

IMPORTÂNCIA DIAGNÓSTICA DA LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA

Priscila Carolina de Melo Cardoso Silva*

Bruno Tolentino Caixeta**

RESUMO

A leucemia linfóide crônica é uma patologia heterogênea, que apresenta nível elevado de linfócitos em todo o sangue periférico, decorrente de uma desordem oriunda da medula óssea com relação à produção de novos blastos. Com os avanços da tecnologia, a leucemia linfóide crônica vêm sendo tratada de uma forma mais precisa, devido ao avanço no que diz respeito à medicamentos, drogas mielosupressoras e novas metodologias diagnósticas, novas descobertas que representam resultados cada vez mais surpreendentes e novas chances de cura. A metodologia utilizada para o presente trabalho foi uma revisão bibliográfica de forma qualitativa e descritiva, através de uma busca em artigos científicos, livros, monografias, entre outros dados disponíveis em acervo eletrônico. O presente trabalho demonstrou ainda as alterações observadas neste tipo de leucemia, morfologia celular, tratamento, diagnósticos e novas técnicas, como a detecção da proteína p53, uma proteína que auxilia a enfatizar laudos do prognóstico da patologia e onde ocorre a mutação do gene P53 enfatizando também a patogenia que as mutações neoplásicas trazem como consequência para o paciente.

Palavras-chave: Leucemia linfóide crônica; proteína p53; Gene p53.

* Graduanda do curso de Biomedicina- Faculdade Patos de Minas.São Gotardo/MG
primelocardoso@hotmail.com

**Professor Especialista em Hematologia e Hemoterapia-Cursos de graduação e Pós-graduação da Faculdade Patos de Minas.Patos de Minas/MG

ABSTRACT

Chronic lymphocytic leukemia is a heterogeneous disease that presents high level of lymphocytes in whole peripheral blood, due to a bone marrow disorder arising in connection with the production of new blast. With advances in technology, chronic lymphocytic leukemia seen being treated in a more accurate, due to the advancement in relation to drugs, myelosuppressors drugs and new diagnostic methods, new findings that represent a growing and surprising new chances for cure. The methodology used for this study was a literature review of qualitative and descriptive, through a search of scientific articles, books, monographs, among other data available in electronic holding. This study also demonstrated the changes observed in this type of leukemia, cell morphology, treatment, diagnosis, and new techniques such as the detection of p53, a protein that helps to emphasize the prognosis of the pathology reports and in which there is a mutation of the p53 gene emphasizing also pathogenesis mutations result in neoplastic bring to the patient.

Keywords: Chronic lymphocytic leukemia; p53, p53 Gene.

1 INTRODUÇÃO

A leucemia linfóide crônica é uma doença que acomete a medula óssea prejudicando a produção de novas células oriundas da medula óssea, ocasionando uma série de distúrbios e sintomas que acometem milhares de pessoas em todo o mundo. Novas pesquisas estão sendo feitas para que diagnósticos e tratamentos sejam cada vez mais eficazes

É sabido que existem vários tipos de leucemias, dentre elas, as que afetam a linhagem do tronco mielóide e as do tronco linfóide. Esta elucidação agressiva para a espécie humana está sendo desvendada até os dias de hoje. Anteriormente essas patologias eram subdivididas em agudas e crônicas conforme a sobrevivência que os pacientes tinham. Nas leucemias agudas os pacientes não tinham uma sobrevivência maior que seis meses, isso para aqueles pacientes que não faziam nenhum tipo de tratamento e para leucemias crônicas, não tinham uma expectativa de sobrevivência de mais de um ano. Contudo pode se observar que essas patologias referem-se à maturidade celular, como por exemplo leucemias agudas, onde observa-se células com maturidade celular predominantemente indiferenciadas e jovens, como blastos

e células já em estágios mais desenvolvidos de maturação. Já nas leucemias crônicas a morfologia das células são de características predominantemente maduras.(MILLER;GONÇALVES,1999)

A leucemia linfóide crônica é uma patologia que estudos comprovam que noventa por centos dos portadores dessa patologia, possuem idade superior dos 50 anos, acometendo mais o sexo masculino, sendo que não deixando de pertencer também a mulheres, portanto com menor numero de acometidas. Resultando assim em uma proporção maior homens em que mulheres, que chega a ser de dois para um. Geralmente os pacientes descobrem a leucemia linfóide crônica em um exame hematológico rotineiro, pois como a leucemia é de evolução lenta, o estado físico do portador não apresenta nenhuma anormalidade. (RAPAPORT,1990).

Assim, o objetivo geral foi apresentar e destacar a importância das técnicas de Western Blot e Citometria de Fluxo, determinando parâmetros para o diagnóstico de patologias hematológicas, especialmente as células leucêmicas, e comparar a relação do gene da proteína p53 em resultados diagnósticos.

Foram avaliadas ainda, as alterações hematológicas das células neoplásicas, apresentando as patologias hematológicas que estão ocorrendo e outras tecnologias diagnósticas, possíveis tratamentos que podem ser usados por pacientes diagnosticados com Leucemia Linfóide Crônica, destacando a morfologia celular, sintomatologia e tratamento.

A metodologia adotada para a realização deste artigo foi uma pesquisa qualitativa, de caráter descritivo, e quanto aos procedimentos técnicos, foi apresentado um referencial teórico. Enfatizando novos exames e novas técnicas, através de livros, revistas, teses, artigos científicos, dentre outros, disponíveis em acervo eletrônico.

2 LEUCEMIA LINFÓIDE CRÔNICA

A leucemia linfocítica crônica é uma patologia rara no meio mundial, de existência clínica benigna e de evolução lenta. Caracterizada por uma concentração de linfócitos no sangue, provenientes de um aumento na produção de linfócitos do

tipo maduros, de morfologia blástica e formas intermediarias (pró- linfócitos) em todo o sangue periférico (LORENZI;SILVANO,2005).

Ela também é caracterizada por ser agressiva à medula óssea, elevando os um elevado números de linfócitos circulantes na corrente sanguínea. No estágio inicial da patologia um certo número de linfócitos ficam limitados a uma parte da medula óssea, com o decorrer do avanço progressivo da doença, estes linfócitos invadem toda a medula óssea comprometendo também outros órgãos como linfonodos, baco e fígado”.(RAPAPORT,1990).

Na maioria das vezes esta patologia é acompanhada de sintomatologia inespecífica, ou seja, pode ser observada em exames hematológicos de rotina caracterizando um aumento significativo de linfócitos no sangue periférico. Mas em outros casos a leucemia linfóide crônica pode ser observada juntamente com um quadro clínico grave de anemia, ocasionando icterícia, hepatoesplenomegalia e adenomegalia generalizada.(LORENZI;SILVANO,2005).

Em alguns casos os sintomas não são a maioria das queixas, pois o paciente pode manifestar nódulos linfáticos superficiais e/ ou não de uma leucometria elevada e também de um maior número de linfócitos no sangue periférico. Pode-se também observar que estes tipos celulares apresentam uma morfologia de linfócitos pequenos e que preenchem quase toda a medula óssea. (LEAVELL,1976).

A leucemia linfocítica crônica varia de paciente para paciente, pois pode ser diagnosticada e não apresenta agressividade nenhuma ao portador, mesmo sem fazer uso de nenhuma droga mielosupressora, ou pode ser de difícil controle terapêutico levados a um quadro severo de outras patologias, quadros mais agravantes podem evoluir para o óbito. (GARICOCHEA,2005).

Esta patologia ocorre predominantemente em adultos. Apresentando uma porcentagem de ate 90% dos doentes, com idade superior aos 50 anos, e prevalência maior em homens que em mulheres, no total de aproximadamente dois para um dos acometidos. (RAPAPORT,1990).

3 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

Alguns exames apresentam uma grande eficácia no que diz respeito ao auxílio a um diagnóstico preciso, dentre eles, desta-se a biópsia de medula óssea e o mielograma. O primeiro é realizado independente de qual leucemia está sendo tratado, podendo ser aguda ou crônica, e é fundamental para laudos médicos, pois avalia o grau de infiltração e quais as condições do estroma medular, ou seja, o que está ocorrendo com a produção correta de novas células. O mielograma também possui uma grande importância para a concretização de qual leucemia será diagnosticada e ainda a incumbência de medir o grau evolutivo da doença, ou seja, se o paciente está no estágio inicial da doença ou se já está em um estado avançado. Contudo este exame pode ser repetido periodicamente para analisar o avanço da patologia. Já o hemograma completo tem por objetivo analisar a produção de linfócitos e sua porcentagem, sendo a leucocitose de variação dependente do grau da patologia. (LORENZI,SILVANO,2005).

Outro diagnóstico que também pode ser utilizado e que foi descoberto pela primeira vez foi em 1979, é uma fosfoproteína nuclear, responsável por formar um determinado antígeno T do vírus símio 40(SV-40), sendo apontada inicialmente como uma proteína oncogênica e marcada já no ano de 1989 para detecção de genes supressores tumorais. Esta proteína, conhecida como p 53 é uma fosfoproteína composta por 375 aminoácidos, quando sob forma ativa apresenta uma estrutura molecular tetramérica e quatro subunidades de aparência idêntica que se unem. Portanto, cada departamento da proteína p53 é composta por quatro domínios que apresentam as unidades que estão em funcionamento. A primeira parte é composta por 80 aminoácidos, que estão co-relacionados com a capacidade de inibir a ação de outros genes. A outra parte é localizada entre 100 e 300 aminoácidos que indicam a parte central, onde representam a capacidade de ligação com a molécula de DNA. (CAVALCANTI,KLUMB,MAIA,2002).

A proteína p53 está representando um grande avanço no que diz respeito ao diagnóstico e detecção de neoplasias malignas, devido à resposta em potencial do seu gene que apresenta-se mutado em até 50% dos casos. Embora em algumas neoplasias hematológicas sua porcentagem apresenta-se em menor proporção, ela ainda auxilia na diferenciação de neoplasias. Entretanto a proteína p53 sem alterações tem vida curta podendo ser detectada somente de 6 a 20 minutos, embora não apresente ativação em células saudáveis. (CAVALCANTI,SCHEINER,VASCONCELOS,*et all*,2006).

Quando a proteína p 53 perde suas funções por causa do gene TP53 que possui, vários fatores que controlam a sua expressão da proteína p53 são ativados, facilitando assim a detecção e a expressão da proteína, por outras técnicas da Biologia molecular. (CAVALCANTI,KLUMB,MAGLUTA,*et all*,2007).

O Gene tumoral TP53 em humanos é encontrado no braço curto do cromossomo 17. Este mesmo cromossomo possui 20Kb de DNA que é formado por 11 éxons. (MAGLUTA,KLUMB,2008).

Os genes que codificam os tumores oncogênicos têm mostrado serem acompanhados de diferentes tipos de neoplasias malignas, e o gene p53 tem sido o que mais está mais relacionado com as alterações celulares. Embora ela seja capaz de se unir a sequências específicas do DNA, o que a torna de grande importância positiva na transcrição de outros genes importantes para a manutenção da vida espécie humana.(KLUMB,CAVALCANTI,2002).

Portanto as modificações do gene p53 são consideradas as alterações genéticas diagnosticadas com maior frequência em tumores de alta malignidade, em ate 60% nas neoplasias cancerígenas. Portanto nas neoplasias hematológicas é observado um quadro decrescente, vencendo somente as doenças que possuem uma linhagem clínica desfavorável. (CAVALCANTI,KLUMB,MAIA,2002).

A proteína p53 é quem demonstra o que está ocorrendo com o gene TP53, ou seja, o que está o impedindo de atuar no combate a neoplasia. A mesma proteína atua através de anticorpos monoclonais que são ativados para combater os linfócitos doentes e que são liberadas na corrente sanguínea, causando assim a patologia.(LEWIS,BAIN,BATES,2006).

As mutações do gene TP53 e lesões genéticas de maior detecção em várias formas de neoplasias malignas humanas, por fatores a uma predisposição genéticas e por mesmo desenvolverem tais neoplasias. Estas formas também podem ser encontradas não somente na leucemia linfoide crônica, mas também em tumores de mama, cólon, bexiga, pâncreas, e pulmões, tumores do cérebros, linfomas, carcinomas gástricos, hepatocarcinomas e por fim osteosarcomas. Portanto nas regiões mais preservadas da proteína e onde há as mutações “missense” (troca de um nucleotídeo), no gene da TP53, cerca de até 74%(MAGLUTA,KLUMB,2008).

A inabilidade da proteína p53 pode ocorrer quando alterações genéticas de ligações da mesma proteína descrita, por outras proteínas como por exemplo:

proteínas virais, ligações também da proteína p53 com outros tipos de proteínas que tem a função no reparo celular, umas dessas proteínas pode ser a MDM-2.(CAVALCANTI,KLUMB,MAIA, *et al*,2002).

A técnica de Western Blot é pioneira no que diz demonstrar dados no aparecimento da proteína p53. Este método é considerado de alta especificidade e sensibilidade, mas sobretudo quase não é utilizado por ser considerada uma técnica demorada e possuir várias etapas, e também de alto custo, dificultando a execução. Embora seja um diagnóstico a mais para a concretização de qual patologia devera ser tratada. (KLUMB,CAVALCANTI,2002).

A técnica de Citometria de fluxo tem sido de grande reconhecimento médico e científico em células que possuem alterações pelo fato de constituírem tumores, pois através de técnicas preconizadas ela determina a expressão da proteína p53. É uma técnica automatizada de caráter semi –automatizado onde podemos examinar um grande número de amostras em um mesmo tempo. É sabido ainda, que toda proteína se encontra no citoplasma ou no núcleo celular, sendo de grande importância a permeabilização prévia, o que facilita o acesso dos anticorpos conjugados a fluorocromos, através da emissão de luz e também de comprimentos de ondas variados, onde será realizada a leitura e quantificada em cada célula presente.(CAVALCANTI,KLUMB,MAGLUTA,*et all*,2007).

Segundo Klumb;Cavalcanti,2002; A mesma técnica descrita anteriormente também auxilia na detecção de outras proteínas envolvidas com neoplasias hematológicas, como a MDM-2, p21, BCL-2, Bax dentre outras. Tais estão interligadas no controle do ciclo celular e na apoptose de células, possibilitando o acesso dos anticorpos conjugados, a opostos fluorocromos, ou seja, a emissão de luz em comprimentos de onda diferentes que serão lidos e quantificados a porcentagem em cada célula.(KLUMB,CAVALCANTI,2002).

Outra técnica também muito importante é a imunocitoquímica, um exame que possui a vantagem de analisar a expressão da proteína p53 na célula com um ponto de vista a mais na análise citomorfológica, facilitando assim a identificação exata da proteína no núcleo celular. Esta mesma proteína é observada pela presença de uma reação colorida após a aplicação de anticorpos secundários a imunoglobulinas de camundongos, extraídos de um substrato revelador ou mesmo da fosfatase alcalina (CAVALCANTI,KLUMB,MAGLUTA,*et all*,2007).

Já PCR-heteroduplex está relacionada na diferenciação da mobilidade eletroforética nas duplas fitas simples homoduplex e a heteroduplex. A primeira fita chamada heteroduplex, possui inserção ou deleção e não é totalmente complementar, onde irão causar a formação de alças que irão causar diferença de posição na eletroforese. Esta técnica se baseia em desnaturar o produto do PCR em determinadas amostras, onde encontramos misturas de DNA com o gene normal e o outro mutado, de forma que a comparação das fitas simples ocorre em temperatura ambiente, em seguida submetido a uma eletroforese de gel poliacrílamida, com a observação da migração após ser colorido com nitrato de prata.(KLUMB,CAVALCANTI,2002).

De fato os agentes alquilantes que não os medicamentos a base de nitrogênio, como clorambucil, e ciclofosfamida possuem efeito semelhante aos antileucêmicos. Pacientes com esse tipo de patologia também podem ser submetidos a algumas terapias a base de corticosteróides adrenais, como por exemplo a prednisona, que pode ser usada de três a quatro semanas antes de se começar o tratamento com agentes alquilantes. Sua administração é recomendada através do peso do paciente em quantidades de 0,5 a 1 mg, este processo ajuda na diminuição dos nódulos causados pela patologia. A sintomatologia também regride bastante com o uso destas terapias. Administrações em maiores doses podem ajudar no tratamento de pacientes com um nível mais avançado da patologia, mas não na maiorias dos casos, pois os efeitos colaterais não deixam de aparecer.(LEAVELL,1976).

Contudo o tratamento com quimioterapia para pacientes portadores de leucemia linfocítica crônica é na maioria dos casos ineficaz, pois acabam prejudicando ainda mais os doentes, que os favorecendo. Se o paciente se encontra no estagio inicial da doença, este tratamento induz somente a toxicidade e não a melhora nenhuma para o paciente. Uma das drogas mielossupressoras chamada fludarabina tem sido estudada com uma outra combinação com ciclofosfomida. Sobretudo nos últimos anos de avanço tecnológico, sobre novas drogas imunossupressoras, a fludarabina é a mais prescrita para pacientes com esse tipo de neoplasia. Podendo trazer resultados com uma resposta de 60% a 70 % no nos pacientes que fazem uso de droga mielossupressora.(CHIATTONE,2005).

Segundo (VERRASTRO,2002), a técnica de esplenectomia é indicada para aqueles pacientes que já possuem um grau de hiper-hemólise acentuada,

acompanhada de esplenomegalia generalizada, resultando assim em um controle muito bom para a anemia grave.

Vale salientar que o tratamento com outras drogas também é bastante utilizado, dentre as mais comuns encontramos a Desoxiadenosina, fludarabina, pentostatinou e a desoxicoformicina, drogas quimioterápicas que auxiliam no tratamento da patologia descrita (LORENZI, SILVANO, 2005). Ainda podemos destacar a importância do transplante de medula óssea no âmbito de cura da doença o que traz e eleva as chances de cura de muitos pacientes que possuem oportunidade de optar por esse tratamento.

A leucemia Linfóide Crônica é uma patologia que no seu estágio inicial é assintomática, ou seja, o paciente só procura tratamento especializado quando começa a desencadear uma série de sintomas até mesmo inespecíficos como a linfadenopatia, fraqueza, fadiga, anorexia e perda de peso. Com o avanço em que a patologia traz, a meia-vida dos eritrócitos em alguns casos pode estar totalmente comprometida. Com isso cerca de 10% dos pacientes leucêmicos podem desenvolver outras doenças relacionadas, como uma anemia hemolítica auto-imune e até mesmo uma trombocitopenia, que por vezes é leve devido a ocasião e que pode ser tornar grave em consequência ao agravamento da patologia, resultando assim em um diagnóstico clínico de manifestações hemorrágicas. A trombocitopenia é indentificada pela hipoproliferação, mas pode ter decorrência pelo processo auto-imune e pelo sequestro esplênico.(HENRY,2008).

Estudos comprovam que em quase na totalidade, pacientes evoluem para uma quadro de anemia, podendo ser mais branda ou até mesmo muito severa, apresentando assim uma significativa queda do número de eritrócitos, hemorragia, hiper-hemólise e também um número mais elevado de leucócitos.(LEAVELL,1976).

Segundo LEAVELL,1976, o aparecimento de nódulos são comuns, sendo os nódulos na região cervical os que mais acometem estes pacientes, com o aparecimento destes nódulos nas regiões de glândulas salivares e lacrimais, observamos a síndrome de Mikulicz, que é umas das causas que levam o paciente a procurar recursos médicos. Entretanto também podem ser observados nódulos linfáticos na região intra-abdominais, onde causam dores nas regiões abdominais e gastrintestinais. Alguns nódulos mediastínicos podem provocar tosses ou dispnéia.

Na maioria dos casos estes nódulos podem vir a aumentar um pouco sua espessura que varia de 2 a 3 cm de diâmetros. São de aparência firme, móveis e não dolorosos, podendo chegar a medir 10 cm de diâmetros.(LEAVELL,1976).

Outro fator que podemos observar na leucemia linfóide crônica, é a síndrome de Richter, é quando a mesma se torna tão severa que progride para linfoma não-Hodgkin. A transformação desta patologia para linfoma não-Hodgkin é rara, apenas cerca de 2% a 6% dos pacientes desencadeiam tal malignidade. Considerando se for feito um número maior de biópsias linfodonais, haverá um maior número de portadores deste linfoma, pois nem todo paciente portador desta patologia, realiza o exame de biópsia. Esta mesma síndrome pode ocorrer por processos virais e por outras alterações genéticas. (DOBBIN,2005).

Ainda segundo (DOBBIN,2005) relatos comentam que paciente portadores desta patologia possuem o sistema imunológico debilitado e portanto maiores chances de desenvolverem outras neoplasias malignas.

Uma dos diagnósticos diferenciais da leucemia linfóide crônica é a linfocitose, observada e permanente, de mais de 15.000 /mm³ de linfócitos de morfologia aparentemente normais e pequenos. Entretanto a possibilidade que os profissionais despreparados tem em confundir leucemia linfóide aguda do tipo L1 de leucemia linfóide crônica com morfologia pequena e de linfócitos que preenchem quase toda a medula óssea é muito grande.(RAPAPORT,1990).

Os dois tipos de leucemia linfóide crônica tem como referência dois tipo T e B, e são identificados por marcadores imunológicos. O tipo B, que são duas, são a imunoglobulina de superfície(Slg), que obtém uma formação de rosetas com eritrócitos de animais(camundongo) rosetas M e a de alta positividade das células(>30%)frente aos anticorpos monoclonais CD19 e CD24. Para a detecção do tipo T, também de características imunológicas, encontramos formação de rosáceas reagindo com as hemácias de carneiro(rosetas T) e outra uma elevada porcentagem de células positivas quando se testa a imunofenotipagem como os anticorpos CD2 e CD5.(LORENZI,SILVANO,2005).

Esta leucemia linfóide crônica do tipo B é de característica heterogênea, que contém um processo clínico indolente, onde são observados elevado números de linfócitos, descritos como linfócitos CD5+ em tecidos linfóides, no sangue periférico e na medula óssea, esses mecanismos de transformação podem ser visualizados na figura 1.(RUIZ,BARROS,SANTUCCI, *et al*;2010).

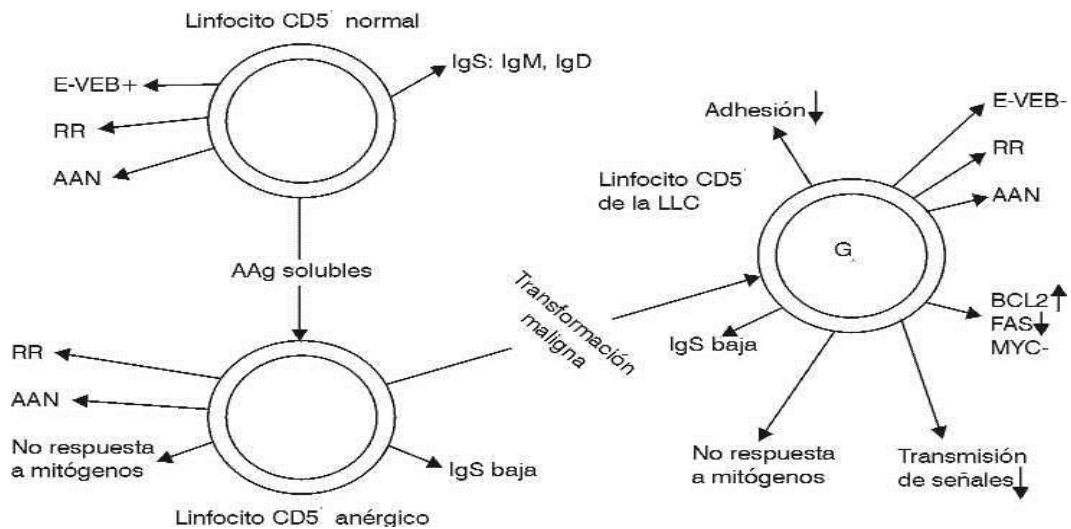


Figura 1: Mecanismos de transformação de linfócito normal B CD5⁺ e de outro linfócito de leucemia linfóide crônica B. E-VEB: estimulação pelo vírus de Epstein-Barr; RR: roseta espontânea com hemácias de ratos; AAN; auto anticorpos naturais; IgS: imunoglobulina de superfície; AAg: auto antígenos; +: positivo/a; -: negativo/a; ↑: aumento; ↓: diminuição.

Fonte: RAMÍREZ, Porfírio Hernández. Leucemia linfóide crônica, aspectos clínicos e biológicos.

4 CONCLUSÃO

Através deste trabalho foi observado que a leucemia linfóide crônica é uma patologia que, mesmo com os avanços tecnológicos e diagnósticos da medicina, ainda não possui sua etiologia totalmente esclarecida. Se trata de uma doença rara no meio mundial acompanhada de uma sintomatologia inespecífica, de progressão e intensidade variáveis, o que vem por agravar na maioria das vezes o prognóstico e posterior tratamento da mesma.

Este trabalho vem sobretudo demonstrar para a população, pacientes e profissionais de uma forma geral, a importância dos diagnósticos clínico e laboratorial precoce, do surgimento de novas metodologias diagnósticas na diferenciação das patologias e seu impacto relevante no posterior tratamento, demonstrando a elevação da sobrevivência desses pacientes e melhora na qualidade de vida dos mesmos.

Sabemos ainda que a prevalência desta patologia é mais relatada em homens que em mulheres, o que nos leva a um fator preocupante, pois por questões

peçoais o homem não da muita importância para sua saúde física e mental. Contudo quando são submetidos a esse diagnóstico, já se encontram em estágios mais avançados da doença, o que dificulta o tratamento.

Sugerimos diante do pressuposto medidas de conscientização e divulgação da relevância da leucemia linfóide crônica, bem como, promover campanhas de doação de medula óssea e a importância da criação de bancos de doadores e destacar na sociedade a necessidade de ajudar quem precisa.

REFERÊNCIAS

CAVALCANTI, JUNIOR, Geraldo Barroso; KLUMB, Claudete Esteves; MAIA, Raquel C. P53 e as hemopatias malignas: p 53 and hematological malignancies. **Revista Brasileira de Cancerologia**, São Paulo, n. , p.419-427, 03 jul. 2002.

CALACANTI, JUNIOR, Geraldo Barroso et al. Detecção da proteína p 53 em células leucemicas por citometria de fluxo e imunocitoquímica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Rio de Janeiro, n. 382, p.91-98, 14 nov. 2006.

CAVALCANTI, JUNIOR, Geraldo Barroso, KLUMB, Claudete, Esteves, MAGLUTA Eliane Pereira Simões, et al. Uso simultâneo do método do pilimorfismo conformacional de fita simples e da citometria de fluxo no aumento da eficácia da detecção de anormalidades do gene e da proteína p53 na leucemia mielóide crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, n. 392, p.103-113, 26 fev. 2007.

CAVALCANTI, JUNIOR, Geraldo Barroso et al. Coexpressão da proteína p 53 e proteínas relacionadas resistência a múltiplas drogas em diferentes tipos de leucemias: associação predominante nos estágios avançados da doença. **Revista Brasileira de Hematologia e Hematerapia**, Rio de Janeiro, n. 412, p.109-118, 07 set. 2009.

CHIATTONE, Carlos S. Tratamento de primeira linha da leucemia linfóide crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. São Paulo, 2005.

DOBBLIN, Jane A. Transformação da LLC – b – síndrome de Richter. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. São José do Rio Preto, out/dez, 2005.

GARICOCHEA, Bernardo. Patogênese da leucemia linfóide crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, out/dez, 2005.

HERNRY, Jonh Bernard. **Diagnosticos clinicos:** e tratamento por metodos laboratoriasis. Barueri; São Paulo: Manoele, 2008. 706 p. (07-6310).

LEAVELL, Byard Stuart. **Hematologia clínica**. Rio de Janeiro: Interamericana, 1979. p281.

LEWIS, S. Mitchell; BAIN Barbara J; BATES Imelda. **Hematologia prática de Dacie e Lewis**; tradução Renato Failace. – 9. Ed. – Porto Alegre: Artmed, 2006.

LORENZI, Therezinha Ferreira; WENDEL Silvano neto. **Hematologia e Hemoterapia:** Fundamentos de morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica. São Paulo: Atheneu, 2005. 303 p.

MAGLUTA, Eliane P. S; KLUMB, Claudete E. Resistência ao tratamento no linfoma de Burkitt: Associação com mutação específicas no gene TP53?. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, p 03. Jan/fev 2008.

MILLER, Otto; GONÇALVES, R. Reis. **Laboratório para o clínico**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999.

RAMÍREZ, Porfírio Hernández. Leucemia linfóide crônica, aspectos clínicos e biológicos. **Revista Cubana de Hematologia, Imunologia e Hemoterapia**. Pág 7-20, Cuba, dez 1999.

RAPAPORT, Samuel. **Hematologia:** Introdução. São Paulo: Roca, 1990. 449 p. (89-2124).

RUIZ, Milton A, BARROS José Carlos A; SANTUCCI Rodrigo et all. O transplante de células-tronco hematopoéticas na leucemia linfóide crônica, uma proposta do primeiro encontro de diretrizes do transplante de Medula Óssea da Sociedade

Brasileira de Transplante de Medula Óssea, Rio de Janeiro 2009. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, 02 abril.2010.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer ao meu senhor Deus, por me conceder a sabedoria, inteligência, proteção e saúde para que eu concluísse mais esta etapa de minha vida, pois sem ele eu não teria chegado até aqui. Toda a honra e glórias sejam dadas aos meu Deus tão maravilhoso, pois a vitória que me foi dada veio dele. Nada acontece em nossas vidas, sem ele permitir.

Quero também agradecer aos meus pais Marco Antônio Cardoso e Rosa Eneida Melo Cardoso, por me concederem a oportunidade de estudar, por ter acreditado em minha capacidade todos os dias de minha vida e por tudo que fez, e estão fazendo para que a minha vida seja cada vez mais abençoada. Agradeço a eles por me ajudarem na educação da Maria Victória nos momentos em que estava no término da minha faculdade. Amo muito cada um de vocês.

Deixo as minhas sinceras palavras a minha irmã Gabriella Melo Cardoso, por ter me apoiado nesta caminhada longa de muitas expectativas, e por cuidar com amor e carinho de minha filha.

Em especial, quero agradecer ao meu esposo Diego Silva, por todo amor, carinho. Pela confiança, compreensão e por aceitado, tudo que foi feito para concluir a minha graduação, obrigada por estar junto a cada passo que dei nestes quatro anos.

Também quero agradecer sinceramente, ao meu orientador Bruno Tolentino Caixeta pela paciência, dedicação e por toda a sabedoria que me concedeu ao longo do decorrer desde trabalho e de minha vida acadêmica, foi de grande importância para mim os seus ensinamentos.

Deixo também os meus agradecimentos a minha professora Nayara Lima, pelo aprendizado e por caminhar lado a lado comigo para que tudo terminasse correto.

Aos demais professores acadêmicos, que estiveram nesta jornada nestes últimos anos, pois tudo que sei hoje é graças a Deus e a cada um de vocês. Obrigada por tudo que fizeram, pelas oportunidades, pelas novas descobertas e por nos ensinar com amor e carinho.

Aos meus colegas de faculdade por dividir comigo cada minutos de suas vidas, tanto na parte de aprendizado como na vida pessoal. Vou guardar cada minuto que vivencie ao lados de vocês. Que Jesus proteja, guarde, abençoe, e ilumine este novo passo que cada um irá dar.

Quero deixar também todo o carinho e admiração pela família que me acolheu neste ano de conclusão do meu curso. Agradeço ao Sebastião Vaz Pereira, Maria Augusta Caixeta Pereira, Isadora Caixeta Vaz, Tamires Caixeta Alves. Por toda a compreensão e forças que me foi dada neste ano.

“Tudo posso naquele que fortaleze”. (Filipenses 4:19)

Data de entrega do artigo: 26/10/2012