

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Amanda Silva de Melo

**LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA:
ASPECTOS MOLECULARES, LABORATORIAIS E TERAPÊUTICOS**

São Paulo
2023

Amanda Silva de Melo

**LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA:
ASPECTOS MOLECULARES, LABORATORIAIS E TERAPÊUTICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Profa. Dra. Juliana Vieira dos Santos Bianchi, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**São Paulo
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Melo, Amanda Silva de

Leucemia mieloide crônica: aspectos moleculares, laboratoriais e terapêuticos / Amanda Silva de Melo. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.

43 p.

Orientação de Juliana Vieira dos Santos Bianchi.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Leucemia mielogênica crônica BCR-ABL positiva 2. Leucemia mielogênica crônica BCR-ABL positiva – antagonistas e inibidores 3. Leucemia mielogênica crônica BCR-ABL positiva – diagnóstico 4. Leucemia mielogênica crônica BCR-ABL positiva – terapia 5. Mesilato de imatinib I. Bianchi, Juliana Vieira dos Santos II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.99419

AGRADECIMENTOS

Desejo dedicar este trabalho à minha estimada mãe, que dedicou sua existência ao propósito de presenciar o prosseguimento acadêmico de sua filha no ensino superior. Lamentavelmente, sua partida ocorreu ao longo da minha jornada acadêmica. Ela permanece como a figura mais significativa em minha vida.

Gostaria de expressar minha sincera gratidão a todos que tornaram este trabalho uma realidade.

Aos meus irmãos, manifesto minha sincera gratidão pelo apoio incondicional, compreensão e incentivo ao longo de todo o processo de elaboração deste TCC. Seu suporte foi indispensável para superar os desafios enfrentados.

Ao meu companheiro de vida, que incansavelmente me encorajou e proporcionou as condições físicas e psicológicas necessárias para a conclusão deste trabalho, expressei meu sincero agradecimento.

À minha orientadora Profa. Dra. Juliana Vieira dos Santos Bianchi pela dedicação, paciência e orientação valiosa ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Seu comprometimento e insights foram fundamentais para a conclusão deste estudo.

Aos professores e colegas de curso, que contribuíram com discussões construtivas e troca de experiências, enriquecendo assim o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço também ao Centro Universitário São Camilo, por fornecer o ambiente propício para o aprendizado e pesquisa, bem como por disponibilizar recursos essenciais para a realização deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos os amigos e pessoas que, de alguma forma, contribuíram para o sucesso deste trabalho. Cada palavra de incentivo e suporte foi essencial. Que este seja apenas o início de uma jornada repleta de aprendizados e conquistas.

Amanda Melo

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Incidência específica da LMC por idade nos Estados Unidos entre 2009 e 2013 | 13 |
| Figura 2: Número e proporção de óbitos por Leucemia no Brasil, de acordo com o tipo de Leucemia, entre 2008 e 2017..... | 14 |
| Figura 3: Formação do gene quimérico BCR-ABL | 16 |
| Figura 4: Vias de sinalização e propriedades biológicas de células BCR-ABL positivas. | 19 |
| Figura 5: Vias de sinalização do oncogene BCR-ABL | 21 |
| Figura 6: Caquexia e hepatoesplenomegalia em doenças mieloproliferativas crônicas. | 23 |
| Figura 7: Hemograma na LMC | 25 |
| Figura 8: Cariótipo na LMC | 26 |
| Figura 9: Identificação do gene BCR-ABL pelo método de FISH..... | 27 |
| Figura 10: Mecanismo de inibição da enzima tirosina quinase BCR-ABL..... | 31 |

LISTA DE SIGLAS

| | |
|---------|--|
| LMC | Leucemia Mieloide Crônica |
| Ph | Cromossomo Filadélfia |
| FC | Fase crônica |
| FB | Fase blástica |
| TCTH | Transplante de células tronco hematopoiéticas |
| ITK | Inibidores de tirosino quinase |
| BCR-ABL | Protoncogene da LMC |
| BCR | Região de Agrupamento de Pontos de Interrupção |
| ABL | Vírus da Leucemia Murina de Abelson |
| JAK | Proteínas Janus quinase |
| STATs | Fatores de transcrição de sinalização e ativação de Janus |
| SOS | Mecanismo de resposta de emergência ativado em células |
| GDP | Guanosina Difosfato |
| RAS | Família de protoncogenes envolvidos na transdução de sinal celular |
| GRB2 | Proteína adaptadora que participa de vias de sinalização |
| RAF | Kinases serina/treonina envolvidas nas vias de sinalização do RAS |
| MAPK | Quinase de Proteína Ativada por Mitógenos |
| ERK2 | Quinases Reguladas por Sinal Extracelular 1 |
| ERK1 | Quinases Reguladas por Sinal Extracelular 2 |
| PI3 | Fosfatidilinositol 3-quinase |
| AKT | Proteína quinase B |
| Mtor | Proteína alvo de rapamicina em mamíferos |
| Bcl-2 | Proteína antiapoptótica |

| | |
|---------------|---|
| Bcl-x | Proteína antiapoptótica pertencente à família Bcl-2 |
| Bad | Proteína pró-apoptótica da família Bcl-2 |
| NF-Kb | Fator Nuclear Kappa B |
| RT-qPCR | Transcrição Reversa e Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativo |
| FISH | Hibridização <i>in situ</i> por fluorescência |
| AcMO | Anticorpo monoclonal |
| mRNA | RNA mensageiro |
| FDA | Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA |
| ATP | Adenosina Trifosfato |
| PDGFR | Receptor para o fator de crescimento derivado de plaquetas |
| c-KIT | Protocogene que codifica um receptor de tirosina quinase |
| SCF | Fator de crescimento que se liga ao receptor c-KIT |
| Src | Proteína tirosina quinase envolvida em várias vias de sinalização |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| INCA | Instituto Nacional do Câncer |
| GTP | Guanosina trifosfato |
| GAP | Grupo de Afinidade Proteica |
| FAK | Proteína Quinase Ativada por Foco |
| CRK-L | Proteína Semelhante a Crk |
| RNA | Ácido Ribonucleico |
| FAP | Proteína ativadora de fatores de transcrição |
| INF- α | Interferon alfa |
| RHC | Remissão hematológica completa |
| RCC | Remissão citogenética completa |

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 8 |
| 2 | OBJETIVO | 10 |
| 3 | METODOLOGIA | 11 |
| 4 | DESENVOLVIMENTO | 12 |
| 4.1 | EPIDEMIOLOGIA..... | 12 |
| 4.2 | ETIOLOGIA..... | 14 |
| 4.3 | FISIOPATOGENIA..... | 15 |
| 4.3.1 | Aspectos moleculares do gene BCR..... | 17 |
| 4.3.2 | Aspectos moleculares do gene ABL..... | 17 |
| 4.3.3 | Aspectos moleculares do gene BCR-ABL..... | 18 |
| 4.3.4 | Aspectos biológicos do gene BCR-ABL..... | 18 |
| 4.3.5 | Propriedades de adesão e motilidade alteradas..... | 19 |
| 4.3.6 | Ativação mitogênica..... | 20 |
| 4.3.7 | Inibição da apoptose..... | 21 |
| 4.4 | DIAGNÓSTICO..... | 22 |
| 4.4.1 | Diagnóstico clínico e sintomatologia..... | 22 |
| 4.4.2 | Diagnóstico laboratorial..... | 23 |
| 4.4.2.1 | Hemograma..... | 23 |
| 4.4.2.2 | Mielograma..... | 25 |
| 4.4.2.3 | Biópsia de medula óssea (BMO)..... | 25 |
| 4.4.2.4 | Citogenética..... | 26 |
| 4.4.2.5 | Imunofenotipagem..... | 27 |
| 4.4.2.6 | Biologia molecular..... | 28 |
| 4.5 | TRATAMENTO..... | 28 |
| 4.5.1 | Histórico da terapia da LMC..... | 28 |
| 4.5.2 | Inibidores de tirosina quinase (TKI)..... | 31 |
| 4.5.2.1 | Inibidor de primeira geração..... | 31 |
| 4.5.2.1.1 | Imatinibe..... | 31 |
| 4.5.2.2 | Inibidores de segunda geração..... | 32 |
| 4.5.2.2.1 | Dasatinibe..... | 32 |
| 4.5.2.2.2 | Nilotinibe..... | 33 |
| 4.5.2.3 | Inibidores de terceira geração..... | 33 |
| 4.5.2.3.1 | Bosutinibe..... | 33 |
| 4.5.2.3.2 | Pronatinibe..... | 33 |
| 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 35 |

| | |
|------------------|----|
| REFERÊNCIAS..... | 36 |
|------------------|----|

RESUMO

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC), uma neoplasia mieloproliferativa, é causada pela translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, resultando no cromossomo Filadélfia (Ph) e no oncogene BCR-ABL. Não há agente etiológico definido, mas a exposição à radiação ionizante aumenta o risco. Com incidência de 1 a 2 pessoas por 100 mil ao ano, a LMC afeta predominantemente indivíduos de 55 a 60 anos.

A proliferação de células mieloides provoca manifestações clínicas, sendo o diagnóstico frequentemente na fase crônica. Anteriormente classificada em três fases, a LMC evoluiu nos aspectos de monitoramento e diagnóstico, destacando o alto risco de desenvolvimento para a fase blástica. Com inibidores de tirosina quinase, a incidência da fase acelerada diminuiu, alcançando uma taxa de sobrevida global de 80 a 90% em 10 anos. A nomenclatura da fase acelerada tornou-se menos relevante, omitida na classificação atual devido à ênfase nos critérios de alto risco. As opções terapêuticas incluem interferon-alfa, quimioterapia, transplante de células-tronco hematopoéticas e inibidores de tirosina quinase, sendo o mesilato de imatinibe o primeiro utilizado. Contudo, pacientes não responsivos podem recorrer a outros inibidores, como desatinibe e nilotinibe. O transplante de células-tronco hematopoéticas permanece como tratamento curativo, mas sua eficácia diminui com a idade, ampliando a dificuldade na busca por doadores histocompatíveis.

Palavras-chave: Leucemias, Leucemia Mielóide Crônica, LMC, inibidores da LMC, imatinibe, tratamento LMC, Diagnóstico LMC, biologia molecular da LMC.

ABSTRACT

Chronic Myeloid Leukemia (CML), a myeloproliferative neoplasm, is caused by reciprocal translocation between chromosomes 9 and 22, resulting in the Philadelphia chromosome (Ph) and the BCR-ABL oncogene. There is no defined etiological agent, but exposure to ionizing radiation increases the risk. With an incidence of 1 to 2 individuals per 100,000 per year, CML predominantly affects individuals aged 55 to 60. The proliferation of myeloid cells leads to clinical manifestations, with the diagnosis often occurring in the chronic phase. Formerly classified into three stages, CML has evolved in terms of monitoring and diagnosis, emphasizing the high risk of progression to the blast phase. With tyrosine kinase inhibitors, the incidence of the accelerated phase has decreased, achieving an overall survival rate of 80 to 90% over 10 years. The nomenclature of the accelerated phase has become less relevant, omitted in the current classification due to an emphasis on high-risk criteria. Therapeutic options include interferon-alpha, chemotherapy, hematopoietic stem cell transplantation, and tyrosine kinase inhibitors, with imatinib mesylate being the first choice. However, non-responsive patients may turn to other inhibitors like dasatinib and nilotinib. Hematopoietic stem cell transplantation remains a curative treatment, but its efficacy declines with age, increasing the difficulty in finding histocompatible donors.

Keywords: Leukemias, Chronic Myeloid Leukemia, CML, CML inhibitors, imatinib, CML treatment, CML diagnosis, molecular biology of CM

1 INTRODUÇÃO

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa de caráter clonal, causada pela translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22, originando o cromossomo denominado Filadélfia (Ph). Este cromossomo apresenta o oncogene híbrido BCR-ABL, estando presente em mais de 90% dos casos e codifica uma proteína com atividade tirosina quinase aumentada, que promove ativação de vias de sinalização mitogênica e inibe a apoptose (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008; ZERBINI et al., 2011).

Em 1960, Peter Nowell e David Hungerford estudiosos de células neoplásicas e suas expressões da Escola de Medicina da Universidade da Pensilvânia na Philadelphia, identificaram um pequeno cromossomo em pacientes com LMC. Podendo associar uma anormalidade cromossômica a uma doença oncológica pela primeira vez na história da medicina (BOLLMANN; GIGLIO, 2011; Nowell, 1960).

Não há um agente etiológico para a LMC, agentes químicos e predisposição genética parecem não estar associados ao desenvolvimento da doença, mas a exposição à radiação ionizante aumenta o risco. Estima-se uma incidência de 1 a 2 pessoas para 100 mil por ano, acometendo pacientes de 55 a 60 anos de ambos os sexos e somente 20% dos casos correspondem a menores de 20 anos (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008, BERGANTINI, 2005).

A proliferação de células mieloides pode causar manifestações clínicas e laboratoriais comuns, como leucocitose com desvio à esquerda, basofilia absoluta, trombocitose e esplenomegalia. Em torno de 85% a 90% dos pacientes o diagnóstico é realizado na fase crônica, mas a evolução para estágios mais graves pode ocorrer se não houver um controle adequado da doença (GOLDMAN; SCHAFER, 2018).

Antigamente a doença era classificada em 3 fases: Crônica (FC), acelerada (FA) e blástica (FB). O seu curso natural começava com a fase crônica, onde cerca de 20% a 40% dos casos são assintomáticos com desvio à esquerda e basofilia, ocorre a proliferação clonal granulocítica mantendo a capacidade de diferenciação celular. Na fase acelerada o clone leucêmico perde sua capacidade de diferenciação e ao evoluir para a fase blástica terminal, apresenta uma leucemia aguda grave que não tratada pode levar ao óbito do paciente (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008, MOREIRA; BOECHAT, 2009, GOLDMAN; SCHAFER, 2018).

Atualmente, com a atualização da Classificação dos Tumores Hematolinfoides

da Organização Mundial da Saúde (OMS) os fatores de risco para Leucemia Mieloide Crônica são aprimorados e a fase acelerada não é mais necessária. Com a terapia com inibidores de tirosina quinase e monitoramento da doença, a incidência da doença para fase acelerada diminuiu e a taxa de sobrevida global em 10 anos é de 80 a 90% (KHOURY *et al.*, 2022).

A denominação da fase acelerada se tornou menos relevante e omitida na classificação atual. Os critérios para considerar a fase acelerada é $\geq 20\%$ de blastos mielóides no sangue periférico ou na medula óssea, presença de proliferação extramedular de blastos ou presença de linfoblastos aumentados no sangue periférico ou na medula óssea. O significado de linfoblastos ainda permanece desconhecido e necessita de estudos adicionais (KHOURY *et al.*, 2022).

As opções de tratamento consistem no uso de interferon-alfa, quimioterapia com hidroxiureia, transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas (TCTH) e mais recentemente inibidores de tirosina quinase (ITK) (ALVARENGA *et al.*, 2010).

O primeiro ITK a ser utilizado foi o mesilato de imatinibe, mas em pacientes que não respondem ao tratamento pode-se empregar o uso de outros inibidores como, desatinibe e nilotinibe. Pacientes com a mutação T315I no gene BCR-ABL não respondem ao tratamento com esses 3 inibidores, sendo necessário o uso de ponatinibe um inibidor muito eficiente em pacientes com essa mutação (KASPER *et al.*, 2017).

Entretanto, o único tratamento curativo é o Transplante de Células Tronco Hematopoéticas (TCTH), sendo mais efetivo na fase crônica, mas pode ocorrer complicações graves como doença enxerto contra hospedeiro, imunossupressão e toxicidade em órgãos. Além disso, pacientes acometidos pela LMC apresentam uma idade média de 50 a 65 anos, aumentando assim, a dificuldade em encontrar um doador histocompatível (KASPER *et al.*, 2017, GOLDMAN; SCHAFER, 2018).

2 OBJETIVO

Este presente trabalho tem como objetivo trazer uma revisão de literatura sobre a Leucemia Mieloide Crônica com enfoque nos aspectos moleculares, laboratoriais e terapêuticos.

3 METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido por meio de revisão bibliográfica narrativa realizada entre fevereiro de 2018 e dezembro de 2023. Os artigos científicos foram selecionados por meio de busca eletrônica nos bancos de dados e plataformas eletrônicas como PubMed (Serviço de *U.S National Library of Medicine*) SciELO (Scientific Electronic Library Online), LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e Google Acadêmico, e livros disponíveis na biblioteca do Centro Universitário São Camilo. Os artigos foram pesquisados em português e inglês no período de 2018 a 2023. Os descritores utilizados foram: Leucemia Mieloide Crônica, gene BCR ABL, inibidores de tirosina quinase e mesilato de imatinibe.

4 DESENVOLVIMENTO

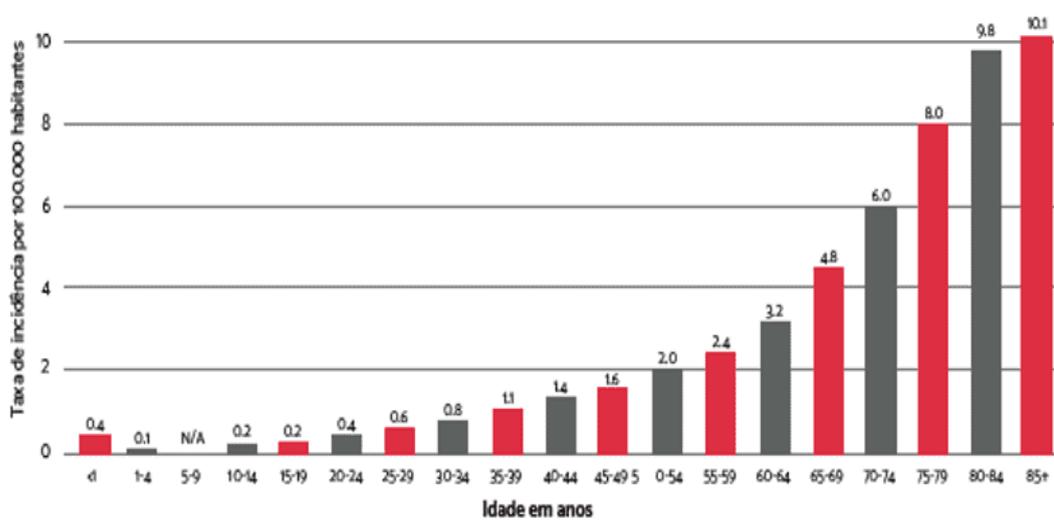
4.1 EPIDEMIOLOGIA

As leucemias correspondem 3% de todas as neoplasias que acometem os humanos. A LMC representa 15-20% das leucemias, apresentando incidência de 1 a 2 casos por 100 mil habitantes, havendo um discreto predomínio na população masculina. A média de idade de pessoas acometidas pela LMC é de 50 a 60 anos, mas pode acometer outras idades, sendo mais raro. Menos de 10% dos casos ocorrem com pessoas com menos de 20 anos (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017).

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), os novos casos de leucemias em 2020 foi de 10.810, sendo 5.920 homens e 4.890 mulheres e o número de mortes em 2018 foi de 7.218, segundo o Atlas de mortalidade por Câncer. O instituto estima que de 2020 a 2022, cerca de 5.920 novos casos de leucemias em homens e 4.890 em mulheres sejam diagnosticados no Brasil. Isso corresponde um risco aproximado de 5,67 novos casos a cada 100 mil homens e 4,56 novos casos a cada 100 mil mulheres, 15% desse valor corresponde a novos casos de LMC. Cerca de metade dos pacientes diagnosticados possuem mais de 65 anos (CÂNCER, 2021, ONCOGUIA, 2021).

A estimativa da *American Cancer Society* para LMC nos Estados Unidos em 2021, é cerca de 9.110 novos casos diagnosticados (5.150 homens e 3.960 mulheres) e aproximadamente 1.220 óbitos (680 homens e 540 mulheres). Acredita-se que 1 pessoa a cada 526 terá LMC durante a vida e assim como no Brasil, 15% dos novos casos de leucemia nos Estados Unidos são LMC (SOCIETY, 2021).

Figura 1: Incidência específica da LMC por idade nos Estados Unidos entre 2009 e 2013



As linhas horizontais representam as taxas de incidência e as barras verticais (vermelhas e cinzas) representam a frequência de novos casos de LMC a cada 100 mil habitantes (ABRALE, 2021).

Na figura 1 observamos a relação entre a taxa de incidência e a frequência de novos casos de LMC a cada 100 mil habitantes, por faixa etária. A figura nos mostra que a incidência de novos casos aumenta conforme a idade, vemos que aos 60 anos é de 3,2 a cada 100 mil habitantes e aumenta para 9,8 a cada 100 mil habitantes em pessoas com 80 anos. Podemos presumir que esses dados podem crescer ainda mais, já que a população está envelhecendo (ABRALE, 2021).

Figura 2: Número e proporção de óbitos por Leucemia no Brasil, de acordo com o tipo de Leucemia, entre 2008 e 2017.

| Tipo de Leucemia | Número de Óbitos | Proporção de Óbitos |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Leucemia Mielóide Aguda | 22.704 | 36% |
| Outras Leucemias Não Específicas | 14.823 | 23% |
| Leucemia Linfóide Aguda | 10.945 | 17% |
| Leucemia Linfocítica Crônica | 5.835 | 9% |
| Leucemia Mielóide Crônica | 4.497 | 7% |
| Outras Leucemias Mielóides | 2.339 | 4% |
| Outras Leucemias Linfóides | 1.862 | 3% |
| Leucemia Pró-Mielocítica Aguda | 447 | 1% |
| Total Geral | 63.452 | 100% |

Adaptado de: (ONCOLOGIA, 2021)

Na tabela 1 podemos observar que no período de 2008 a 2017 teve 4.497 óbitos por LMC no Brasil, correspondendo a 7% do valor total de óbitos por leucemias. Entre as causas leucêmicas de óbitos a LMC é a quinta que mais causa óbitos (ONCOLOGIA, 2021).

4.2 ETIOLOGIA

O mecanismo envolvido na fisiopatologia da translocação ainda é desconhecido, acredita-se que a radiação pode ser um fator importante para que isso ocorra, já que pessoas expostas apresentam um risco significativo de desenvolver leucemias. Outro fator proposto é a proximidade dos genes BCR-ABL em células hematopoiéticas durante a interfase do ciclo celular, podendo favorecer a translocação (SEGURO *et al.*, 2016).

A LMC não apresenta um perfil hereditário, as chances de desenvolver ocorre com o decorrer da idade e pessoas expostas a altas doses da radiação são mais

suscetíveis (SEGURO *et al.*, 2016).

A exposição à radioatividade é o principal fator de risco para LMC, sendo também para outros tipos de cânceres. Essa exposição está relacionada a maior incidência de LMC em pacientes que fizeram uso da radioterapia e sobreviventes das bombas atômicas durante a Segunda Guerra Mundial (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017).

Mesmo que a radiação ionizante esteja relacionada ao desenvolvimento de LMC, não existe um fator predisponente que determine a causa (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017).

4.3 FISIOPATOGENIA

O cromossomo Filadélfia está presente de 90 a 95% dos pacientes com LMC, a fusão clássica dos genes BCR-ABL é b2a2 ou b3a2, onde se funde o éxon 2 (b2) ou o éxon 3 (b3) do gene BCR com o éxon 2 do gene ABL, gerando uma oncoproteína de peso molecular de 210kd (p210) na maioria dos casos. Outras doenças oncohematológicas apresentam o cromossomo Ph, mas a translocação gera oncoproteínas de peso molecular diferentes, como no caso da leucemia linfóide aguda e leucemia neutrofílica produzindo p190 e p230, respectivamente, como demonstrado na figura 3 (SEGURO *et al.*, 2016, SANTOS; FERREIRA, 2006).

Figura 3: Formação do gene quimérico BCR-ABL

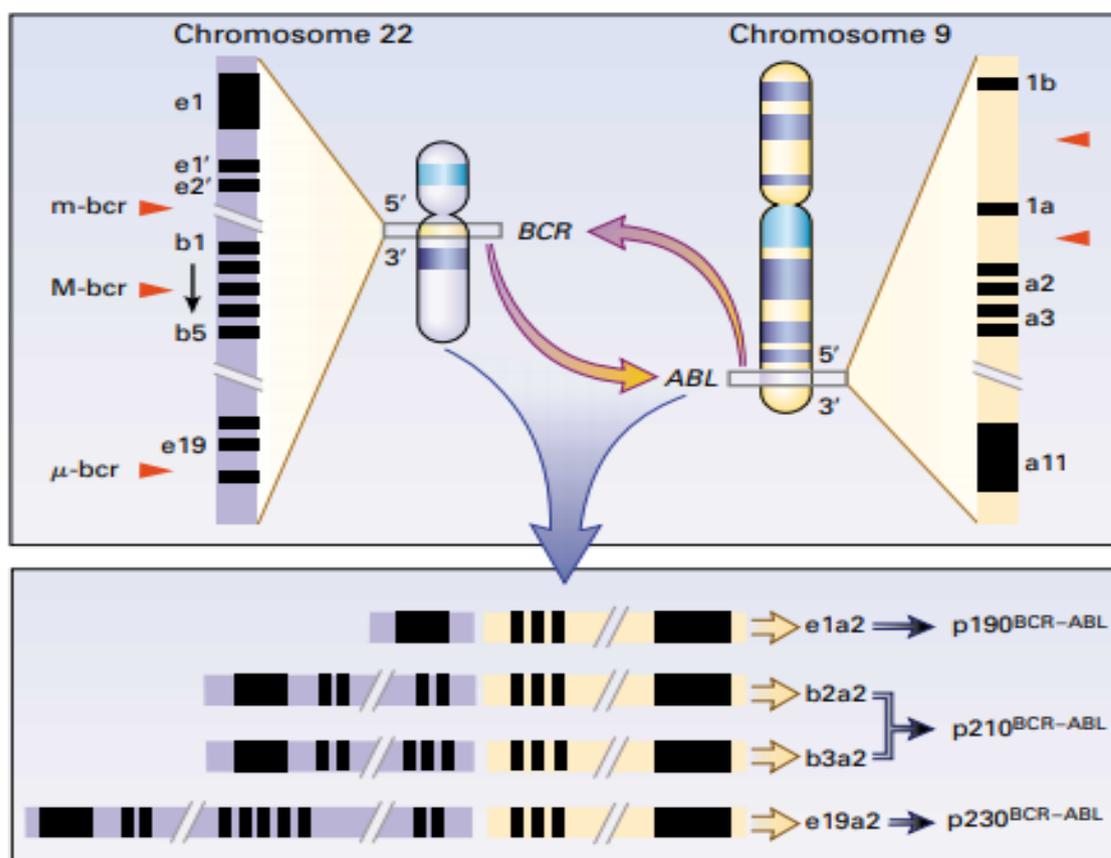


Ilustração dos pontos frágeis dos genes BCR e ABL e os produtos dos rearranjos cromossômicos possíveis, resultando em diferentes fenótipos de leucemia (FADERL *et al.*, 1999).

A oncoproteína p210 tem sua atividade tirosina-quinase aumentada, interferindo no ciclo celular. As células respondem menos aos estímulos regulatórios de crescimento e citocinas do microambiente da medula e progenitores mieloides são lançados no sangue periférico de forma prematura, essa característica de expansão desordenada caracteriza a LMC como doença mieloproliferativa clonal (SEGURO *et al.*, 2016).

Existem outras anormalidades citogenéticas que aparecem nos portadores LMC, chamadas de anormalidades clonais adicionais. Podem estar presentes em 10-30% dos pacientes em fase crônica e cerca de 80% dos pacientes em fase blástica. As alterações citogenéticas adicionais mais comuns ou maiores são: Duplo Ph (duas cópias do cromossomo 22q-), trissomia do cromossomo 8, isocromossomo 17q e

trissomia do cromossomo 19. As anormalidades menos comuns são: perda do cromossomo Y, monossomia do cromossomo 7 e trissomia dos cromossomos 17 e 21 (SEGURO *et al.*, 2016).

Não se sabe exatamente como ocorre a transformação da fase crônica para as fases mais avançadas, é possível que tenha relação com a ação cooperativa entre o gene BCR-ABL e alterações genéticas secundárias. As células que apresentam outros defeitos apresentam uma vantagem proliferativa, auxiliando no avanço da doença (SEGURO *et al.*, 2016).

4.3.1 Aspectos moleculares do gene BCR

O gene BCR (*Breakpoint cluster region* - Região de Agrupamento de Pontos de Interrupção) está localizado na região pericentromérica do braço longo do cromossomo 22 (22q11), é conhecido com um dos principais sinalizadores intracelulares do ciclo celular em organismos eucariontes. Seu tamanho é de 135 kb, contém 23 éxons, sendo o primeiro com 1728 pb e este éxon abriga domínios essenciais para o funcionamento proteico (oligomerização) e duas unidades regulatórias SH (SH3) (SANTOS; FERREIRA, 2006).

Os RNA mensageiros provenientes deste gene possuem tamanhos de 4.5 e 6.7 kb e codificam duas proteínas p160*bcr* e p130*bcr*, respectivamente. Essas proteínas atuam no controle da maturação de precursores mielóides, mediação de GAPs, controle de hidrólise de GTP e conversão da forma inativa de Ras para a forma GTP-inativa (SANTOS; FERREIRA, 2006).

4.3.2 Aspectos moleculares do gene ABL

O gene ABL conhecido como Abelson (homólogo de *Abelson Murine Leukemia virus* - Vírus da Leucemia Murina de Abelson), está localizado no braço longo do cromossomo 9, sua função está relacionada a controle do ciclo celular, molde do citoesqueleto e genotoxicidade celular (SANTOS; FERREIRA, 2006).

Este protooncogene contém 11 éxons e tamanho de 230 kb, origina dois transcritos de 6.0 e 7.0 kb produzindo a proteína p145*abl*. O primeiro intron que está localizado entre os éxons a1 e a2 apresenta 18.538 pb, uma região grande e suscetível a quebras. Durante o *splicing* alternativo no éxon a1 origina duas isoformas da proteína p145*abl*, a isoforma 1a possui 19 aminoácidos e a 1b 45

aminoácidos. Estas isoformas podem ser encontradas no citoplasma da célula regulando maturação de células hematopoiéticas e no núcleo regulando atividade quinásica, importante para o controle do ciclo celular (SANTOS; FERREIRA, 2006).

4.3.3 Aspectos moleculares do gene BCR-ABL

O ponto de fusão para formar o gene híbrido BCR-ABL pode ocorrer em 3 regiões diferentes: M-bcr, mbc e μ -bcr, este aspecto influencia o fenótipo das células Ph-positivas (SANTOS; FERREIRA, 2006).

A região M-bcr corresponde a parte central do gene, onde se localiza os éxons b1 a b5 (5' – 3') apresentando uma fragilidade nos éxons b2 e b3 possibilitando a quebra. Após a quebra existem duas possibilidades de junção do ABL, no éxon b2 (fusão b2a2) ou *splicing* alternativo no éxon b3 (fusão b3a2), apresentando uma diferença de apenas 75pb. Esta junção origina um transcrito de 8.5 kb, responsável por traduzir a proteína p210*bcr-abl*, ocasionando o fenótipo maligno da LMC (SANTOS; FERREIRA, 2006).

A região m-bcr está localizada na extremidade 5' do gene BCR, onde estão os éxons e1 e e2. O rearranjo e1a2 origina um transcrito de 7.0 kb que codifica a proteína p190*bcr-abl*, encontrada principalmente em pacientes com Leucemia Linfoblástica aguda (SANTOS; FERREIRA, 2006).

Existe um fenótipo mais brando em casos de Ph-positivos, quando a fusão ocorre na extremidade 3' do gene BCR, região denominada μ -bcr. Existe uma região suscetível a quebras denominadas c3 e c4 entre os éxons 19 e 20. A fusão com o gene ABL (e19a2) formará um longo transcrito de 9.0 kb, que dará origem a proteína p230*bcr-abl*. Este fenótipo caracteriza a Leucemia Neutrófila, com incidência de 5%, com melhor prognóstico em relação às outras situações descritas e dificilmente a doença agudiza (SANTOS; FERREIRA, 2006).

4.3.4 Aspectos biológicos do gene BCR-ABL

Produtos do gene híbrido BCR-ABL atuam modificando importantes vias intracelulares, causando instabilidade celular. O aumento da atividade da tirosina quinase interfere em diversas sinalizações, induzindo a proliferação de clones malignos, alteração na adesão à matriz extracelular e aumento da resistência celular à apoptose. Sendo assim, os granulócitos chegam à circulação periférica imaturos e

com redução na capacidade de defesa, deixando o organismo suscetível a infecções (REIS *et al.*, 2019, SANTOS; FERREIRA, 2006).

Figura 4: Vias de sinalização e propriedades biológicas de células BCR-ABL positivas.

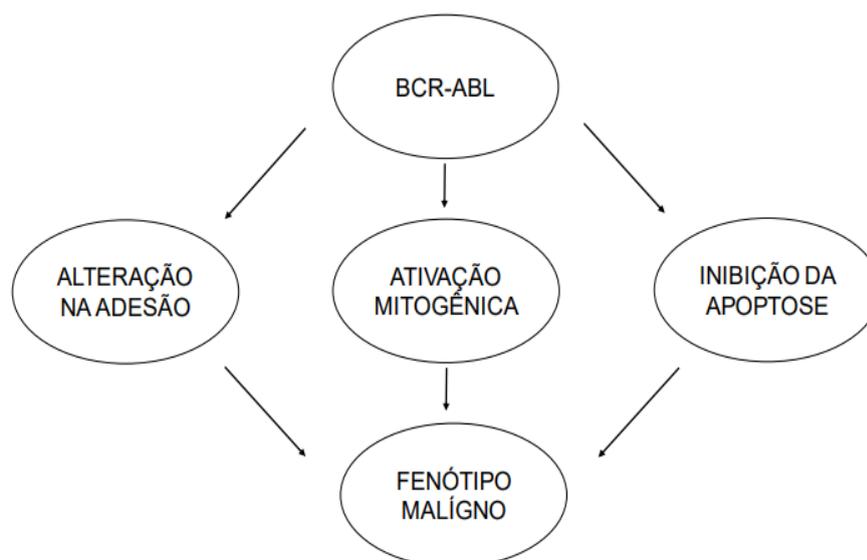


Ilustração das alterações induzidas pelo gene BCR-ABL nas vias de sinalização relacionadas a adesão, ativação mitogênica e inibição da apoptose. Esses mecanismos alterados caracteriza o fenótipo maligno da LMC, adaptado de (FADERL *et al.*, 1999).

4.3.5 Propriedades de adesão e motilidade alteradas

Fisiologicamente as células progenitoras apresentam menor adesão às células da medula óssea e matriz extracelular. Essas células possuem integrinas que ao ligarem em seus respectivos receptores, ocorre uma ativação da sinalização intracelular que inibe a adesão, este processo resulta em um *feedback* negativo na proliferação celular, mas as células BCR-ABL positivas possuem escape desse mecanismo devido suas propriedades de adesão estarem perturbadas (FADERL *et al.*, 1999).

As β -integrinas possuem papel importante nesse processo de adesão das células progenitoras com o estroma. As células progenitoras da LMC expressam integrinas - $\beta 1$, uma variante inibidora da adesão celular que não é encontrada em progenitoras normais. Este processo de adesão é ainda mais perturbado por causa de um *pool* de proteínas BCR-ABL presente no citoplasma. (FADERL *et al.*, 1999).

Outro possível mecanismo é a regulação positiva da tirosina quinase BCR-ABL, aumentando a expressão de mRNA da integrina $\alpha 6$, o que indica ativação a nível transcricional impactando na sinalização de integrinas (FADERL *et al.*, 1999).

O BCR-ABL pode diminuir a adesão celular por meio de outros mediadores, associando componentes da FAK e ativando uma proteína similar, a CRK-like (CRKL). As FAKs são enzimas citoplasmáticas associadas a integrinas e possuem papel determinante na sinalização de biosensores e estímulos integrados com o controle da mobilidade celular. Essas enzimas influenciam a estrutura de adesão celular e sítios que regulam a motilidade e o citoesqueleto. São enzimas de grande importância, pois outras vias de sinalização estão relacionadas a FAK, como, sinalização de fatores de crescimento, migração e ciclo celular, estando também alterada em outros tipos de células cancerosas (REIS *et al.*, 2019).

4.3.6 Ativação mitogênica

Alguns processos intracelulares favorecem a diferenciação e proliferação celular de células BCR-ABL positivas. A alteração da via de sinalização JAK-STAT, a associação das STATs com os domínios SH2 da proteína BCR-ABL ativa JAK, formando o complexo JAK-STAT. As principais STATs envolvidas nessa sinalização são STAT3 e STAT5, responsáveis pela regulação da proliferação e ciclo celular (REIS *et al.*, 2019).

A região terminal do BCR da BCR-ABL apresenta um sítio de fosforilação de serina/treonina quinase que possibilita a ligação do domínio SH2 com a proteína adaptadora GRB2. Essa ligação vai possibilitar o recrutamento da proteína homóloga ao gene *son-of-sevenless* (SOS), formando o complexo BCR-ABL/GRB2/SOS e assim, promove a fosforilação das proteínas guanosina difosfato (GDP) da família RAS e proteínas de ligação 2 associadas a GRB2 (GAB2). Devido a essas ligações a via de sinalização RAS é ativada, essa ativação possibilita interação com o protooncogene serina/treonina-proteína quinase (RAF), essa interação ativa a via proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK). A proteína RAF ativa a quinase regulada pela sinalização extracelular 1 e 2 (ERK1/ERK2) responsável pela manutenção do equilíbrio celular. Todos esses eventos resultam na alteração do crescimento celular e as células proliferam independentes de fatores de crescimento celular (REIS *et al.*, 2019).

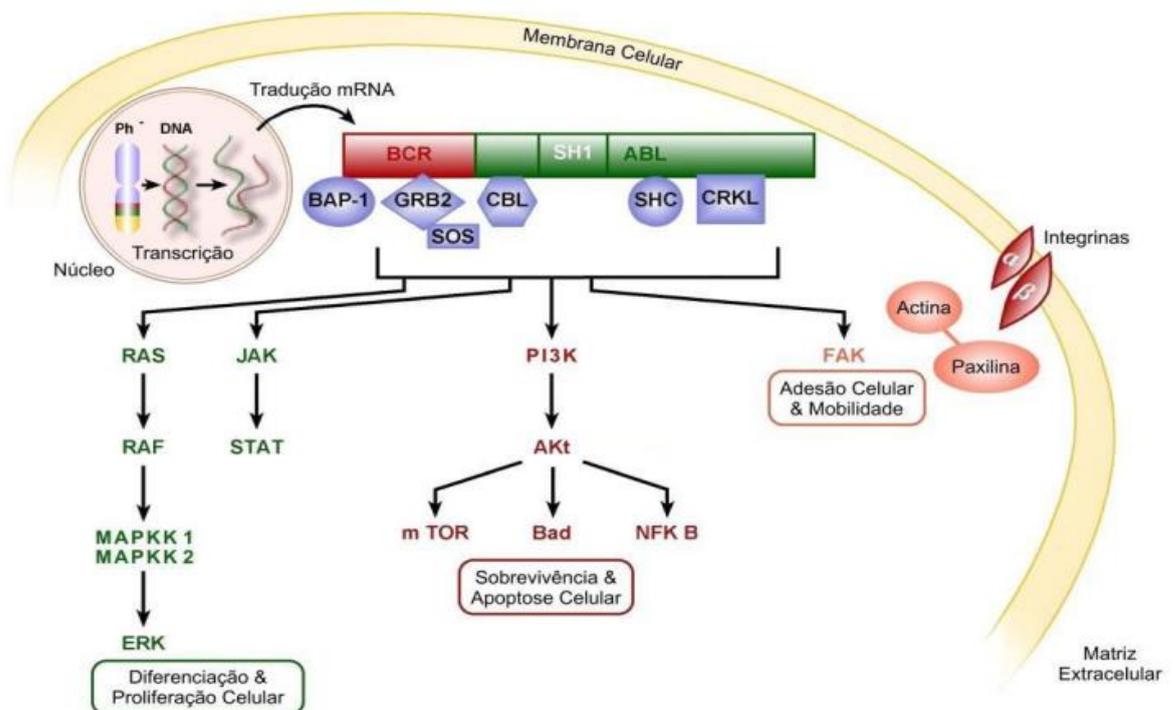
4.3.7 Inibição da apoptose

O gene quimérico BCR-ABL pode ativar a via PI3/AKT, possibilitando uma maior sobrevivência celular devido à degradação proteossomal de p27 e ativação da proteína alvo de rapamicina em mamíferos (mTOR). A proteína mTOR estimula fosforilação de fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K), que transporta AKT do citoplasma para a membrana plasmática, na membrana contém quinases regulatórias que vão fosforilar e ativar AKT. A proteína AKT regula processos anti-apoptóticos fosforilando as proteínas BCL-2, BCL-X e caspases nove de forma direta (REIS *et al.*, 2019).

A ativação da via AKT pela PI3K promove uma cascata de sinalizações que inibem a neoangiogênese pela mTOR, pois controla a apoptose através da *Bcl-2 Associated Death Promoter* (Bad). Com amplificação de proteínas da via AKT as células tumorais aumentam sua sobrevivência e proporcionam condições para que ocorram mutações sequenciais (REIS *et al.*, 2019).

A desregulação da via NF- κ B (Fator Nuclear kappa B) interfere nos processos fisiológicos e patológicos das células hematopoiéticas, proporcionando anormalidades na diferenciação e proliferação (REIS *et al.*, 2019).

Figura 5: Vias de sinalização do oncogene BCR-ABL



A ilustração demonstra as vias de sinalização influenciadas pelo oncogene BCR-ABL, induzindo alterações na sinalização intracelular ocasionado proliferação celular, inibindo a apoptose e alterando a adesão celular e motilidade (REIS *et al.*, 2019).

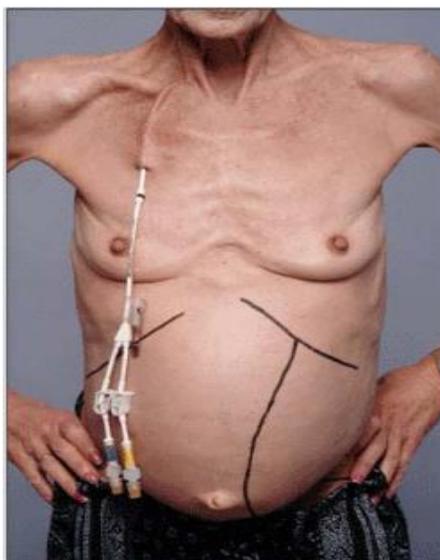
4.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da LMC se estabelece por meio de aspectos clínicos e laboratoriais, são utilizados os seguintes métodos: medição da esplenomegalia, realização de hemograma, mielograma, biópsia de medula, cariótipo da medula óssea, PCR qualitativo e quantitativo e imunofenotipagem. Por meio dos resultados é possível estabelecer a fase e evolução da doença. (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017).

4.4.1 Diagnóstico clínico e sintomatologia

O quadro clínico é caracterizado pela heterogeneidade em todas as fases da LMC. Inicialmente, o paciente pode apresentar anemia, artralgia, parestesia palmar, hepatoesplenomegalia, fadiga, perda ponderal, sudorese noturna e febre. Em menos de 5% dos casos na fase crônica é possível a ocorrência de hemorragia e complicações trombóticas. Os sinais clínicos observados na fase blástica incluem palidez, aumento da hepatoesplenomegalia e equimoses, além disso, é comum a refratariedade ao tratamento levando a complicações ainda mais graves como sangramentos, falência múltipla de órgãos e infecções. (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017).

Figura 6: Caquexia e hepatoesplenomegalia em doenças mieloproliferativas crônicas.



Hepatoesplenomegalia maciça em mulher com LMC (HOFFBRAND, 2016).

A maioria dos pacientes apresentam a fase crônica que pode durar de três a cinco anos, utilizando fármacos convencionais e os sinais e sintomas são poucos, muitas vezes os pacientes podem ser assintomáticos, a doença pode evoluir com sintomas mais evidentes e aparecimento de blastos no sangue periférico e/ou medula óssea. A fase blástica é mais agressiva e pode durar de três a seis meses se os pacientes não forem tratados. A instabilidade genética pode ser um importante fator para evolução da doença para outros estágios (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017).

4.4.2 Diagnóstico laboratorial

4.4.2.1 Hemograma

Os pacientes em sua maioria apresentam sintomas quando a doença está estabelecida, auxiliando no diagnóstico. Porém, muitos estão sendo diagnosticados em exames periódicos, por meio do hemograma, estando ainda assintomáticos. Desse modo, o hemograma é essencial para a identificação da LMC precocemente e a interpretação correta direciona o diagnóstico. (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010).

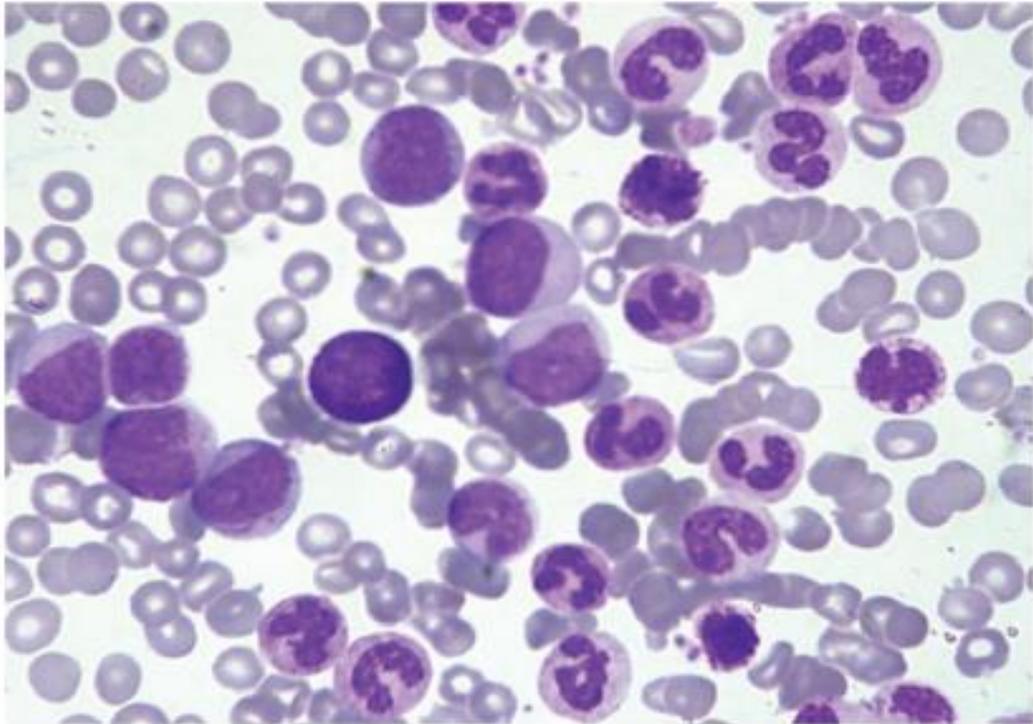
Na fase crônica o hemograma indica leucocitose com desvio à esquerda (presença de bastão, metamielócitos, mielócitos e promielócitos), aumento na contagem de basófilos e eosinófilos, presença de até 2% de mieloblastos na contagem da leucometria global e anemia normocítica e normocrômica, podendo ter presença de eritroblastos e plaquetas podem estar normais ou aumentadas. A trombocitopenia não é comum (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010; BRASIL, 2021).

É possível que alguns pacientes apresentem alterações cíclicas na contagem de leucócitos, com intervalos de 50 a 70 dias, com fases de níveis elevados e normais de leucócitos. Isso ocorre em estágios muito iniciais da doença e pode confundir com outras condições como: neutrofilia reacional e outras leucemias mieloides (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010; BRASIL, 2021).

Como a evolução da doença pode acontecer, na fase de transformação (antigamente denominada de fase acelerada) a leucocitose fica mais acentuada ($100.000/\text{mm}^3$), o número de basófilos é igual ou $>20\%$, o número de mieloblastos fica entre 10% e 19%, a contagem de plaquetas pode ser $<100.000/\mu\text{L}$ ou $>1.000.000/\mu\text{L}$ e a anemia é crescente (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010; BRASIL, 2021).

Na fase blástica os dados do hemograma ficam mais alterados (leucocitose, anemia, trombocitose ou plaquetopenia) e a contagem de blastos no sangue periférico é igual ou $> 20\%$ (BRASIL, 2021).

Figura 7: Hemograma na LMC



Esfregaço de sangue periférico demonstrando granulócitos em vários estágios de maturação e presença de basófilos (BARCELOS; AQUINO, 2018).

4.4.2.2 Mielograma

No Mielograma a fase crônica se apresenta com hiper celularidade granulocítica havendo células em todos os estágios de maturação, com relação granulócito:eritroblasto de 10 a 20:1, contagem de blastos <5%, hiperplasia de megacariócitos, eosinofilia pode estar presente. Na fase de transformação os blastos podem estar displásicos e sua contagem fica em torno de 10 a 19%. Na fase blástica a contagem de blastos é superior a 20% no sangue periférico e/ou medula óssea (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010; BRASIL, 2021).

4.4.2.3 Biópsia de medula óssea (BMO)

Na BMO além das alterações observadas no mielograma, em torno de 30% dos pacientes apresentam aumento das fibras de reticulina caracterizando graus

diferentes de fibrose reticulínica e vascularização, este evento evolui de acordo com as fases da doença (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010).

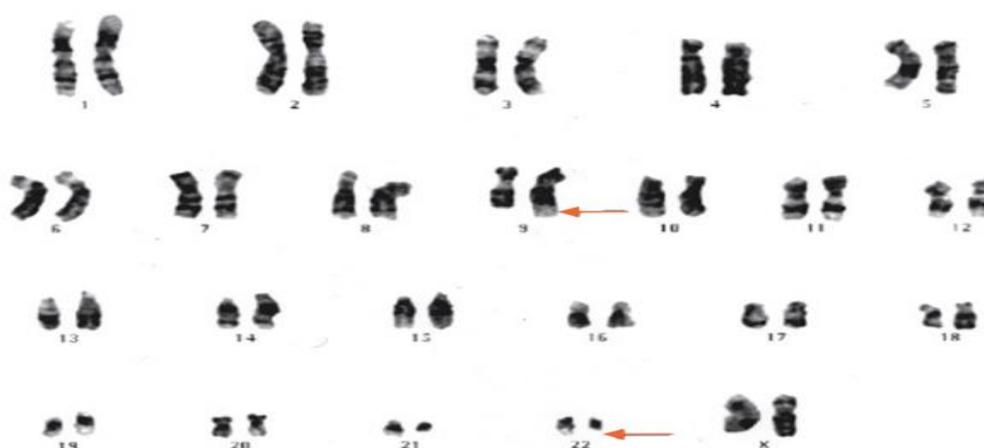
A celularidade aumenta com padrão semelhante ao sangue periférico, presença de < 5% de blastos, (blastos de 10 a 19% é indicativo de progressão da doença). Os megacariócitos podem estar normais ou discretamente diminuídos (40% a 50% dos pacientes apresentam moderada à intensa hiperplasia megacariocítica). Não há displasia significativa da medula óssea (BRASIL, 2021).

Extensos focos de blastos indicam evolução para fase blástica. A quantidade de blastos é igual ou > 20% na medula óssea. (BRASIL, 2021).

4.4.2.4 Citogenética

O Cariótipo medular é um exame que identifica o cromossomo Ph quantificando o número de metáfases Ph+ e detecta outras alterações cromossômicas adicionais. Este exame além de auxiliar no diagnóstico é utilizado para monitoramento da eficácia da terapia (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010).

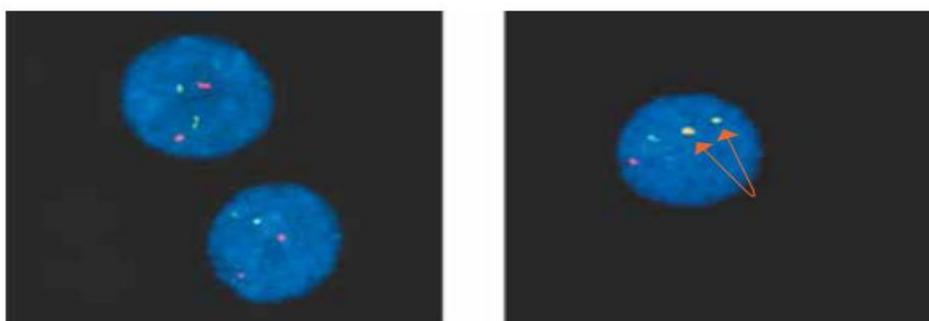
Figura 8: Cariótipo na LMC



Cariótipo evidenciando a translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22. A seta localizada na segunda fileira indica o braço do cromossomo 9 que foi alongado e a seta na quarta fileira indica o cromossomo 22 com um dos braços encurtados (cromossomo Philadelphia) (MANUAL LMC, 2021).

Com a Hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) é possível identificar a translocação 9-22 e detectar o gene BCR-ABL. É um método que permite análise em sangue periférico e quando não tem metáfases ou o Ph+ é ausente no cariótipo (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010).

Figura 9: Identificação do gene BCR-ABL pelo método de FISH



Na figura demonstra o método de Hibridização *in situ* fluorescente, ou FISH que utiliza moléculas fluorescentes para marcar o gene BCR-ABL na LMC. Nas células normais, aparecem dois sinais vermelhos e dois verdes indicando a localização normal do gene ABL e BCR, respectivamente. Nas células anormais, a fusão BCR-ABL é visualizada por meio da fusão dos sinais verde e vermelho. É detectado como amarelo fluorescente (mostrado por setas) (MANUAL LMC, 2021).

4.4.2.5 Imunofenotipagem

A imunofenotipagem é realizada pelo método de citometria de fluxo, considerada padrão ouro para classificação de leucemias por ser muito específica e sensível. A avaliação é feita de forma qualitativa e quantitativa, sendo utilizados anticorpos monoclonais (AcMo) que são marcados com fluorescência para avaliar a expressão dos antígenos nas células de interesse, através do encontro antígeno-anticorpo e a intensidade de luz produzida. Os biomarcadores encontrados na imunofenotipagem da LMC são: CD34, CD33, CD13, HLA-DR (CD9), CD15, CD71, CD56, CD25 e CD117 (c-kit) (GUIMARÃES; FAZENDA, 2022).

Este método pode identificar a origem da população blástica, em 70% dos casos é de linhagem mieloide (mieloblástica ou mieloblástica/megacarioblástica) e pode acometer uma ou múltiplas linhagens (mieloblástica, basofílica, eosinofílica,

megacariocítica, monocítica ou eritroblástica). De 20% a 30% dos casos a transformação é linfóide e a transformação bifenotípica (mieloide e linfóide) é raramente encontrada (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010).

4.4.2.6 Biologia molecular

O método de RT-qPCR (transcrição Reversa e Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativo) permite a identificação do rearranjo BCR-ABL e quantifica os mRNA produzidos pela p210. É muito utilizado juntamente com FISH quando a fibrose medular impede a realização do cariótipo e para acompanhamento após quimioterapia ou transplante de medula óssea e monitoramento da resposta ao tratamento com inibidores de tirosina quinase (SOSSELA; ZOPPAS; WEBER, 2017, CHAUFFAILLE, 2010).

É o teste mais sensível para detectar e medir a quantidade de genes BCR-ABL na amostra de sangue ou de medula óssea, pois detecta a célula da LMC em meio a 100.000 a 1.000.000 de células normais. Sendo assim, detecta quantidades muito pequenas do gene BCR-ABL mesmo quando o cromossomo Ph não é detectado no teste de citogenética. É recomendado que o teste de RT-qPCR seja feito a cada 3 meses durante os primeiros 2 anos de tratamento. Depois deste período, se o paciente estiver reagindo bem, o teste deve ser feito a cada 6 meses (MANUAL LMC, 2021).

4.5 TRATAMENTO

4.5.1 Histórico da terapia da LMC

Diversos compostos foram testados para o tratamento da LMC, entre eles a quinina e o ferro, mas seu uso não teve resultado. Em 1965, o médico alemão Lissauer administrou em uma paciente arsênio combinado com iodo e cloreto de potássio, esse tratamento proporcionou o bem-estar da paciente e foi observado diminuição do baço, do número de leucócitos e melhora da anemia (BOECHAT *et al.*, 2017).

Em 1878, Cutler e Bradford desenvolveram a solução de Fowler, composta por arsênio. Ao fazerem a análise do sangue descobriram que a administração dessa

solução promoveu a diminuição progressiva das células sanguíneas, mas a solução apresentava certa toxicidade e mesmo assim continuou sendo utilizada até o surgimento da radioterapia (BOECHAT *et al.*, 2017).

Em 1903, Nicholas Senn observou a ação da irradiação por raios-X em pacientes com LMC, houve rápida diminuição do baço e número de leucócitos, sendo assim, o hemograma e o bem-estar dos pacientes apresentavam evidente melhora. Mas a sobrevida dos pacientes não foi alterada, já que na época era de apenas três anos. A esplenectomia (remoção cirúrgica do baço) podendo ser parcial ou completa, foi utilizada para melhor conforto dos pacientes. Esse procedimento vinha sendo utilizado desde 1863, mas depois de muitos anos somente era recomendado após tratamento com radioterapia (BOECHAT *et al.*, 2017).

Somente em 1947 foi desenvolvido o primeiro agente antineoplásico para LMC, a mostarda nitrogenada (mecloretamina). A administração endovenosa causava significativa diminuição do número de leucócitos. No entanto, ainda não existia tratamento que prolongasse a sobrevida dos pacientes (BOECHAT *et al.*, 2017).

Em 1952, o bussulfano foi introduzido na terapia da LMC, permitiu remissão hematológica em 42% dos pacientes aumentando a sobrevida dos pacientes em fase crônica. O diferencial é sua seletividade pelo tecido hematopoiético, especificamente as linhagens granulocíticas. Mesmo os ensaios clínicos evidenciaram toxicidade para o epitélio germinal e pulmões ele foi amplamente utilizado, pois sua capacidade de controlar as manifestações clínicas da LMC alcançou mais eficiência que a radioterapia. Porém, seu uso foi suspenso devido efeitos colaterais graves, como mielossupressão prolongada, fibrose pulmonar e endomiocardiofibrose (BOECHAT *et al.*, 2017).

Outro fármaco de grande destaque foi a hidroxiureia, devido sua resposta hematológica completa de 80% e sobrevida média de 4,7 anos na fase crônica, foi introduzida como fármaco de primeira escolha para o tratamento da LMC. Seu mecanismo de ação interrompe a síntese de DNA inibindo a enzima ribonucleotídeo-reductase. Em comparação com bussulfano a hidroxiureia é menos tóxica, mas ambas terapias não promovem remissão citogenética ou previne a progressão da doença para a crise blástica. Somente no início dos anos 80 o interferon alfa foi utilizado para tratar LMC, promovendo remissão citogenética parcial, que consiste em reduzir o

número de cromossomos Ph. Entre os pacientes tratados com interferon alfa (IFN- α) 80% atingiram remissão hematológica completa (RHC) e 58% remissão citogenética completa (RCC) e sobrevida média de 7,4 anos. Porém, em 20% dos casos houve abandono no tratamento devido a reações adversas (BOECHAT *et al.*, 2017).

Em 1986, o transplante de células tronco hematopoiéticas começou a ser utilizado por ser o único método capaz de proporcionar uma resposta curativa. porém, devido a idade média dos pacientes ser maior de 60 anos em 55% dos casos e falta de doadores histocompatíveis, dificultava a aplicação desta modalidade terapêutica (BOECHAT *et al.*, 2017).

A revolução no tratamento da LMC surgiu com o advento dos inibidores de tirosina quinase. A tirfostina o primeiro inibidor específico foi descrito em 1988 por Yaish e colaboradores, posteriormente, outros estudos apontaram que o esqueleto fenilaminopirimidina (FAP) inibia de forma não específica a quinase. Em 1993 Druker e colaboradores sintetizaram e testaram diversas moléculas que contém o esqueleto FAP, entres elas estava o imatinibe, que eliminou as células da LMC. Os testes clínicos avançaram e os resultados demonstraram que o imatinibe proporcionou remissão total em quase 100% dos pacientes tratados, sendo assim, o imatinibe passou a ser considerado um “milagre” no tratamento da LMC (BOECHAT *et al.*, 2017).

O mesilato de imatinibe foi o primeiro representante dos “tinibes”, posteriormente houve-se a necessidade de produzir outros fármacos desta classe, devido alguns pacientes desenvolverem resistência a ele. Sendo assim, surgiram inibidores de segunda e terceira gerações. A primeira geração é representada pelo imatinibe, a segunda pelo desatinibe e nilotinibe e a terceira pelo bosutinibe e ponatinibe (BOECHAT *et al.*, 2017).

4.5.2 Inibidores de tirosina quinase (TKI)

4.5.2.1 Inibidor de primeira geração

4.5.2.1.1 Imatinibe

O Mesilato de Imatinibe foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 2001 para ser utilizado no tratamento de LMC. É um inibidor competitivo do sítio de ATP da enzima BCR-ABL, impedindo a fosforilação do substrato e a ação da enzima é inibida, sendo assim, este mecanismo de inibição previne a transdução de sinal de energia que ocasiona a proliferação celular. Outras sinalizações são inibidas, incluindo o receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR) e o c-Kit (CD117 ou receptor do fator *stem-cell* - SCF). Além disso, o imatinibe é capaz de inibir a proliferação de diferentes linhagens de células e progenitores hematopoiéticos, mas não inibe as tirosinas quinases da família Src quinase e a tirosina quinase com mutação T315I (BOECHAT *et al.*, 2017, LOPES; ABREU, 2009).

Figura 10: Mecanismo de inibição da enzima tirosina quinase BCR-ABL

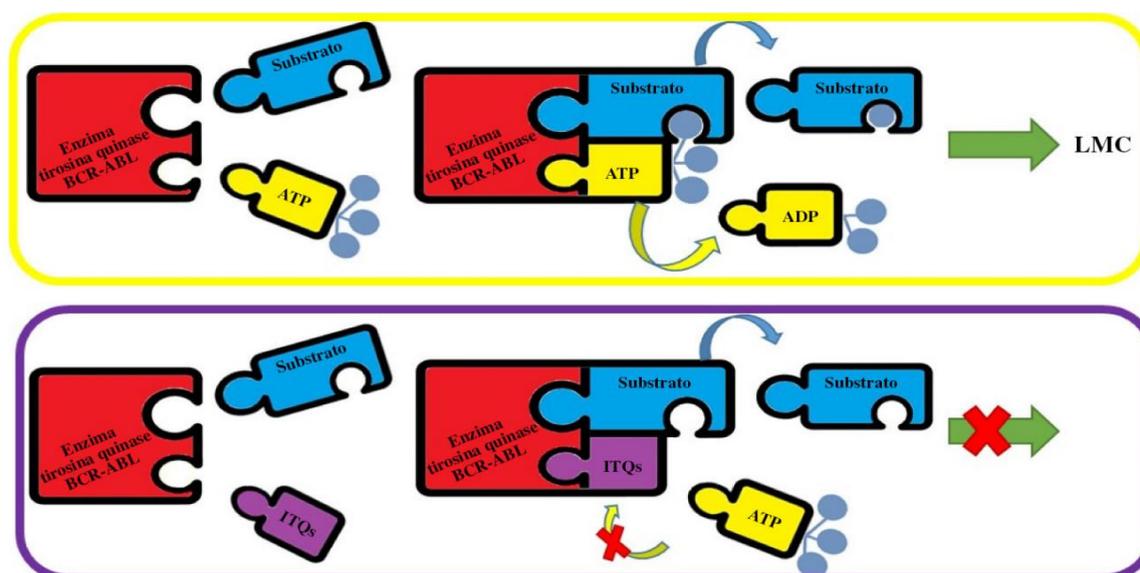


Ilustração do mecanismo de inibição competitiva da enzima tirosina quinase, ligando a molécula de imatinibe no sítio de ligação do ATP e consequentemente inibindo a fosforilação

do substrato (BOECHAT *et al.*, 2017).

É a terapia de primeira linha para LMC com resposta duradoura para a maioria dos pacientes e pode ser utilizada em todas as fases da doença, mas apresenta melhores resultados quando o diagnóstico é precoce. O principal objetivo é chegar à resposta hematológica completa, resposta citogenética e alívio dos sintomas, como a esplenomegalia, proporcionando maior sobrevida aos pacientes (BOECHAT *et al.*, 2017, LOPES; ABREU, 2009).

Embora o Imatinibe tenha apresentado resultados incríveis no tratamento da LMC, aproximadamente 20% a 30% dos pacientes desenvolvem resistência ao medicamento. Esta resistência pode ser primária, quando desde o início do tratamento o paciente não apresenta resposta ou secundária quando durante o tratamento a resposta diminui ou não tem resultados no decorrer do tratamento (BOECHAT *et al.*, 2017, LOPES; ABREU, 2009).

Os mecanismos de resistência mais importantes são a superexpressão de BCR-ABL, mutações pontuais no domínio quinase de BCR-ABL, mutações no sítio de ligação BCR-ABL, alteração da expressão de proteínas transmembranares de influxo e efluxo e alteração no mecanismo de transdução de sinal. Nos casos de resistência ou intolerância o Imatinibe é associado a outras drogas antineoplásicas utilizadas para tratamento da LMC, podendo utilizar combinações terapêuticas que regulam as vias oncogênicas e modulação imune. A mutação T315I é a mais grave, pois apenas o Ponatinibe é eficaz nesses casos, restringindo as possibilidades terapêuticas (BOECHAT *et al.*, 2017, LOPES; ABREU, 2009).

4.5.2.2 Inibidores de segunda geração

4.5.2.2.1 *Dasatinibe*

O Dasatinibe foi aprovado pela FDA em 2006, é um duplo inibidor Scr/Abl que inibe a forma ativa e inativa da enzima BCR-ABL e quinases da família Src, além de tirosinas quinases intracelulares que regulam processos de crescimento celular, o c-Kit e o PDGFR. É indicado para tratamento nas fases crônica, acelerada e blástica, quando os pacientes apresentam resistência ao Imatinibe ou intolerância a outras

terapias. Demonstra maior eficácia e durabilidade terapêutica nas fases iniciais da doença comparado ao Imatinibe, mas na fase mais avançada ocorre uma alta toxicidade do medicamento devido às doses elevadas utilizadas na terapia (BOECHAT *et al.*, 2017, LOPES; ABREU, 2009).

4.5.2.2.2 *Nilotinibe*

O Nilotinibe foi aprovado pela FDA em 2007, é indicado para todas as fases da doença em pacientes resistentes ou intolerantes ao imatinibe. Estruturalmente é muito semelhante ao imatinibe, mas apresenta maior afinidade e especificidade contra a enzima BCR-ABL (BOECHAT *et al.*, 2017).

Demonstra atividade contra a maioria das mutações de resistência com exceção da mutação T315I e inibe c-Kit e PDGFR. Essa inibição impede que as vias mitogênicas antiapoptóticas sejam ativadas levando a morte do fenótipo BCR-ABL (BOECHAT *et al.*, 2017).

4.5.2.3 Inibidores de terceira geração

4.5.2.3.1 *Bosutinibe*

O Bosutinibe foi aprovado pela FDA em 2012 e é utilizado em todas as fases da doença em pacientes resistentes ou intolerantes ao Imatinibe. É um duplo inibidor ativo de Scr/Abl, mas diferentemente do Dasatinibe não inibe c-Kit e PDGFR o que pode reduzir os efeitos colaterais. O mecanismo de inibição é semelhante ao Imatinibe, porém é necessário doses menores para atingir o efeito terapêutico (BOECHAT *et al.*, 2017).

4.5.2.3.2 *Pronatinibe*

Em 14 de dezembro de 2012 o FDA aprovou de forma acelerada o pronatinibe. É indicado para tratamento da LMC em todas as fases da doença, para pacientes que são resistentes ou intolerantes às classes de inibidores de tirosina quinase anteriores. Essa aprovação acelerada foi devido um estudo multicêntrico internacional apresentar resultados clínicos que indicaram a inibição da mutação T315I em pacientes

resistentes ou intolerantes aos inibidores já utilizados, possibilitando uma nova modalidade terapêutica para os pacientes (BOECHAT *et al.*, 2017).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, a LMC é mais prevalente em adultos e seu traço distintivo é a translocação cromossômica Filadélfia, que gera a oncoproteína BCR-ABL, desencadeando uma elevada atividade tirosina quinase e resultando na proliferação descontrolada de células mieloides.

O diagnóstico da LMC frequentemente ocorre de maneira ocasional durante a análise do sangue periférico em exames de rotina. Para a confirmação da doença, exames mais específicos e sensíveis são solicitados, tais como citogenética, biópsia de medula óssea, biologia molecular e imunofenotipagem. Esses procedimentos desempenham um papel crucial não apenas no diagnóstico inicial, mas também no estadiamento e acompanhamento contínuo da LMC.

Ao longo da história, o tratamento da LMC evoluiu, passando por diferentes modalidades sem alcançar resultados curativos expressivos até a introdução dos inibidores de tirosina quinase, notadamente o imatinibe, que revolucionou o cenário ao proporcionar remissões completas em grande parte dos pacientes. Inibidores de segunda e terceira gerações surgiram como opções diante de casos de resistência ou intolerância.

Apesar do avanço representado pelos inibidores de tirosina quinase, a LMC ainda apresenta desafios, principalmente a resistência a tratamentos. Pesquisas continuam a explorar novas abordagens e terapias para aprimorar a gestão dessa condição hematológica complexa, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida e os resultados a longo prazo para os pacientes. A compreensão mais aprofundada dos mecanismos subjacentes e a busca por estratégias inovadoras permanecem cruciais para enfrentar os desafios persistentes associados à LMC.

REFERÊNCIAS

ABRALE, Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia. **Perfil demográfico da Leucemia Mielóide Crônica.** Disponível em: <https://www.abrale.org.br/doencas/leucemia/lmc/epidemiologia/>. Acesso em: 27 jan. 2021.

ALVARENGA, Tatiana F. et al. Efeitos adversos e resposta citogenética em pacientes com leucemia mieloide crônica tratados com imatinibe. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, p.116-122, 2010.

BARCELOS, Luiz Fernando; AQUINO, Jerolino Lopes. **Tratado de Análises Clínicas.** Rio de Janeiro: Atheneu, 2018. 817 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Conjunta Nº 04, de 01 de março de 2021. Regulamenta o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Leucemia Mieloide Crônica do Adulto. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 25 jul. 2022, p. 1-108.

BERGANTINI, Ana Paula F.. Leucemia Mielóide Crônica e o sistema Fas-FasL. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, p.120-125, 2005.

BOECHAT, Nubia *et al.* Sínteses e propriedades de fármacos inibidores da tirosina quinase BCR-ABL, utilizados no tratamento da Leucemia Mieloide Crônica. **Química Nova**, [S.L.], p. 791-809, mar. 2017. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170027>. Disponível em: <https://s3.sa-east-1.amazonaws.com/static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/RV20160462.pdf>. Acesso em: 22 mar. 2020.

BOLLMANN, Patricia Weinschenker; GIGLIO, Auro del. Chronic myeloid leukemia: past, present, future. **Einstein (São Paulo)**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 236-

243, jun. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082011rb2022>.

BORTOLHEIRO, Teresa Cristina; CHIATTONE, Carlos S.. Leucemia Mielóide Crônica: história natural e classificação. **Revista Brasileira de Hematologia**

CHAUFFAILLE, Maria de Lourdes L. F.. Neoplasias mieloproliferativas: revisão dos critérios diagnósticos e dos aspectos clínicos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S.L.], v. 32, n. 4, p. 308-316, 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842010005000091>.

FADERL, Stefan *et al.* The Biology of Chronic Myeloid Leukemia. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 341, n. 3, p. 164-172, 15 jul. 1999. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejm199907153410306>.

GOLDMAN, Lee; SCHAFER, Andrew L. **Goldman-Cecil Medicina**: Adaptado à realidade brasileira. 25. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.

GUIMARÃES, Letícia Coelho; FAZENDA, Juliana. Diagnóstico diferencial de leucemia por imunofenotipagem. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 11, n. 14, p. 14-23, 3 nov. 2022. Research, Society and Development. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36754>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/36754>. Acesso em: 05 abr. 2023.

KASPER, Dennis L. *et al.* **Medicina Interna de Harrison**. 19. ed. Porto Alegre: Amgh, 2017.

KHOURY, Joseph D. *et al.* The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. **Leukemia**, [S.L.], v. 36, n. 7, p. 1703-1719, 22 jun. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41375-022-01613-1>. Acesso em: 20 out. 2023.

LOPES, Nei R.; ABREU, Maria Theresa C. L.. Inibidores de tirosino quinase na leucemia mieloide crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 449-453, 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842009005000089>.

MANUAL LMC. São Paulo: Abrale, 2021. Disponível em: <https://www.abrale.org.br/wp-content/uploads/2021/07/Manual-de-LMC-02.pdf>. Acesso em: 02 dez. 2023.

MOREIRA, Roberta Bitencourt; BOECHAT, Letícia. Proposta de Acompanhamento Farmacoterapêutico em Leucemia Mielóide Crônica: Modelo de Abordagem Metodológica. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, p.375-378, 2009.

NOWELL P C, Hungerford D A. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. School of Medicine. University of Pennsylvania. and Institute for Cancer Research. Philadelphia, PA. *Science* 142:1497. 1960.

REIS, Aline Leão Oliveira *et al.* Expressão do gene híbrido BCR-ABL resultante da translocação entre os cromossomos 9 e 22 na ocorrência da leucemia mielóide crônica. **Brazilian Journal Of Surgery And Clinical Research**, [s. l.], p. 35-41, mar. 2019. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190306_115032.pdf. Acesso em: 30 nov. 2022.

SEGURO, Fernanda Salles *et al.* Doenças hematológicas: leucemia mielóide crônica. In: MARTINS, Milton de Arruda *et al.* **Clínica Médica**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2016. Cap. 1. p. 186-190.

SOSSELA, Fernanda Roberta; ZOPPAS, Barbara Catarina de Antoni; WEBER, Líliana Portal. Chronic Myeloid Leukemia: clinical aspects, diagnosis and main changes observed in complete blood count. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [s.l.], v. 49, n. 2, 2017. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. <http://dx.doi.org/10.21877/2448-3877.201700543>. Disponível em: <<http://www.rbac.org.br/artigos/leucemia-mieloide-cronica-aspectos-clinicos->

diagnostico-e-principais-alteracoes-observadas-no-hemograma/>. Acesso em: 07 jan. 2020.

SANTOS, I.L.; FERREIRA, R.J. Aspectos biológicos, genéticos e moleculares do gene bcr-abl e sua relação com a leucemogênese. Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama, v. 10, n. 1, p. 55-59, jan./abr., 2006.

CÂNCER, Instituto Nacional do. **Leucemia**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/leucemia>. Acesso em: 27 jan. 2021.

ONCOGUIA, Instituto. **Estatística para Leucemia Mieloide Crônica (LMC)**. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/estatistica-para-leucemia-mieloide-cronica-lmc/7983/336/>. Acesso em: 27 jan. 2021.

ONCOLOGIA, Observatório de. **Tendências da Mortalidade por Leucemias no Brasil**. Disponível em: https://observatoriodeoncologia.com.br/mortalidade_leucemias/. Acesso em: 28 jan. 2021.

ZERBINI, Maria Claudia Nogueira et al. Classificação da Organização Mundial da Saúde para os tumores dos tecidos hematopoético e linfóide, 4ª edição, 2008 - principais modificações introduzidas em relação à 3ª edição, 2001. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, p.66-73, 2011.