura mostra a detecção da amplificação por RT-PCR da fusão *bcr/abl* de três pacientes (P1 a P3), na metade esquerda do gel. Os pacientes 2 e 3 são positivos, enquanto paciente 1 é negativo. C+ e C- indicam os controles da reação: um paciente sabidamente positivo e um tubo sem DNA, respectivamente. A metade direita do gel mostra os produtos de RT-PCR do gene *abl*, controle interno positivos, e setas indicam os produtos amplificados.

Com o método de RT-PCR pode ser observada uma correlação com os resultados genéticos superior aos outros métodos, e uma sensibilidade de detecção do arranjo também superior ( $1: 10 \times 10^6$ ), tornando-se um método padrão altamente sensível para diagnóstico de LMC, e muito útil na detecção de células leucêmicas residuais após quimioterapia ou transplante de medula óssea, bem como na confirmação dos diagnósticos citogenéticos iniciais falhos. Além disso, esse teste é um grande aliado à procura de melhores resultados terapêuticos, pois ajuda na definição do tratamento, podendo este ser mais ou menos agressivo, de acordo com o resultado de cada paciente.

Com o advento da técnica molecular, a pesquisa pelo cromossomo Ph deve ser realizada em conjunto com o estudo molecular. Isso se deve ao fato da citogenética clássica, além de incluir uma grande taxa de falhas na obtenção de metáfases analisáveis – o que implica na não visualização do cromossomo -, também possui caráter duvidoso, pelo fato de existirem casos em que o paciente, mesmo sendo Ph -, apresenta a doença<sup>3</sup>. Outro fator que desvaloriza esse procedimento é o fato de (assim como o mielograma) necessitar de punção da medula, o que é invasivo ao paciente. Assim, o diagnóstico cromossômico da LMC tem maior valia se for complementado pelo exame de biologia molecular para o arranjo *bcr/abl* (Simpson et al, 2000).

### **2.3.2: Fase Acelerada**

- **Características gerais**

As características crônicas da LMC costumam persistir por tempo médio de 3 a 6 anos. Sistemáticamente, a doença tende para uma fase de agravamento, tida como uma transição da fase crônica para a fase blástica, e onde o organismo encontra-se refratário à terapêutica: a fase acelerada (Lorenzi, 2003). Entretanto, não é um estágio essencial por onde a LMC deve cursar, pois há casos em que a fase blástica se sucede imediatamente após a fase de cronicidade (Bain, 1997).

---

Nota<sup>3</sup>: Como já foi dito, o rearranjo genético *bcr/abl* é responsável pela síntese de uma proteína anômala que desencadeia todo o quadro leucêmico. Assim, a doença relaciona-se com o gene, não se restringindo a presença do cromossomo Ph, pois este funciona somente como uma “via de acesso” para que a fusão quimérica ocorra.

- **Diagnóstico e evolução**

No geral, o agravamento dos sintomas na fase crônica é um indicativo de que a doença realmente entrou em estado de evolução, acarretando, assim, sérias mudanças na conformação do hemograma - o que tecnicamente indica a passagem para a fase acelerada.

Os sintomas sistêmicos e a evolução hematológica, que anteriormente eram bem controlados com tratamento medicamentoso, tornam-se resistentes à terapêutica e se exacerbam. Logo, a fase acelerada é um estágio bastante conturbado para o paciente, pois é durante ela que a LMC começa se apresentar de forma aguda (Bain, 1997).

Assim sendo, no hemograma pode-se perceber mieloproliferação progressiva às custas de todas as linhagens, principalmente no que diz respeito a granulocítica (Failace, 2003; Hutchison & Davey, 1999). A indicação hematológica crucial da transição da fase crônica para a acelerada é o aumento do número de basófilos e de blastos, seguido da soma destes e de promielócitos acima de 20% (Hashimoto & Silva, 2003). Com isso, há esplenomegalia crescente, e, mais raramente, linfadenopatia (Goldman & Ausiello, 2005).

Além dos dados citados acima, o quadro clínico da fase acelerada conta com o desenvolvimento da anemia, da trombocitose ou da trombocitopenia (nos piores prognósticos), febre e grande perda de peso.

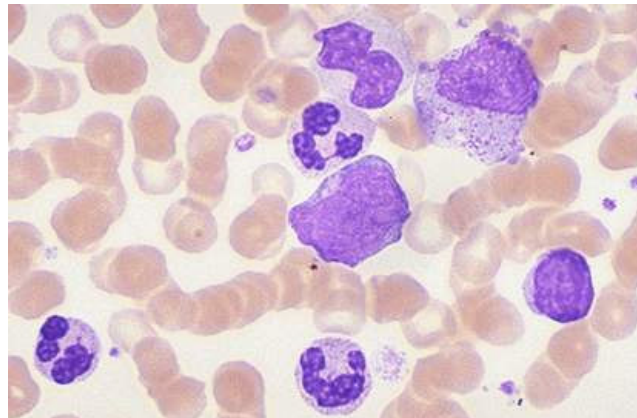
Com todas essas indicações, o hemograma é esclarecedor para ilustrar a evolução do paciente e a passagem deste por tal fase (Failace, 2003).

**Figura 2.3.2-A** Hemograma de LMC em fase acelerada, com um ano de evolução clínica.

|                |           |                 |
|----------------|-----------|-----------------|
| ERITRÓCITOS    | 3.740.000 | mm <sup>3</sup> |
| HEMOGLOBINA    | 10,9      | g/dL            |
| HEMATÓCRITO    | 35,1      | %               |
| LEUCÓCITOS     | 142.000   | mm <sup>3</sup> |
| Fórmula        | %         | absoluta        |
| Blastos        | 1,0       | 1.420           |
| Promielócitos  | 2,0       | 2.840           |
| Mielócitos     | 25,0      | 35.500          |
| Metamielócitos | 6,0       | 8.520           |
| Neutrófilos    |           |                 |
| bastonetes     | 28,0      | 36.760          |
| segmentados    | 29,0      | 41.180          |
| Linfócitos     | 3,0       | 4.260           |
| Monócitos      | 2,0       | 2.840           |
| Eosinófilos    | 1,0       | 1.420           |
| Basófilos      | 3,0       | 4.260           |
| PLAQUETAS      | 485.000   | mm <sup>3</sup> |

Fonte: FAILACE, Renato. *Hemograma - Manual de Interpretação*; 4ª edição, 2003.

**Figura 2.3.2 -B:** Esfregaço sangüíneo de paciente em fase acelerada mostrando dois mielócitos, um promielócito, alguns segmentados e um metamielócito



Fonte: <http://lectures/cml.jpg>

[www.pathguy.com/](http://www.pathguy.com/)

O aumento considerável da hepatomegalia e da esplenomegalia dá-se devido à maior infiltração desses órgãos por células mielóides, principalmente mielócitos e promielócitos, o que é indicativo de que a doença está se encaminhando para a fase blástica (Bain, 1997). Esse fenômeno pode ser explicado por uma falha na propriedade de adesão na medula que essas células adquirem por consequência da atuação da proteína como ação de tirosina-quinase (Lorenzi, 2003).

O exame histopatológico da medula óssea demonstra uma transformação nas séries mielóides a formas imaturas, que aumentam de número à medida que o paciente caminha da fase acelerada para a fase blástica da LMC. A medula óssea continua se apresentando hiper celular, e as contagens diferenciais mostram um espectro de granulócitos maduros e imaturos similares aos que se encontram em situações normais. Também se observam quantidades maiores de eosinófilos, megacariócitos ou basófilos, e às vezes há monocitose (*National Cancer Institute - NCI, 2005*).

- Anomalias genéticas adicionais

Como está sendo frisado em todo o capítulo, o organismo apresenta, com o passar do tempo, transformações correlatas com o andamento da LMC. Estas são, no geral, regidas por mutações genéticas, passíveis de acontecer à medida que a doença se agrava. Como exemplo, tem-se o fato de que o gene híbrido *bcr/abl* ainda promove a ativação de outros quatro genes: dois oncogenes (*c-myc* e *ras*) e dois antioncogenes (*Rb* e *p53*)<sup>4</sup>, os quais

---

Nota<sup>4</sup>: Os genes *Rb* e *p53* são denominados de **genes supressores de tumor**. Assim, uma das causas de proliferação blástica na fase acelerada é a perda da função destes como reguladores do crescimento celular, o que se dá por intermédio de lesões genéticas (Kumar & Cotran, 1994).

tornam-se responsáveis pela intensificação da atividade de tirosina-quinase, e, conseqüentemente, pela da proliferação blástica no organismo leucêmico. Outrossim, à proporção que a doença progride, outras mutações genéticas ocorrem em número de cada vez maior de células pluripotentes, de tal forma que, depois de meses ou anos, a LMC abandona totalmente suas características de cronicidade, adquirindo a forma agudizada (Kumar & Cotran, 1994; Lorenzi, 2003).

Essas transformações genéticas são, talvez, o ponto cerne da doença, pois definem o curso que ela seguirá, bem como o prognóstico do paciente, o que tem grande valia na escolha do tratamento adequado.

### **2.3.3: Fase Blástica**

- **Características gerais**

A transformação da fase acelerada em fase blástica é, como já foi dito, fundamentalmente regida por anomalias cromossômicas – tais como isocromossomo 17q, trissomia do cromossomo 8 e duplicação do cromossomo Ph, além das citadas anteriormente - que repercutem, sobretudo, na ampliação do parênquima blástico medular e periférico (Lorenzi, 2003).

- **Diagnóstico e evolução**

É válida a ressalva de que a passagem da fase crônica para a fase acelerada, e posteriormente para a fase blástica, pode ocorrer durante um período de tempo considerável (em torno de um ano), ou surgir bruscamente (*National Cancer Institute - NCI, 2005*).

Como primeiros indícios de transformação blástica, tem-se uma mudança significativa no aspecto do hemograma, o que implica em uma progressiva deterioração no quadro evolutivo da doença. O hemograma ainda apresenta leucocitose, porém com diminuição no contingente das células maduras, e crescente número de blastos - os quais somam mais de 30% na circulação sanguínea. A trombocitose dá lugar a trombocitopenia, a qual passa a ser freqüente, com contagem plaquetária abaixo de 100.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>. O número de eosinófilos encontra-se extremamente alto, e a basofilia é dominante (Failace, 2003; *National Cancer Institute - NCI, 2005*).

Uma das mais marcantes características dessa fase é a real instalação do quadro de anemia, podendo esta passar a ser macrocítica e megaloblástica por carência de ácido fólico (folato), tendo como causa a intensa proliferação blástica<sup>5</sup>. Assim, os achados hematológicos que remetem a isso são o aumento do VCM, do HCM e a presença de neutrófilos hipersegmentados (Hashimoto & Silva, 2003).

---

Nota<sup>5</sup>: Quando uma célula prolifera, ela duplica seus cromossomos, e, para isto, são necessárias bases nitrogenadas, dentre elas a timina, cuja via metabólica de síntese é dependente da vitamina B12 e do ácido fólico. Contudo, as reservas desta vitamina no organismo são escassas e, com a intensa proliferação celular, pode haver a sua falta, o que acarreta uma anemia megaloblástica por deficiência de folato.

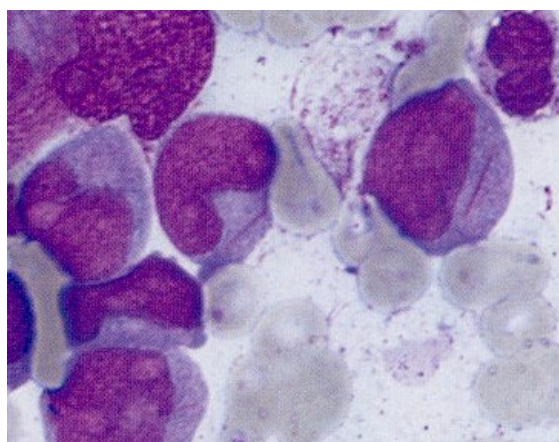
O hemograma converte-se, aos poucos, em um quadro semelhante ao de uma leucemia aguda, ou seja, uma doença de evolução agressiva em suma pela grande presença de blastos no sangue periférico, isso porque a sua instalação em um organismo antes em fase blástica da LMC é, pelo próprio andamento desta, o destino de todos os pacientes que sobrevivem até essa etapa da doença (Failace, 2003).

**Figura 2.3.3-A:** Hemograma de LMC iniciando o surto blástico.

|             |           |                 |
|-------------|-----------|-----------------|
| ERITRÓCITOS | 2.240.000 | mm <sup>3</sup> |
| HEMOGLOBINA | 7,6       | g/dL            |
| HEMATÓCRITO | 22,3      | %               |
| VCM         | 99,6      | fL              |
| HCM         | 33,9      | pg              |
| LEUCÓCITOS  | 8.800     | mm <sup>3</sup> |
| Fórmula     | %         | absoluta        |
| Blastos     | 32,0      | 2.816           |
| Mielócitos  | 4,0       | 352             |
| Neutrófilos |           |                 |
| bastonetes  | 4,0       | 359             |
| segmentados | 18,0      | 1.584           |
| Monócitos   | 8,0       | 704             |
| Eosinófilos | 1,0       | 88              |
| Basófilos   | 12,0      | 1.056           |
| PLAQUETAS   | 42.000    | mm <sup>3</sup> |

Fonte: FAILACE, Renato. *Hemograma - Manual de Interpretação*. 4º edição, 2003.

**Figura 2.3.3 – B:** Esfregaço sanguíneo de paciente em fase blástica mostrando mielócitos, promielócitos, um metamielócito e grande quantidade de blastos



Fonte: [http:// www.uni-ulm.gov](http://www.uni-ulm.gov)

Como pode ser observado, a contagem leucocitária caiu, adquirindo quantidades muito inferiores em comparação com as outras fases, as quais apresentam características de cronicidade. Isso porque, nas leucemias crônicas, a medula não é capaz de regular a proliferação celular, e/ou a célula anômala não entra em processo de apoptose, acumulando-se no sangue periférico. Já nas leucemias agudas, a célula perde a capacidade de maturação, e o sangue fica povoado por blastos, os quais possuem sobrevida menor do que as células maduras (Hashimoto & Silva, 2003).

Logo, os padrões morfológicos da fase blástica da LMC lembram os da Leucemia Mielóide Aguda (LMA) na maioria dos casos. No entanto, em aproximadamente um terço destes, a LMC comporta-se como uma Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), apresentando, assim, blastos linfóides. Além disso, a LMC em fase blástica também pode possuir comportamento misto (mielóide e linfóide ao mesmo tempo), o que não é comumente encontrado (Davey & Hutchison, 1999).

Os sintomas presentes na fase terminal da doença são bastante graves, como febre alta, dores ósseas e articulares, sangramentos múltiplos por plaquetopenia, trombozes, manifestações neurológicas diversas, anemia intensa, insuficiência medular, infecções, e até septicemia. Persiste a dor no hipocôndrio esquerdo (por esplenomegalia ou infartos esplênicos), e, no exame físico, percebe-se o baço maior do que 10 cm do rebordo costal (Simpson et al, 2000).

À nível de diagnóstico, ao chegar nesta fase, a LMC exige reavaliação da medula óssea, a qual apresenta hiper celularidade blástica não-escalonada, hiperplasia mielóide (e até de outras linhagens) e aumento da fibrose; o comportamento hematológico também segue o de uma leucemia aguda: o paciente apresenta anemia, neutropenia e trombocitopenia. Esta tríade é a principal causa de morte, que, na maioria das vezes dá-se por processo infeccioso (com aumento da enzima Fosfatase Alcalina) e/ou por hemorragias diversas (Hashimoto & Silva, 2003).

#### **2.3.4: Exames a serem realizados**

A fim de buscar um controle da doença, aliado a terapêutica, os exames abaixo devem ser realizados, obedecendo ao período de tempo estabelecido:

- LMC em todas as fases - semanalmente, até a estabilização dos índices hematológicos: exame físico, hemograma completo.
- **LMC em fase crônica (FC) - hemograma de 1/1 mês e mielograma de 6/6 meses, com exame de citogenética (inclusive com percentual de células com o cromossomo Philadelphia).**
- LMC em fase acelerada (FA) - hemograma de 1/1 mês e mielograma de 3/3 meses, com exame de citogenética (inclusive com percentual de células com o cromossomo Philadelphia).
- **LMC em fase blástica (FB) - hemograma semanal até a remissão hematológica; depois, mensal. Mielograma de 3/3 meses, com exame de citogenética (inclusive com percentual de células com o cromossomo Philadelphia)<sup>6</sup> (Instituto Nacional do câncer – INCA, 2003).**

---

Nota<sup>6</sup>: Os exames moleculares podem ser realizados ou não, dependendo da evolução da doença.

## **2.4: Patogenias citogenéticas e moleculares**

A seqüência *bcr/abl* e a proteína P210 podem ser encontradas em casos sem alteração citogenética ou com alterações diferentes da translocação t(9,22), isto é sem cromossomo Ph. Nesses casos a taxa de sobrevida e a resposta ao tratamento é igual aos pacientes com Ph +.

A LMC atípica com Ph- e *bcr/abl*- tem história natural diferente da LMC Ph+ ou Ph- com *bcr/abl*+, assemelhando-se mais com pacientes com mielodisplasia e mielofibrose, apresentando, assim, péssimo prognóstico.

Enfim, há três grupos diferentes de pacientes com LMC:

- Ph+, *bcr/abl* +
- Ph-, *bcr/abl* +
- Ph-, *bcr/abl* - (Goldman & Ausiello, 2005).

No entanto, é importante mencionar que a divisão acima não necessariamente influi no prognóstico do paciente, e que, na verdade, pouco se sabe sobre isso, já que é a

quantidade de informações a respeito é escassa, além de discordante, variando, muitas vezes, de autor para autor.

## **2.5: Estatísticas e incidência**

Sendo responsável por cerca de 15% de todas as leucemias, a LMC incide, preferencialmente, na quarta e quinta décadas de vida, predominando ligeiramente no sexo masculino (proporção homem/mulher de 1,7: 1) e em indivíduos brancos. É Ph<sub>1</sub>+ em mais de 90% desses casos, apresentando, assim, frequência em torno de uma em 100.000 pessoas. É diagnosticada cerca de 8 mil vezes ao ano (*National Cancer Institute - NCI, 2005*), e menos de 10 a 15% dos pacientes recém-diagnosticados apresentam-se com LMC na fase acelerada ou na fase blástica original (Hashimoto & Silva, 2003).

É rara em adolescentes e adultos jovens, e mais rara ainda na infância, tendo frequência média de uma em 1 milhão de crianças até os 10 anos de idade. No entanto, ao incidir, a doença tem evolução clínica muito severa, cursando com quadro de hemorragias, e oferecendo sobrevida curtíssima ao paciente. Esses casos são, no geral, classificados como LMC infantil, e costumam ser Ph<sub>1</sub><sup>-</sup>, fato que explica seu péssimo prognóstico.

Para os casos clínicos Ph<sub>1</sub>+, a sobrevida na fase crônica é de 4 a 6 anos, com oscilação de menos de um ano a mais de 9 anos. Já a sobrevivência média após a instalação da fase acelerada é de menos de 1 ano

Após a transformação blástica (ainda em casos Ph+), a resistência à doença varia entre algumas semanas a alguns meses (média histórica de seis meses). As únicas exceções são os casos que evoluem para crise blástica de origem linfóide, em que as taxas de resposta ao tratamento estão em torno de 40% - 70%, com durações das remissões em torno de 6 a 12 meses, e sobrevida mediana variando de 9 a 12 meses. Entretanto, o paciente fatalmente vem a óbito (Lorenzi, 2003).

**Capítulo III:**

**Mesilato de**

**Imatinibe**

### **3.1: Acerca das possibilidades de tratamento da LMC**

Por muitos anos, a quimioterapia foi o tratamento de escolha para a LMC. A Hidroxiuréia e o Bussulfan (drogas de efeito citostático), funcionavam de maneira paliativa, pois controlavam o crescimento das células cancerígenas, mas nunca removiam a anomalia causativa ou evitavam que a doença progredisse para a fase aguda. Depois de um tempo considerável, surgiu a terapia biológica à base de IFN- $\alpha$ , que funcionou muito bem em prolongar a vida, mas fazia o paciente sentir como se estivesse sempre gripado, além de diversos outros efeitos colaterais. O IFN- $\alpha$  podia ser associado a outras terapias, mas não era capaz de evitar a eventual progressão fatal da doença, uma vez que, mesmo sendo capaz de provocar remissões citogenéticas, estas não eram suficientes para levar o paciente à cura. Assim, a única terapia reconhecidamente curativa disponível tem sido o transplante de medula óssea alogênico - cujas células são compatíveis com as do paciente, o que reduz consideravelmente o risco de rejeição. Somente com esse tratamento as células pluripotentes cancerígenas podem ser realmente eliminadas do corpo do paciente. Porém, é um procedimento difícil, pois os resultados do transplante dependem de múltiplos fatores como: o paciente (idade e fase da doença); o tipo de doador (singênico [gêmeos monozigóticos] ou alogênico [HLA compatível]); o esquema preparatório; e o tratamento pós-transplante (Wetzler et al, 2002). Desse modo, somente cerca de 20% dos pacientes com LMC podem ser curados desta maneira.

Até pouco tempo atrás, a maioria dos pacientes eventualmente morria da doença. Somente nos últimos 10 anos, progrediu-se de uma situação onde LMC era uniformemente fatal até uma conjuntura onde a doença é facilmente administrada, podendo ser até controlada em alguns casos (DeVita, 2004).

## **3.2: Mesilato de Imatinibe**

O **Mesilato de Imatinibe** (STI-571), comercialmente conhecido como Glivec<sup>®</sup>, foi desenvolvido no final da década de 90 pela empresa farmacêutica suíça Novartis (a qual detêm sua patente), sendo inicialmente chamado de CGP 57148 (Hamerchlak, 2004). É um agente antileucêmico que tem por característica marcante representar o melhor em termos de "terapia molecular focada" (*molecular targeted therapy*), ou seja, a propriedade de atuar diretamente na anomalia crítica neoplásica ao nível molecular (Dobbin & Gadelha, 2002; Lorand-Metze et al, 2003). Até poucos anos atrás (em torno de 5 anos), os tratamentos contra câncer tinham como alvo o DNA da célula e atacavam as células cancerosas, mas também afetavam as normais, causando efeitos colaterais intensos. As novas abordagens modificaram radicalmente o alvo de atenção, e agora as drogas possuem ação molecular, sendo dirigidas à célula doente, o que reduz a praticamente zero os efeitos colaterais freqüentes (Medina, 2003).

**Figura 3.3 – A:** Apresentação comercial do Mesilato de Imatinibe (Glivec).



Fonte: <http://www.oear.at>

O Mesilato de Imatinibe é comercializado nestas duas formas: tabletes de 100mg ou de 400mg.

O Mesilato de Imatinibe tem sido efetivamente utilizado no tratamento da LMC nos últimos quatro anos, como medicação de primeira linha para os casos de fase acelerada e fase blástica, e como segunda linha na fase crônica. Os pacientes em fase crônica somente podem fazer uso do Mesilato de Imatinibe após falha ou intolerância ao IFN- $\alpha$ , o que quer dizer resposta ineficiente ao fármaco ou problemas com toxicidade, resultando em não adaptação ao tratamento (Lorand-Metze et al, 2003).

Em maio de 2001, o *Food and Drug Administration* (FDA) - órgão norte-americano responsável pela autorização e fiscalização da comercialização de medicamentos e alimentos - aprovou o uso do Mesilato de Imatinibe (Glivec) para o tratamento da LMC em tempo recorde: dois meses e meio (DeVitta, 2004), obviamente após pesquisas e estudos de fases I e II, para o uso em doentes em fase blástica, em fase acelerada ou em fase crônica resistentes ou altamente intolerantes a IFN- $\alpha$ .

Paralelamente à FDA, ainda em 2001, as recomendações dos consultores do *National Institute for Clinical Excellence* do Reino Unido (NICE) para a utilização do Mesilato de Imatinibe foram as seguintes: 1) doentes de LMC em fase acelerada; 2) uso restrito a pesquisa para a LMC em fase crônica; e 3) manutenção de uso até decisão médica ao contrário, nos casos de doentes de LMC em fase blástica ou em fase crônica que já viessem tomando tal medicação. No entanto, em 2002 este instituto britânico deliberou o uso deste medicamento também para o tratamento de Leucemia Mielóide Crônica em fase blástica ou em fase crônica, com cromossomo Philadelphia (*bcr-abl*) positivo, por intolerância ou resistência ao IFN- $\alpha$ .

No mesmo ano de 2002, o Mesilato de Imatinibe também foi aprovado pela *The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products* (EMEA), um órgão europeu de

bastante renome, sob as mesmas condições impostas pelo NICE (Dobbin & Gadelha, 2002).

No Brasil, o Glivec foi aprovado em 2001 pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), sob a portaria SAS/MS 431, de 03/10/2001. As condições de aprovação foram as mesmas impostas pela FDA: medicamento de primeira linha de tratamento para doentes de LMC em fase acelerada ou em fase blástica e medicamento de segunda linha para doentes de LMC em fase crônica (SUS – ONCO, 2003).

A rápida aceitação deste antileucêmico, tanto nos órgãos competentes, quanto na comunidade científica, ocorreu pelo fato de a idéia da montagem de testes comparativos deste com terapias atuais encontrar resistência dos pacientes e da comunidade médica, uma vez que realmente não haveria motivo para não aprovar a droga rapidamente, tendo como base as informações disponíveis acerca dos testes e estudos já realizados com o fármaco, os quais demonstram grandes evoluções no combate à doença, somado ao fato de que os pacientes medicados estavam reagindo bem ao tratamento<sup>1</sup> (DeVitta, 2004).

Mesmo com os encorajadores resultados do Mesilato de Imatinibe no combate a LMC, esse fármaco ainda está restrito a uso adulto, pois tudo que diz respeito ao âmbito pediátrico é de caráter delicado, devendo ser examinado e estudado com muita cautela. Logo, a segurança e a eficácia do Mesilato de Imatinibe em pacientes com menos de 18 anos de idade não foram estabelecidas, e sequer ainda se definiu a dose adequada deste medicamento para o doente não adulto (Dobbin & Gadelha, 2002).

No Brasil, a decisão de não aprovação do Mesilato de Imatinibe para indivíduos não adultos foi tomada com base na discussão tida pelo INCA e a ANVISA com hematologistas brasileiros e representantes da Comissão Nacional de Ética na Pesquisa - CONEP. A idade mínima de 18 anos foi discutida e aprovada, tanto com base nos estudos realizados e em

curso sobre o Imatinibe, como nas normas da CONEP e do Conselho Nacional de Saúde - CNS. Em relação aos doentes menores de 18, que ainda não podem fazer uso desse medicamento, encontra-se em curso o Protocolo 103 “*Phase I Study in Children with Refractory/Relapsed Ph+ Leukemias pelo COG (Children's Oncology Group)*”, o qual está sendo avaliado pelo *National Cancer Institute* – NCI, EUA (SUS – ONCO, 2003).

Sabe-se que uma comissão de ética na população pediátrica é muito mais rigorosa do que na população adulta, e, de fato, os Comitês de Ética em Pesquisa só aceitam estudos na população pediátrica após a conclusão dos estudos em adultos, salvo se a indicação terapêutica for exclusiva para esse grupo.

---

Nota<sup>1</sup>: Um ponto interessante de se ressaltar é que o Mesilato de Imatinibe (Glivec) foi inicialmente testado em seres humanos, o que fez com que os benefícios para pacientes fossem imediatamente visíveis.

### **3.3: Farmacodinâmica**

Como foi abordado no capítulo anterior, o gene de fusão *bcr/abl*, patognomônico da LMC e resultante da translocação t(9,22), dirige a síntese de uma proteína com peso molecular de 210 kDa, diferente da convencional (p145) cuja função está principalmente relacionada com o crescimento celular e com a indução da apoptose.

- **Oncogenes suas influências na proliferação celular**

Os oncogenes codificam proteínas denominadas oncoproteínas, as quais se assemelham aos produtos normais dos protooncogenes - com exceção de que as oncoproteínas ainda são destituídas de importantes elementos reguladores (como as proteínas normais das quais são equivalentes) -, e sua produção nas células transformadas não depende de fatores de crescimento ou de outros sinais externos. Sendo a p210 uma oncoproteína (capítulo 2), possui, assim, participação ativa na regulação do crescimento celular, como sua análoga (Kumar & Cotran, 1994).

Em condições fisiológicas, a proliferação celular pode ser facilmente resolvida nas seguintes etapas:

- A ligação de um fator de crescimento a seu receptor específico na membrana plasmática;
- A ativação transitória e limitada do receptor do fator de crescimento, que, por sua vez, ativa várias proteínas transdutoras de sinais sobre o folheto interno da membrana plasmática;
- A transmissão do sinal reduzido através do citosol para o núcleo através de mensageiros secundários;

- A ativação e indução de fatores reguladores nucleares que iniciam a transcrição do DNA, e por fim a divisão celular.

Com esta base, pode-se facilmente identificar oncogenes e oncoproteínas como versões modificadas de seus equivalentes normais; e que estes apresentam papéis também alterados na cascata de transdução de sinais (Kumar & Cotran, 1994).

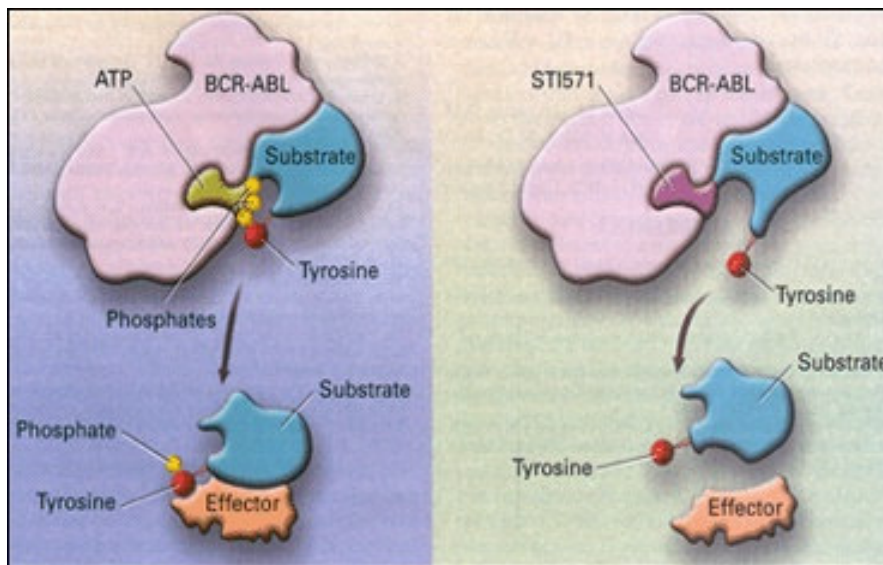
- **Mecanismo de ação do medicamento**

A proteína híbrida - codificada pelo RNAm também híbrido - possui atividade de tirosina quinase (TK) similar à proteína codificada pelo gene *abl*, sendo que mais intensa. Apresenta localização citoplasmática, diferente da convencional, que tem localização exclusivamente nuclear. Por causa dessa alta atividade específica e nova localização na célula, a proteína *bcr/abl* tem acesso a substratos citoplasmáticos que a proteína *abl* não tem, e os fosforila de uma maneira desordenada.

Para compreender como as mutações afetam a função destes receptores, deve ser lembrado que vários receptores do fator de crescimento são proteínas transmembrana com uma ligação ao ligante externo e um domínio tirosina quinase citoplasmático. Nas formas normais desses receptores, a atividade da quinase é transitoriamente ativada por ligação de seus fatores de crescimento específicos, seguida rapidamente pela fosforilação pela tirosina de vários substratos, que são uma parte da cascata mitótica. As versões oncogênicas desses receptores estão associadas à ativação persistente de da atividade da tirosina quinase do domínio citoplasmático sem ligação ao fator de crescimento. Portanto, as proteínas do receptor mutante enviam sinais mitogênicos contínuos para as células, o que ocasiona o crescimento descontrolado (Kumar & Cotran, 1994).

O Mesilato de Imatinibe é um inibidor seletivo das proteínas da família da tirosina quinase, incluindo a proteína *bcr/abl*, o receptor do fator de crescimento plaquetário e o receptor c-kit. Existe um grande número de enzimas TK em todo o organismo, incluindo o receptor para insulina. Porém, o Imatinibe é específico para as classes citadas acima. A droga liga-se competitivamente ao receptor da *bcr/abl*, dependente de ATP, e inibe a fosforilação da tirosina quinase, sendo assim um medicamento seletivo para inibir o clone Ph da LMC (Lorand-Metze et al, 2003).

**Figura 3.3 – B:** Mecanismo de ação da droga em relação à proteína com ação de tirosina-quinase.



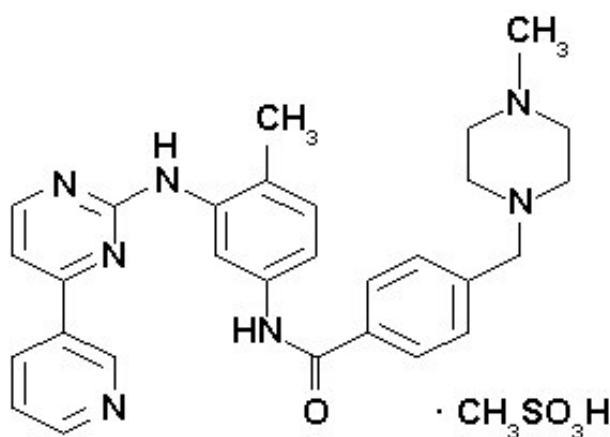
Fonte: <http://www.novartis.se>

O Imatinibe impede a fosforilação do substrato pela enzima TK anormal. Logo, ela não pode se ligar ao efetor, e assim causar a proliferação desordenada.

Embora este medicamento não atue diretamente na base da patogênese da LMC, impedindo a codificação do gene *bcr/abl*, age competindo pelo sítio de ligação do ATP da tirosina quinase, restaurando, assim, o mecanismo de morte celular. Durante estudos realizados *in vitro e in vivo* por Druker et al (1996), verificou-se que o Imatinibe reduzia entre 92 e 98% o número de colônias *bcr/abl*, mas sem inibir a formação de colônias normais (Hamerchlak et al, 2004).

O Mesilato de Imatinibe é um derivado de uma substância denominada 2-fenil-amino-pirimidina, de fórmula química  $C_{29}H_{31}N_7OCH_4SO_3$  e peso molecular de 589.7 u.m.a.. Seu metabolismo e excreção se dá por via hepática, através da enzima [CYP3A4](#), onde seu tempo de permanência no organismo é de, aproximadamente, 18 horas, sendo então eliminado pela bile ou pela urina. O estado natural desta droga é um pó esbranquiçado, e ao ser modificado para cápsulas, adquire a cor amarelo-castanha. (Dobbin & Gadelha, 2002).

**Figura 3.3 – C:** Fórmula estrutural do Mesilato de Imatinibe



Fonte: <http://en.wikipedia.org/wiki/Imatinib>

### **3.4: Implicações de sua utilização no tratamento da LMC**

O Mesilato de Imatinibe foi introduzido – porém de maneira parcialmente legal - na prática clínica em 1998, como a primeira terapia direcionada contra uma alteração molecular específica em neoplasia (Lorand-Metze et al, 2003). A partir daí, seus efeitos no organismo leucêmico vêm sendo estudados e avaliados - por intermédio tanto de pesquisas, quanto de avaliações clínicas -, a fim de que se chegue a um consenso geral acerca da relação existente entre os benefícios tragos com seu uso e o que este pode acarretar ao paciente, obviamente no que diz respeito à LMC<sup>2</sup>.

As observações sobre o tratamento à base de Mesilato de Imatinibe, que neste tópico serão apresentadas, foram obtidas a partir do levantamento de dados de diversos artigos científicos, que tiveram por objetivo avaliar um determinado número de pacientes portadores de LMC e como estes reagiram ao tratamento com tal fármaco, o que quer dizer, principalmente, capacidade de resposta citogenética e hematológica, além da frequência de aparecimento de efeitos colaterais. Assim, os resultados obtidos foram articulados com a quantidade diária de medicamento ingerida (em miligramas); o tempo passado entre o diagnóstico e o início do tratamento; a fase da doença; e até a idade do paciente (Lorand-Metze et al, 2003).




---

Nota<sup>2</sup>: O Mesilato de Imatinibe também é utilizado para o tratamento de um tumor raro na região gastrointestinal (GIST).

### **3.4.1: Relação entre dosagem, efeitos colaterais e fase da doença**

A dosagem diária do Imatinibe varia de acordo com a fase em que o paciente se encontra, e, mais tardiamente, com o nível de toxicidade apresentado por este. Usualmente, o medicamento possui três dosagens principais: 400mg/dia, para pacientes em fase crônica; e 600mg/dia a 800mg/dia, para pacientes em fase acelerada ou blástica, respectivamente.

**Figura 3.4.1 – A:** Dosagem diária do medicamento.

| 400mg/day   | 600mg/day  | 800mg/day  |
|---|--|--|
|  |  |  |
| 1 tablet<br>a day   | 1 ½ tablets<br>a day   | 1 tablet<br>twice a day  |

Fonte: <http://www.oeaz.at>

Em caso de toxicidade ao Mesilato de Imatinibe, a dose diária pode ser reduzida ao mínimo de 300mg/dia, pois doses abaixo desta não apresentam efeito terapêutico. Se o grau de toxicidade impuser a suspensão temporária do medicamento, pode-se, superado o efeito tóxico, reiniciá-lo com a dose mínima (Hamerchlak et al, 2004).

Toxicidade e efeitos colaterais estão intimamente relacionados, uma vez que as implicações advindas da toxicidade resultam em diversas reações adversas. Toxicidade (neste tipo de tratamento) diz respeito, principalmente, a neutropenia e trombocitopenia, o que se articula com inibição do crescimento desordenado, tanto de leucócitos (maioria neutrófilos), quanto de plaquetas - visto que o medicamento age também na inibição do receptor para o fator de crescimento plaquetário. Como exemplo disso, tem-se o relato de

um paciente que adquiriu edema cerebral após fazer uso deste medicamento, e tal incidente foi provavelmente causado por uma baixa significativa em sua contagem plaquetária.

Como qualquer outro esquema de terapia antineoplásica, o tratamento a base de Mesilato de Imatinibe pode trazer diversos efeitos colaterais, os quais podem ser freqüentes, pouco freqüentes, ou raros. Dentre os mais freqüentes, estão: mal estar, cefaléia, aumento de peso; fraqueza; tontura; calafrios; diarréia; câimbras; ansiedade; fadiga; hiperlacrimação; insônia. Dentre os pouco freqüentes e raros, estão: anorexia; desidratação; depressão; diminuição da libido; tontura; sonolência; alterações no paladar; vertigem; confusão mental; hematomas; icterícias; taquicardias; e até edemas, convulsões, feridas cutâneas ou hemorragias.

Os estudos demonstram que a toxicidade mais observada é a neutropenia, e que náusea foi muito freqüente entre os pacientes em fase acelerada ou crise blástica, provavelmente pelas altas doses de medicamento usadas. Além disso, é comprovado que quanto mais avançada a doença, mais graves são as reações colaterais, tanto pela evolução do quadro clínico, como pela alta dose do fármaco.

Mesmo assim, tem-se sugerido como *clinical trial* que a dose de Mesilato de Imatinibe seja duas vezes a dose padrão, pelo menos para terapia inicial da LMC em fase crônica. Os resultados de um estudo com dois grupos de doentes nesta fase, tratados respectivamente com 400mg/dia e 800mg/ dia, mostraram que dose de 800mg/dia relacionou-se com uma maior porcentagem de resposta citogenética completa e resposta citogenética maior, mas também com maior incidência de efeitos colaterais (Dobbin & Gadelha, 2002).

### 3.4.2: Relação entre resposta hematológica, resposta citogenética, dosagem diária e fase da doença

- **Definição de resposta terapêutica**

A Resposta Hematológica corresponde à redução de 50% da leucometria inicial, mantida pelo menos durante duas semanas. A Resposta Hematológica Completa dá-se quando a leucometria fica abaixo de 10.000/mm<sup>3</sup>; há ausência de promielócitos ou mieloblastos; presença de menos de 5% de mielócitos ou metamielócitos; e plaquetometria em torno de 450.000/mm<sup>3</sup>. Tudo isso, mantido por pelo menos quatro semanas.

Já a Resposta Citogenética pode ser Ausente (>90% de células com cromossomo Ph positivo); Menor (35% a 90% de células com cromossoma Ph positivo); Parcial (5% a 34% de células com cromossoma Ph positivo); Completa (0% de células com cromossoma Ph positivo); e Maior, que corresponde à soma de Completa mais Parcial, isto é, com <35% de células com cromossoma Ph positivo (Instituto Nacional do Câncer – INCA, 2003).

- **Resultados obtidos**

Os estudos comprovaram que, no geral, a resposta hematológica ao Imatinibe na LMC em fase crônica gira em torno de 99%; em fase de transformação em torno de 69%; e, em fase blástica, em torno de 53%. Porém, está é uma resposta hematológica de curta duração e sem a correspondente resposta citogenética.

Em uma pesquisa mais detalhada, mostrou-se que entre os 454 pacientes com LMC crônica que tomaram uma dose acima de 400mg/dia da droga, 95% tiveram resposta hematológica completa e 60% tiveram resposta citogenética maior em apenas 4 semanas de terapia. Os outros quarenta por cento do total de pacientes tiveram resposta citogenética

completa (Tsao et al, 2002). Assim, pode-se perceber que quanto maior a dosagem, maior o teor responsivo do paciente ao tratamento.

No entanto, a qualidade das respostas (hematológicas e citogenéticas) também está relacionada com o intervalo entre o diagnóstico e início do tratamento. O grupo de pacientes citado anteriormente começou a fazer uso do medicamento cerca de 3 meses após o diagnóstico, por isso tão bons os resultados da pesquisa. Como parâmetro, tem-se outro grupo de pacientes (também em fase crônica) que começou a fazer uso do medicamento um certo tempo depois do diagnóstico. Neste contingente, pode-se perceber que a resposta citogenética foi pouco freqüente.

Já na fase acelerada e na fase blástica, os resultados continuam sendo muito bons se comparados a outros esquemas terapêuticos envolvendo antileucêmicos. Com a dose do medicamento elevada para 800mg/dia, mais da metade dos pacientes tiveram remissão hematológica completa. Entretanto, a remissão citogenética da LMC induzida pelo Imatinibe nestas fases, na maioria das vezes é pouca, além de curta, e isto é devido à reativação do *bcr/abl*, o que caracteriza a resistência ao medicamento. Assim, somente cerca de um décimo dos pacientes destas fases alcançam completa remissão, chegando a retroceder para a fase crônica (Instituto Nacional do Câncer - INCA, 2003).

- **Resistência ao fármaco**

A identificação de resistência da LMC ao Imatinibe tem levado à intensa pesquisa sobre os seus mecanismos, e de que forma essa resistência pode ser prevenida (Instituto Nacional do Câncer - INCA, 2003). Sabe-se que há dois tipos de resistência: aquela na qual não há resposta desde o início da ingestão do medicamento (resistência primária); e aquela na qual a célula se torna resistente posteriormente. Suspeita-se que a resistência primária

advém de mutações secundárias no *bcr/abl*, que causam independência no processo de proliferação celular, ou numa não efetiva inibição da proteína p210. A resistência adquirida ocorre depois que a resposta celular fica mais complicada, e envolve outros mecanismos mais complexos, sendo observada nos estágios avançados da LMC.

A resistência ao Imatinibe pode ser multifatorial: por superexpressão da proteína *bcr/abl*; por amplificação deste oncogene; por metabolismo alterado do Imatinibe; e por mecanismo de transporte e metabolismo. Além desses, outros tipos de resistência *in vitro* ao Imatinibe também já haviam sido identificados, como a Resistência a Múltiplas Drogas (MDR); pela Glicoproteína P (Pgp); e por mutações compensatórias por outros genes. Todavia, também já se sabe que o mecanismo de resistência *in vivo* ao Imatinibe é causado pela AGP, uma proteína plasmática que não é encontrada nas células leucêmicas, mas sim no plasma de murinos (gene anômalo) (Dobbin & Gadelha, 2002).

Desse modo, várias terapias têm sido descritas e analisadas com o intuito de superar a resistência celular à droga em questão. Entre estas, pode-se citar a combinação do STI-571, desde com blocos de proteínas que funcionariam como “armadilhas”, até com outros agentes antineoplásicos<sup>3</sup>. No entanto, são todas bastante experimentais e rudimentares.

---

Nota<sup>3</sup>: Como foi mencionado anteriormente, o Imatinibe é predominantemente metabolizado no fígado pelo sistema CYP304/5. Níveis plasmáticos reduzidos de Imatinibe ocorrem em pacientes tratados concomitantemente com indutores dessa enzima, diminuindo sua eficácia. Já drogas que inibem a enzima aumentam os níveis de Imatinibe no organismo, aumentando seu poder de atuação no organismo. Essas informações são utilizadas nas pesquisas de resistência ao medicamento (Lorand-Metze et al, 2003).

### 3.4.3: Avaliação dos fatores que influenciam na resposta ao Mesilato de Imatinibe

Analisando-se o intervalo entre o diagnóstico e o tratamento nas diversas fases da doença, percebe-se que quanto mais precocemente (após o diagnóstico) se dá o uso do Mesilato de Imatinibe, melhores são os resultados obtidos. Assim sendo, os pacientes em fase crônica que iniciam o tratamento mais precocemente, obtêm melhores resultados que os pacientes em fase acelerada ou em crise blástica. Além disso, as maiores remissões e a ausência de efeitos colaterais foram encontradas entre os pacientes mais jovens, o que remete a idéia de que a idade pode ser um fator relacionado com a eficácia da terapêutica em questão. Logo, estes resultados sugerem que os melhores efeitos do medicamento se dão na fase inicial da LMC, e que o Imatinibe seria útil como antileucêmico de primeira linha, uma vez que, além de sua utilização precoce aumentar a sobrevida do paciente, o uso mais tardio e em fases mais avançadas também está associado a maior frequência de resistência à medicação (Hamerchlak et al, 2004).

## Conclusões

A Leucemia Mielóide Crônica foi a primeira neoplasia hematológica a ter sua raiz genética desvendada - fato que ocorreu em 1970, com a descoberta do cromossomo Philadelphia -, e, sem sombra de dúvida, também foi a primeira a possuir um medicamento de tamanha eficácia, se comparado aos utilizados anteriormente.

Por intermédio de estudos e pesquisas, pôde-se perceber que o Mesilato de Imatinibe apresenta ação comprovada no que diz respeito à terapêutica da LMC. No entanto, existem algumas questões que só poderão ser respondidas com o tempo, uma vez que seus efeitos a longo prazo não são conhecidos.

Assim, dentre os questionamentos mais freqüentes encontram-se os relacionados com a resposta citogenética e a sobrevida do paciente. Como já se sabe, o Imatinibe induz o organismo leucêmico a remissões citogenéticas. Porém, somente nos próximos anos é que se poderá verificar se o grau de positividade da resposta citogenética corresponde a uma maior sobrevida do doente. Um modelo hipotético que prevê a sobrevida a longo prazo de doentes de LMC em fase crônica resistentes ao IFN- $\alpha$ , e posteriormente tratados com Imatinibe, mostram que a sobrevida mediana estimada é maior naqueles que podem alcançar resposta citogenética maior.

Outra vertente da utilização do Mesilato de Imatinibe que também não está definida se relaciona com o transplante de medula óssea. Como a capacidade que tal fármaco possui de prolongar a sobrevida dos doentes de LMC - comparativamente a IFN- $\alpha$  - ainda não foi estabelecida, o transplante de medula óssea alogênico deve continuar a ser indicado em doentes selecionados, ainda sendo o único tratamento efetivamente curativo para a doença.

Mais um ponto ainda não definido gira em torno da resistência ao fármaco observada em alguns pacientes, e como esta pode ser contornada. Em relação a essa situação, pesquisas em andamento indicam que a combinação do Imatinibe com outros antineoplásicos obterá ótimos resultados.

Deve-se admitir que, para a indicação do Mesilato de Imatinibe como terapia de primeira linha da LMC em fase crônica, ainda persistem diversas dúvidas e questionamentos acerca dos rumos que este tipo de tratamento deve seguir. No entanto, o que se pode perceber é uma forte tendência de que, futuramente, ele seja associado a altas taxas de resposta e, conseqüentemente, a altas taxas de sobrevida a longo prazo, além de aceitável custo por qualidade de vida, quando comparado com outros medicamentos antineoplásicos.

# **Bibliografia**

BARBOZA, Luciana P. et al. **Análise dos Transcritos da Translocação t(9;22) em Leucemia Mielóide Crônica.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 2000, 22(2): 89-98.

DAVEY & HUTCHISON. **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais.** 19. ed. São Paulo, Manole, 1999.

DOBBIN, Jane de Almeida; GADELHA, Maria Inêz P. **Mesilato de Imatinibe para Tratamento da Leucemia Mielóide Crônica.** Revista Brasileira de Cancerologia, 2002, 48(3): 429-438.

FARHAT, Calil Kairalla. **Fundamentos e Práticas das Imunizações em Clínica Médica e Pediátrica.** Rio de Janeiro/São Paulo, Atheneu, 1985.

GOODMAN & GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica.** 8. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991.

HAMERSCHLAK, Nelson et al. **Leucemia Mielóide Crônica e Imatinibe: 48 Meses de Evolução.** Artigo Científico (Hospital Israelita Albert Einstein), 2004.

INCA – Instituto Nacional de Câncer. **Leucemia Mielóide Crônica.** Revista Brasileira de Cancerologia, 2003, 49(1): 5-8.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, José. **Histologia Básica.** 9. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1995.

KUMAR, Vinay; COTRAN, Ramzi S.; ROBBINS, Stanley L.. **Patologia Básica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1994.

LIMA, A. Oliveira et al. **Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica: Técnica e Interpretação**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2001.

LORAND-METZE, Irene et al. **Análise do Uso do Imatinib (STI-571) em Pacientes com Leucemia Mielóide Crônica**. Artigo Científico (Unicamp), 2004.

LORAND-METZE, Irene et al. **Fatores que Influem na Resposta Citogenética com o Uso do Imatinibe em Pacientes com Leucemia Mielóide Crônica**. Artigo Científico (Hemocentro/Unicamp), 2003.

LORENZI, Therezinha F. **Manual de Hematologia Propedêutica e Clínica**. 3. ed. Rio de Janeiro, Medicina Científica, 2003.

MOURA, Roberto de Almeida et al. **Técnicas de Laboratório**. 3.ed. São Paulo, Atheneu, 2002.

SIMPSON, Andrew J. G. et al. **A CO-Evolução da Terapêutica e do Diagnóstico Molecular da Leucemia Mielóide Crônica**. Artigo Científico, 2001.

SOUZA, Cármino Antônio de; PAGNANO, Katia. **Os Desafios no Tratamento da Leucemia Mielóide Crônica na era do Mesilato de Imatinibe**. Artigo Científico (Hemocentro/Unicamp), 2004.

VERRASTRO, Therezinha. **Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica**. Rio de Janeiro, Atheneu, 2002.