

ARTIGO ORIGINAL

Análise do rearranjo BCR/ABL por bandamento GTG e FISH: comparação das freqüências ao diagnóstico da LMC

Analysis of the BCR/ABL rearrangement by GTG banding and FISH: A comparison of frequencies at diagnosis of CML

Cristina B.Vendrame-Goloni¹; Andréa B.Carvalho-Salles²; Octávio Ricci Júnior²; Carlos E.Miguel²; Agnes C.Fett-Conte³

¹Departamento de Biologia IBILCE/UNESP São José do Rio Preto-SP; ²Hemocentro Fundação Faculdade Regional de Medicina de São José do Rio Preto - FUNFARME; ³Departamento de Biologia Molecular, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

Resumo A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal caracterizada pela presença do cromossomo Philadelphia (Ph). Este cromossomo é resultante de uma translocação t(9;22)(q34;q11) que justapõe os genes *BCR* e *ABL*. A detecção do cromossomo Ph e/ou do rearranjo *BCR/ABL*, uma vez que este último é submicroscópico em alguns casos, é fundamental, pois não somente contribui para transformação leucêmica, mas também interfere no sucesso do tratamento. Sua detecção é, portanto, fundamental para o diagnóstico, prognóstico e terapêutica. Este trabalho teve como objetivos estudar a freqüência do cromossomo Ph ou rearranjo *BCR/ABL* nas células da medula óssea de pacientes portadores de LMC ao diagnóstico, com uso das técnicas de bandamento GTG e FISH, e comparar os resultados obtidos com as duas técnicas. O cromossomo Ph e o rearranjo foram observados em 100% dos casos analisados nas diferentes técnicas. Em alguns casos a freqüência do cromossomo Ph, detectado por GTG foi maior do que a do rearranjo molecular *BCR/ABL* detectada por FISH. A técnica de FISH também identificou alterações inespecíficas envolvendo os genes *BCR* e/ou *ABL*. Ambas as técnicas foram fundamentais para os resultados obtidos e, portanto, devem ser usadas como complementares na análise de células da medula óssea de pacientes com LMC ao diagnóstico.

Palavras-chave Hibridização *In Situ* Fluorescente; Leucemia Mielóide Crônica; Proteína de Fusão BCR-ABL; Bandamento Cromossômico.

Abstract Chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal myeloproliferative disorder characterized by the presence of the Philadelphia (Ph) chromosome. This chromosome results from a t(9;22)(q34;q11) translocation that overlaps the *BCR* and *ABL* genes. Detection of the Ph chromosome or the *BCR/ABL* rearrangement, once the latter is submicroscopical in some cases is fundamental, because they not only contribute to the leukemic transformation, but also interfere in the success of treatment. Their detection is, thus, essential for diagnosis, prognosis, and therapy. This work aimed at studying the frequency of the Ph chromosome or the *BCR/ABL* rearrangement in the bone marrow cells at diagnosis of CML patient using the GTG banding and FISH techniques, and comparing the results obtained by both techniques. The Ph chromosome and the rearrangement were observed in 100% of the cases analyzed in different techniques. The frequency in some cases was higher for the Ph chromosome than for the rearrangement. Using FISH, unspecific alterations involving the *BCR* and *ABL* genes were also identified. Both techniques were essential for the results achieved and, therefore, should be employed as complementary examinations in the analysis of bone marrow cells in patients suffering from CML at diagnosis.

Keywords Fluorescence In Situ Hybridization; Chronic Myeloid Leukemia; BCR-ABL Fusion Protein; Chromosome Banding.

Introdução

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal, caracterizada pela presença do cromossomo Philadelphia (Ph) nas células-tronco, pluripotentes anormais, da medula óssea dos pacientes. Esse cromossomo é resultante de uma translocação t(9;22)(q34;q11), que origina

um derivado do cromossomo 9 (9q⁺) e um pequeno cromossomo 22 (22q⁻) conhecido como cromossomo Ph. Este abriga a fusão gênica *BCR/ABL* que codifica uma proteína quimérica BCR/ABL com uma atividade tirosina quinase desregulada. A expressão desta, mostra-se necessária e suficiente para o fenótipo transformado das células. A LMC se difere dos outros cânceres

Apoio Financeiro: Bolsa de Auxílio à Pesquisa – BAP/FAMERP e CNPq
Não há conflito de interesse.

humanos, pois um único produto do oncogene tem sido identificado como responsável pelo aparecimento da patologia.¹ ² BCR/ABL ativa várias vias de transdução de sinal, incluindo aquelas relacionadas ao STAT5 (transdutor de sinal e ativador de transcrição 5), Ras/Raf/MEK (mitogen-activated protein kinase kinase)/ERK (extracellular signal regulating kinase) and PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase)/Akt, que juntas favorecem as células afetadas com vantagem proliferativa e de sobrevivência. BCR/ABL também confere resistência a danos no DNA ativado por várias drogas quimioterápicas e radiação. BCR/ABL nas células malignas pode aumentar a expressão de proteínas antiapoptóticas como STAT5, BCL-XL e AL, ou das que promovem alterações pós-transcricionais, como PI-3K/AKT e Bad.³

A translocação clássica é detectada em 90-95% dos pacientes com LMC estudados por métodos de citogenética convencional (bandamento GTG). Nos 5-10% dos casos restantes, translocações variantes ou rearranjos críticos estão presentes e são necessárias outras técnicas para identificar a presença da fusão gênica BCR/ABL, diferentes RNAm transcritos da fusão, ou outras proteínas quiméricas.⁴ Uma das técnicas muito utilizada é a de Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH), que quando emprega sonda de fusão dupla, é capaz de detectar o rearranjo em cerca de 100% dos casos.⁵

A LMC atípica (cromossomo Ph negativo) ocorre raramente e,

na maioria dos casos, suas características iniciais e curso clínico são similares aos de pacientes Ph positivos. Contudo, a LMC atípica inclui um grupo heterogêneo de pacientes. Em alguns a doença evolui mais agressiva e há um mau prognóstico.²

A detecção de BCR/ABL é fundamental, pois este rearranjo não somente contribui para a transformação leucêmica, como interfere no sucesso do tratamento. Sua detecção é, portanto, fundamental para o diagnóstico, prognóstico e terapêutica.

O presente trabalho teve como objetivos estudar a frequência do cromossomo Ph ou rearranjo BCR/ABL nas células da medula óssea de pacientes portadores de LMC ao diagnóstico com uso das técnicas de bandamento GTG e FISH e comparar os resultados obtidos com as duas técnicas.

Material e Métodos

Células aspiradas de medula óssea foram obtidas de 25 pacientes com LMC, no diagnóstico, ainda não submetidos a tratamento químico ou radioterápico. A Tabela 1 apresenta a caracterização dos pacientes quanto ao sexo, à idade, à procedência, às queixas clínicas ao diagnóstico e à fase da doença no momento do estudo. A maioria (68%) foi composta por homens que estavam na fase crônica da doença (92%), eram procedentes de São José do Rio Preto, SP (52%), e apresentavam queixas clínicas comumente observadas no curso da doença.

As células foram cultivadas por 24 horas em meio de cultura

Tabela 1. Dados clínicos/demográficos dos pacientes estudados.

Caso	Sexo	Idade	Procedência	Fase da Doença	Queixas clínicas
1	M	44	SJRP – SP	C	NI
2	M	18	SJRP – SP	C	dor nas costas, esplenomegalia
3	M	55	SJRP – SP	C	aumento do volume e dor abdominal, perda de peso e fraqueza
4	F	13	SJRP – SP	C	dor em hipogástrio, diarreia, urina escura, febre, desorientação e dificuldade de deambulação por fraqueza em M.M.I.I
5	M	42	? – MT	C	NI
6	F	69	SJRP – SP	C	“queimação” em região retro-esternal, associado à dispnéia
7	F	26	Barretos – SP	C	NI
8	M	30	Barretos – SP	C	dores ósseas, febre e emagrecimento
9	M	40	? – MG	C	NI
10	F	45	SJRP – SP	C	Mialgia
11	M	64	SJRP – SP	C	sem queixas
12	M	49	SJRP – SP	C	dor em hipocôndrio e esplenomegalia
13	M	29	? - MS	C	nódulo no braço
14	F	36	? – RO	C	náusea e febre
15	F	48	? – MS	C	tontura, náusea, cefaléia e febre
16	F	26	Barretos	C	astúria
17	M	52	SJRP – SP	C	Esplenomegalia
18	M	48	? - MS	C	Esplenomegalia
19	M	16	Barretos – SP	A	falta de apetite, palidez, aumento do volume abdominal, sangramento fecal, febre, tosse, falta de ar e cansaço
20	M	26	Barretos – SP	C	dor epigástrica
21	M	58	Barretos – SP	C	NI
22	M	77	SJRP – SP	C	“queimação” epigástrica
23	M	54	SJRP – SP	A	nódulo infra-mamário, emagrecimento, dor abdominal e massa abdominal palpável
24	M	69	SJRP – SP	C	prurido pelo corpo, placas eritematosas e emagrecimento
25	F	60	SJRP – SP	C	leucocitose evidente em exames pré-operatórios a incontinência urinária

M = masculino; F = feminino; C = fase crônica; A = fase aguda

? = cidade não informada; MG = Minas Gerais; MS = Mato Grosso do Sul; MT = Mato Grosso; RO = Rondônia; SJRP = São José do Rio Preto; SP = São Paulo

Tabela 2. Frequência de metáfases submetidas ao bandamento GTG com a translocação t(9;22)(q34;q22), frequência de núcleos com o rearranjo *BCR/ABL* e frequência de núcleos com outras alterações envolvendo *BCR* e/ou *ABL*, detectados por FISH

Caso	GTG Frequência de metáfases com Ph (%)	FISH núcleos com <i>BCR/ABL</i> (%)	FISH núcleos com alterações adicionais (%)
1	100	84	—
2	100	42	—
3	100	97	—
4	95	77	—
5	100	96	—
6	100	98	—
7	100	31	—
8	100	51,5	—
9	100	79,5	—
10	NP	78	—
11	17	68	—
12	100	0,5	88,5
13	17	3	72
14	NP	24	—
15	22	76	—
16	100	2	83,5
17	NP	1	92,5
18	NP	99	—
19	NP	91	1
20	NP	1,5	54,5
21	67	75	—
22	NP	4,5	69
23	NP	81	—
24	100	98	—
25	17	4,5	41

NP= análise não foi possível

RPMI1640 suplementado com 20% de soro fetal bovino. Parte do material foi submetido à técnica de bandamento GTG e a outra parte submetida à técnica de FISH. A sonda utilizada foi de marcação dupla para os genes *BCR* e *ABL* (LSI/BCR labeled in SpectrumGreen and LSI/ABL labeled in SpectrumOrange, Vysis). Os protocolos para Hibridização e detecção seguiram os descritos por ESTÉCIO e col. (2002)⁶ e instruções do fabricante. A análise do material submetido à técnica de bandamento GTG foi realizada em cerca de 20 metáfases. Para a técnica de FISH pelo menos 300 núcleos foram analisados por paciente. Os resultados foram descritos de acordo com o *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (ISCN 1995).⁷ Como controles foram utilizadas células de cultura de linfócitos de indivíduos normais e nenhum apresentou os dois sinais fundidos. Foram considerados positivos os casos com frequências do rearranjo *BCR/ABL* superiores a 0,5%.³

Resultados

As frequências relativas do cromossomo Ph, observadas na análise citogenética por bandamento GTG, as frequências do rearranjo *BCR/ABL* e de outras alterações, detectadas pela técnica de FISH, estão apresentadas na Tabela 2.

O cromossomo Ph foi observado em 100% dos casos estudados por citogenética convencional (Figura 1A). Em oito pacientes a investigação citogenética por bandamento GTG não foi possível, em decorrência da ausência de metáfases ou por estas não apresentarem em condições de análise.

Tabela 3. Descrição e frequência das alterações atípicas observadas.

Caso	Alterações atípicas	%
12	FRG	88,5
13	FRGG	72
16	FRG	69,5
	GFRG	12
	FFG	2
17	FRG	67
	GFRG	24
	FFG	1,5
19	FFFRG	1
20	FRG	54,5
22	F/ganhos/perdas variáveis de R ou G	69
25	FRRGGG	37
	FFRRGG	2
	FFRRGGG	2

F = fusão; R = vermelho (gene *ABL*); G = verde (gene *BCR*)

Nenhum caso apresentou alterações cromossômicas clonais, além da t(9;22).

O caso 12, porém, apresentou o cromossomo Ph em todas as células e apenas uma das 20 metáfases analisadas com a perda do derivado do cromossomo 9 translocado, um evento considerado inicialmente como não clonal. Quando analisado por FISH, a maioria (88,5%) dos núcleos exibia apenas uma fusão e os dois sinais normais, caracterizando a perda de um dos cromossomos derivados (provavelmente o 9), como clonal e sugestiva de evolução clonal da doença.

Na análise por FISH, todos os outros casos também mostraram o rearranjo típico envolvendo *BCR* e *ABL*, caracterizado por dois sinais fundidos, um sinal verde e um sinal vermelho (Figura 1B) em frequências que variavam de 0,5 a 99%.

A detecção por FISH de alterações atípicas adicionais foi observada em 32% dos pacientes (12, 13, 16, 17, 19, 20, 22 e 25). Com exceção do caso 19, os demais apresentaram frequências destas alterações muito mais altas do que as do rearranjo *BCR/ABL*. Tal caso apresentou inclusive cromossomo Ph em 1% das células analisadas. A Tabela 3 mostra tais alterações observadas por FISH em núcleos considerados não poliplóides por não apresentar alterações de tamanho ou sinais fluorescentes indicativos de cópias extras de todos os cromossomos passíveis de análise.

Discussão

A detecção do rearranjo *BCR/ABL* ou do cromossomo Ph, que em alguns casos são a mesma coisa e em outros não, é importante para o diagnóstico diferencial e prognóstico da LMC.² Tais alterações foram observadas por bandamento GTG e FISH, mesmo em frequências diferentes, em todos os casos aqui estudados, o que possibilitou a conclusão do diagnóstico hematológico e a sugestão de um bom prognóstico para os pacientes.²

Neste trabalho foram utilizadas duas; contudo, são diversas as estratégias de análise genética das células leucêmicas e estas incluem além do bandamento GTG e da técnica de FISH, a técnica de RT-PCR e de PCR real-time.⁸

A análise em bandamento GTG, embora mais demorada e dependente da obtenção de metáfases em boas condições, tem

uma importância fundamental na detecção de alterações adicionais ao cromossomo Ph ou variantes deste e, conseqüentemente, na investigação da evolução clonal da doença.⁹ Neste estudo, realizado em pacientes ao diagnóstico, apenas um deles (12) apresentou uma alteração atípica observada em apenas uma metáfase como a perda não clonal do derivado do cromossomo 9. Pela técnica de FISH a alteração foi confirmada como clonal e caracterizada pela presença de apenas um sinal fundido e dois sinais normais, sugerindo a perda de um dos derivados da translocação t(9;22). Se a técnica de FISH não fosse realizada, a clonalidade e evolução clonal não seriam detectadas.

Realmente, a técnica de FISH possui vantagens em relação ao bandamento GTG, que incluem maior sensibilidade, total especificidade, uso de células interfásicas, número maior de células analisadas e capacidade de detectar rearranjos submicroscópicos. No entanto, a técnica de FISH tem sempre um alvo específico relacionado com as sondas que foram utilizadas e não permite a detecção de outras alterações.¹⁰

A porcentagem de células com o rearranjo *BCR/ABL* observadas por FISH ao diagnóstico variou de 0,5 to 99% ($x = 54,5$). Outros autores tem descrito níveis de 30 a 98%, 66 a 98% e mais freqüentemente de 77 a 88%.¹¹ Deve ser considerado, no entanto, que muitas freqüências descritas envolveram o uso de sondas de marcação simples que resultam em freqüências aumentadas de células falso positivas para a fusão, ao contrário das sondas de marcação dupla, como aqui utilizadas, com as quais esta possibilidade chega a ser nula.^{12,10}

Na maioria dos casos aqui estudados, a freqüência de células com Ph foi maior que a freqüência de núcleos detectados com o rearranjo *BCR/ABL* e, estes casos mostram, portanto, a existência de células hematopoéticas residuais normais e clones de células Ph positivo se proliferando ativamente.¹³ Freqüências maiores são obviamente esperadas pela análise em bandamento GTG pelo fato desta ser realizada apenas em células metafásicas. Como as culturas não recebem estímulo mitogênico, as células que freqüentemente se dividem mais são as malignas, pelo próprio estímulo anormal para crescimento que possuem. Assim, esta técnica, ao diagnóstico, é fundamental para investigar a presença ou ausência de alterações, mas não a freqüência real na medula óssea *in vivo*, o que é possibilitado pela técnica de FISH, pelas razões já referidas anteriormente.

A freqüência do rearranjo *BCR/ABL* foi alta na maioria dos casos estudados, mas em 32% deles tais freqüências foram baixas e o rearranjo foi observado em associação com outros rearranjos incomuns envolvendo o oncogene *ABL* e o gene *BCR* detectados com freqüências altas na maioria deles. Com exceção do caso 19, cuja alteração era um rearranjo *BCR/ABL* extra, tais alterações atípicas, não puderam ser esclarecidas, pois não foram observadas em bandamento GTG, mas foram indicativas de evolução clonal da doença e de mau prognóstico, indicativos do uso de medidas terapêuticas mais agressivas.¹⁴

Estudos recentes descrevem que 15% dos casos de LMC apresentam uma deleção no der(9), que ocorre no momento inicial da formação do cromossomo Ph, 76% destes casos apresentam deleções distais no *BCR* e proximais no *ABL*. Os pacientes com tais deleções têm sido relacionados com prognóstico pior quando tratados com quimioterapia convencional, embora quando tratados com imatinibe tanto os que apresentam a deleção ou aqueles que não apresentam, respondem de maneira igualmente favorável.¹⁵ Existem dois mecanismos que explicam como um rearranjo *BCR/ABL* atípico

pode surgir. Um é que pode ocorrer uma inserção não recíproca entre os cromossomos 9 e 22, resultando na fusão gênica. A inserção pode ocorrer dentro de qualquer cromossomo, embora a fusão gênica esteja situada mais freqüentemente (75%) em seu local habitual que é no 22q11, do que no derivado do cromossomo 9 (25%). O outro mecanismo, mais complexo, envolve duas translocações seqüenciais. Primeiro ocorre a translocação (9;22)(q34;q11) que origina o Ph. Esta é seguida por uma segunda translocação recíproca envolvendo outros pontos de quebra que reconstitui o padrão cromossômico normal e, neste caso, o gene quimérico pode estar nos pontos habituais ou nos recíprocos, dependendo se a segunda quebra ocorreu distal ou proximal aos genes alterados, respectivamente.¹⁵

HAIGH & CUTHBERT (2004)¹⁵ descreveram quatro casos de LMC com rearranjos *BCR/ABL* crípticos (atípicos): microinserção de *BCR* no *ABL* (resultando, em FISH, em FRGG); microinserção de *ABL* no *BCR* (FRRG); rearranjo complexo incluindo deleção de seqüências adjacentes flanqueadas (FRRG) e rearranjos mais complexos envolvendo o cromossomo 1 (FRRG). Nesses casos os autores utilizaram também a sonda ASS probe para detectar deleções de seqüências flanqueadas, que estão relacionadas a mau prognóstico. Portanto, uma única fusão pode estar relacionada a diferentes deleções no derivado do cromossomo 9¹⁶, o que poderia explicar a freqüência elevada de fusão única em sete dos pacientes.

A presença de fusão extra geralmente está relacionada a um segundo cromossomo Ph,¹⁶ o que foi observado em um caso deste estudo (caso 19), e que também está relacionado com um mau prognóstico.

Todos os pacientes foram submetidos a tratamentos específicos, de acordo com os critérios estabelecidos no Protocolo de Diretrizes Terapêuticas (Portaria SAS/MS nº 431, de 03/10/2001) e submetidos ao tratamento com o inibidor da tirosina quinase *BCR-ABL (IRIS Study)*¹⁷ denominado mesilato de imatinibe, utilizado em muitos serviços de hematologia como tratamento de primeira linha da LMC¹⁸. Alguns pacientes também foram submetidos ao transplante de medula óssea.

Os resultados obtidos permitiram concluir que as técnicas de bandamento GTG e FISH são fundamentais e complementares para o diagnóstico e prognóstico da LMC. Contudo, como não esclarecem todos os eventos citogenéticos detectados na LMC devem também, sempre que possível, serem associadas, com técnicas moleculares.

Referências bibliográficas

1. Melo JV, Hughes TP, Apperley JF. Chronic myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003;132-52.
2. Koldehoff M, Beelen DW, Trensche R, Steckel NK, Peceny R, Ditschkowski M et al. Outcome of hematopoietic stem cell transplantation in patients with atypical chronic myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2004;34(12):1047-50.
3. Dai Y, Rahmani M, Corey SJ, Dent P, Grant S. A Bcr/Abl-independent, Lyn-dependent form of imatinib mesylate (STI-571) resistance is associated with altered expression of Bcl-2. *J Biol Chem* 2004;279(33):34227-39.
4. Aoun P, Wiggins M, Pickering D, Foran J, Rasheed H, Pavletic SZ et al. Interphase fluorescence in situ hybridization studies for the detection of 9q34 deletions in chronic myelogenous leukemia: a practical approach to clinical diagnosis. *Cancer Genet Cytogenet* 2004;154(2):138-43.
5. Drummond MW, Allan EK, Pearce A, Holyoake TL. Fluorescence in situ hybridization for *BCR/ABL*. *Methods Mol Med* 2004;97:103-16.
6. Estécio M, Fett-Conte AC, Varella-Garcia M, Fridman C, Silva AE. Molecular and cytogenetic analyses on Brazilian youths with pervasive

developmental disorders. *J Autism Dev Disord* 2002;32(1):35-41.

7. Mitelman F, editor. *ISCN 1995: An international system for human cytogenetic nomenclature*. Basel: Karger; 1995. 114p.

8. Raanani P, Ben-Bassat I, Gan S, Trakhtenbrot L, Mark Z, Ashur-Fabian O et al.

Assessment of the response to imatinib in chronic myeloid leukemia patients—comparison between the FISH, multiplex and RT-PCR methods. *Eur J Haematol* 2004; 73(4):243-50.

9. Cortes JE, Talpaz M, Giles F, O'Brien S, Rios MB, Shan J et al. Prognostic significance of cytogenetic clonal evolution in patients with chronic myelogenous leukemia on imatinib mesylate therapy. *Blood* 2003;101(10):3794-800.

10. Usman M, Kakepoto GN, Adil SN, Sajid R, Arain S, Khurshid M. Hematologic and cytogenetic findings in eleven chronic myelogenous leukemia patients treated with imatinib mesylate at a tertiary care hospital. *J Pak Med Assoc* 2004;54(1):17-20.

11. Chauffaille ML, Oliveira JS, Romeo M, Kerbauy J. Fluorescent in-situ hybridization (FISH) for BCR/ABL in chronic myeloid leukemia after bone marrow transplantation. *Sao Paulo Med J* 2001;119(1):16-8.

12. Dewald GW, Wyatt WA, Juneau AL, Carlson RO, Zinsmeister AR, Jalal SM et al. Highly sensitive fluorescence in situ hybridization method to detect double BCR/ABL fusion and monitor response to therapy in chronic myeloid leukemia. *Blood* 1998;91(9):3357-65.

13. Amare PS, Baisane C, Saikia T, Nair R, Gawade H, Advani S. Fluorescence in situ hybridization: a highly efficient technique of molecular diagnosis and predication for disease course in patients with myeloid leukemias. *Cancer Genet Cytogenet* 2001;131(2):125-34.

14. O'Dwyer ME, Mauro MJ, Blasdel C, Farnsworth M, Kurilik G, Hsieh YC et al. Clonal evolution and lack of cytogenetic response are adverse prognostic factors for hematologic relapse of chronic phase CML patients treated with imatinib mesylate. *Blood* 2004;103(2):451-5.

15. Haigh S, Cuthbert G. Fluorescence in situ hybridization characterization of different cryptic BCR-ABL rearrangements in chronic myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2004;155(2):132-7.

16. Robinson HM, Martineau M, Harris RL, Barber KE, Jalali GR, Moorman AV et al. Derivative chromosome 9 deletions are a significant feature of childhood Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukaemia. *Leukemia* 2005;19(4):564-71.

17. Usui N. Imatinib therapy for patients with chronic myelogenous leukemia. *Gan To Kagaku Ryoho* 2005;32(3):297-303.

18. Prabhash K, Biswas G, Prasad N, Karant N, Sastry PS, Parikh PM. Imatinib-induced nail hyperpigmentation in chronic myeloid leukemia. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2006;72(1):63-4.

Correspondência:

Cristina B. Vendrame-Goloni

Hemocentro-Laboratório de Genética

Av. Brigadeiro Faria Lima, 5544

15090-000 – São José do Rio Preto - SP

Tel: (17)3201-5000 ramal 1931

e-mail: cristina.benitez@ig.com.br
