

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**DETECÇÃO PRECOCE DE RECIDIVAS EM
PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO ATRAVÉS
DA ANÁLISE DE IMUNOGLOBULINAS
MONOCLONAIS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Marta Helena Carlesso Aita

Santa Maria, RS, Brasil

2014

DETECÇÃO PRECOCE DE RECIDIVAS EM PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO ATRAVÉS DA ANÁLISE DE IMUNOGLOBULINAS MONOCLONAIS

Marta Helena Carlesso Aita

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**

Orientador: Prof.Dr. José Edson Paz da Silva
Coorientador: Me. Luiz Claudio Arantes

Santa Maria, RS, Brasil

2014

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Carlesso Aita, Marta Helena
Detecção precoce de recidivas em pacientes com mieloma múltiplo através da análise de imunoglobulinas monoclonais / Marta Helena Carlesso Aita.-2014.
83 p.; 30cm

Orientador: José Edson Paz da Silva
Coorientador: Luiz Claudio Arantes
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2014

1. Imunofixação 2. Eletroforese 3. Recidivas 4.
Mieloma múltiplo I. Paz da Silva, José Edson II.
Arantes, Luiz Claudio III. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

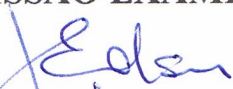
A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**DETECÇÃO PRECOCE DE RECIDIVAS EM PACIENTES COM
MIELOMA MÚLTIPLO ATRAVÉS DA ANÁLISE DE
IMUNOGLOBULINAS MONOCLONAIS**

elaborada por
Marta Helena Carlesso Aita

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:



José Edson Paz da Silva, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Luiz Claudio Arantes, Me. (UFSM)
(Coorientador)



Sandra Trevisan Beck, Dr^a. (UFSM)



Cleci Menezes Moreira, Dr^a. (UNIPAMPA)

Santa Maria, 15 de dezembro de 2014.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus pela vida, pela força interior que me transmite a cada dia para seguir adiante e por me mostrar que nada é impossível de ser solucionado quando acreditamos e lutamos pelos nossos objetivos.

Aos meus pais Vitório e Rosa pelo exemplo de luta e perseverança que demonstraram na sua vida e por sentir que mesmo em outra dimensão eles estão presentes no meu coração, me iluminando nos momentos difíceis.

À tia Adolfina, a quem cuido com muito amor e carinho, que soube compreender minhas ausências.

À minha madrinha Tereza, minha segunda mãe que, desde criança, me aconselha e me transmite força e coragem, pois muito do que sou devo a ela. Obrigada por tudo.

Ao meu marido, Celso, pelo amor, incentivo e paciência dedicados nesses anos de companheirismo e por me passar confiança através da sua experiência, me ajudando a esclarecer dúvidas, principalmente na etapa de redação desse trabalho.

Aos meus filhos Bruno e Rafael, que souberam compreender minhas ausências e também por me ajudar a finalizar este trabalho.... meus dois amores.... obrigada por fazerem parte da minha vida....faltam palavras para expressar todo o amor que sinto por vocês!!!

À Bárbara, agradeço pela demonstração de carinho e por sempre torcer por mim.

A todos meus familiares pelo carinho, amor e incentivo dedicados.

Ao meu orientador, professor Dr. José Edson Paz da Silva, por acreditar e confiar em mim, além de ter me dado a oportunidade de alcançar esse objetivo. Obrigada pela orientação, dedicação, amizade e conhecimentos transmitidos.

Ao meu coorientador, médico nefrologista Luiz Claudio Arantes, agradeço pela sua incansável dedicação, e que, mesmo com tantos compromissos, sempre me atendeu com paciência, competência e amizade.

Aos médicos do CTMO Dr. Dalnei Veiga Pereira e Dr^a. Cristiane Fração Diefenbach e à sua equipe, agradeço pelo carinho, atenção e disponibilidade em passar seus conhecimentos, o qual foi muito importante na realização deste estudo.

Agradeço também a todos os funcionários, enfermeiros e técnicos do setor de quimioterapia do HUSM, por sempre demonstrarem interesse, amizade e carinho, permitindo que eu pudesse dialogar com os pacientes, o que muito me ajudou nessa pesquisa.

Ao diretor e vice-diretora do LAC-HUSM, Elehú Moura de Oliveira e Iara Bertoncello e à diretora do laboratório de Hemato-Oncologia, Dra. Virgínia Maria Coser Asper, agradeço por terem possibilitado a realização deste trabalho.

Às prof^{as} do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Camila, Tissiane, Rosemary e Marli, colegas Marinês e Leidiane e aos secretários da coordenação do curso de farmácia, Carmem e Silvio, obrigada pela atenção e carinho de todos vocês.

À colega de mestrado Renata, agradeço pela amizade e ajuda prestada durante a realização deste trabalho.

Às grandes amigas, Bettina, Lisiane e Marta, minhas queridas conselheiras de sempre e que as considero como “irmãs”, pelo convívio de anos juntas, pela amizade e incentivo que sempre me dedicaram. Agradeço de coração por tudo.

Às minhas colegas do LAC-HUSM, Eliane, Sandrinha, Mariza, Gica, Norma, Lu, Miriam, Nélia, Tati, Mara e Fátima e aos colegas Dilmar e Vanderlei obrigada pela compreensão e carinho e que, mesmo nas minhas ausências, souberam compreender e me transmitir forças para seguir em frente.

Aos colegas da secretaria do LAC, Eugênio e Débora, agradeço pela atenção e presteza no atendimento dos pacientes e no recebimento dos materiais para este estudo.

Também aos técnicos do laboratório de Hemato-Oncologia, responsáveis pela coleta de sangue dos pacientes, valeu pela ajuda de vocês.

Eu não poderia deixar de agradecer a todos os pacientes com quem convivi durante todo esse período e que me mostraram o verdadeiro significado das palavras, coragem, esperança e amor pela vida. A todos eles, a minha profunda gratidão.

Enfim, a todos os amigos e colegas que não foram citados, mas que de alguma forma colaboraram neste estudo, meu agradecimento.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

DETECÇÃO PRECOCE DE RECIDIVAS EM PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO ATRAVÉS DA ANÁLISE DE IMUNOGLOBULINAS MONOCLONAIS

Autor: Marta Helena Carlesso Aita
Orientador: Prof.Dr. José Edson Paz da Silva
Coorientador: Me. Luiz Claudio Arantes
Data e Local de Defesa: Santa Maria, 15 de dezembro de 2014.

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia hematológica progressiva, com evolução heterogênea e ainda incurável. É uma doença caracterizada pela proliferação clonal anormal de plasmócitos na medula óssea produzindo imunoglobulinas monoclonais e ocasionando uma série de disfunções orgânicas. A maioria dos pacientes recidivam após o tratamento. Portanto, a utilização de métodos de análise de amostras séricas e urinárias, que permitam detectar o mais precocemente possível a presença de imunoglobulinas monoclonais, antes da ocorrência das recidivas, pode auxiliar no tratamento de pacientes com MM, melhorando a qualidade e ampliando o tempo de sobrevida dos mesmos. No presente estudo foram comparadas as técnicas de imunofixação (IF) e eletroforese (EF) quanto a sua eficácia na detecção das recidivas do MM. Para isso, foram monitorados 52 pacientes em tratamento junto ao Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), sendo detectada a recidiva da doença em nove destes pacientes. A análise retrospectiva de proteínas séricas dos nove pacientes, no período entre janeiro de 2012 e julho de 2014, mostrou que a IF foi mais eficaz do que a EF em detectar precocemente as recidivas, independentemente da classe de imunoglobulinas presente. Nos nove pacientes recidivados, a precocidade da IF, em relação à EF, na detecção das recidivas do MM variou de 2,0 a 18,8 meses, com um tempo médio de 6,6 meses.

Palavras-chave: Imunofixação, Eletroforese, Recidivas, Mieloma múltiplo.

ABSTRACT

Thesis for the degree of Master of Science
Graduate Program in Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria

EARLY DETECTION OF RELAPSES IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA BY ANALYSIS OF MONOCLONAL IMMUNOGLOBULINS

Author: Marta Helena Carlesso Aita
Advisor: Prof.Dr. José Edson Paz da Silva
Co-Advisor: Me. Luiz Claudio Arantes
Place and date of defense: Santa Maria, December 15, 2014.

Multiple myeloma (MM) is an incurable progressive hematologic malignancy with heterogeneous evolution. It is a disease characterized by abnormal clonal proliferation of plasma cells in the bone marrow producing monoclonal immunoglobulins and causing a number of organ dysfunctions. Most patients relapse after treatment. Therefore, the use of methods of analysis of serum and urinary samples in order to detect as early as possible the presence of monoclonal immunoglobulins, before the occurrence of relapses, may aid in the treatment of patients with MM, improving its quality and prolonging survival. In this study we compared the effectiveness of the techniques of immunofixation (IF) and electrophoresis (EP) in the detection of MM relapses. For this, 52 patients under treatment in the University Hospital of Santa Maria (HUSM) were monitored, being detected the relapse of the disease in nine of these patients. A retrospective analysis of serum proteins of the nine patients, between January 2012 and July 2014, showed that IF was more effective than EP in early detection of relapse, regardless of the present class of immunoglobulins. The precocity of IF in relation to EP in detecting MM relapses in the nine patients studied, ranged from 2.0 to 18.8 months, with a mean of 6.6 months. Thus, we suggest the implementation of IF in the Clinical Analysis Laboratory (CAL) of HUSM to help onco-hematology physicians in the diagnosis and supportive care for patients with MM.

Keywords: Immunofixation, Electrophoresis, Relapses, Multiple myeloma.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Molécula de imunoglobulina normal contendo cadeias pesadas pareadas com uma cadeia leve menor conectada em cada.	19
Figura 2 – Representação de uma EF em gel de agarose	28
Figura 3 – Eletroforese em gel de agarose. (A) Perfil sérico normal; (B) Pico monoclonal sérico; (C) Pico monoclonal urinário.....	28
Figura 4 – Principais proteínas encontradas em cada banda eletroforética.	29
Figura 5 – Resultado de IFS em pacientes com MM	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características das imunoglobulinas (Igs).....	20
Tabela 2 – Critérios no diagnóstico da gamopatia monoclonal de significado indeterminado, do MM assintomático e do MM sintomático.....	25
Tabela 3 – Procedimentos e técnicas mais relevantes utilizados atualmente para a avaliação e diagnóstico de pacientes com MM	32
Tabela 4 – Estadiamento de Durie e Salmon.....	38
Tabela 5 – Sistema Internacional de Estadiamento do MM (<i>International Staging System</i>)...	39
Tabela 6 – Opções de tratamento do MM conforme a IMF (2012)	41

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AL: Amiloidose

Alb: Albumina Sérica

ANN: Anemia Normocítica Normocrômica

BME: Beta-Mercaptoetanol

CF: Citometria de Fluxo

CLL: Cadeias Leves Livres

CM-: Ausência de Componente Monoclonal

CM: Componente Monoclonal

CM+: Presença de Componente Monoclonal

CRE: Creatinina sérica

DHL: Desidrogenase Láctica

EF: Eletroforese

EFS: Eletroforese Sérica

EFU: Eletroforese Urinária

FISH: Fluorescent In Situ Hybridization

FLC: *Free Light Chain* (Cadeias Leves Livres)

GMSI: Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado

Hb: Hemoglobina

HDACs: Inibidores das Histonas Desacetilases

HLC: *Heavy Chain / Light Chain Assay* (razão cadeia leve / cadeia pesada)

HUSM: Hospital Universitário de Santa Maria

IF: Imunofixação

IFS: imunofixação Sérica

IFU: imunofixação Urinária

Ig: Imunoglobulina

IgG, IgA, IgM, IgD e IgE : Imunoglobulinas da classe G, A, M, D e E

IGH : Immunoglobulin heavy locus

IMF: *International Myeloma Foundation* (Fundação Internacional de Mieloma)

IMiDs: Drogas Imunomoduladoras

IMWG: *International Myeloma Working Group* (Grupo Internacional de Trabalho sobre Mieloma)

IRM: Imagem por Ressonância Magnética
ISS: *International Staging System* (Sistema Internacional de Estadiamento)
LAC: Laboratório de Análises Clínicas
LLC: Leucemia Linfóide Crônica
LNH: Linfoma Não-Hodgkin
MLL: Mieloma Múltiplo Latente
MM: Mieloma Múltiplo
MML: Mieloma Múltiplo Latente
MRD1: Resposta antes do transplante autólogo de células tronco
MRD2: Resposta após o transplante autólogo de células tronco
MRD3: Resposta após fase de consolidação (do transplante autólogo de células tronco)
PET: Tomografia por Emissão de Pósitrons
PM: Pico Monoclonal
PNCQ: Programa Nacional de Controle de Qualidade
RDW: Índice de Anisocitose Eritrocitária (*Red Cell Distribution Width*)
TACT: Transplante Autólogo de Células-Tronco
TC: Tomografia Computadorizada
TC: Tomografia Computadorizada
VGPR: *Very Good Partial Response* (Resposta Parcial Muito Boa)
 β 2-m: Beta 2-microglobulina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
1.1 Objetivo geral	15
1.1.1 Objetivos específicos	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Mieloma Múltiplo	16
2.1.1 Epidemiologia.....	17
2.1.2 Etiologia	18
2.1.3 Fisiopatologia	19
2.1.4 Aspectos clínicos	22
2.2 Diagnóstico do MM	24
2.2.1 Eletroforese de proteínas séricas (EFS) e/ou urinárias (EFU).....	27
2.2.2 Imunofixação sérica(IFS) e urinária(IFU).....	30
2.2.3 Outras técnicas para o diagnóstico do MM	32
2.3 Prognóstico e sistema de estadiamento.....	37
2.4 Tratamento do MM.....	40
2.5 Mieloma múltiplo recidivado e refratário	42
3 MANUSCRITO.....	44
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA DISSERTAÇÃO	70
ANEXOS	80
ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	80
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO	83

1 INTRODUÇÃO GERAL

O mieloma múltiplo (MM) é um tumor maligno e progressivo, caracterizado pela proliferação desregulada de um clone de células plasmáticas dentro da medula óssea, que segregam um excesso de imunoglobulinas monoclonais íntegras e/ou fragmentos destas, chamadas de proteína-M, proteína do mieloma ou paraproteína. O MM é responsável por 1% de todas as mortes provocadas por câncer nos países ocidentais, sendo a segunda doença onco-hematológica mais comum no mundo, com cerca de 10% dos casos (RAJKUMAR, 2011; HUNGRIA et al., 2013), perdendo apenas para os linfomas.

Embora na América Latina o MM atinja quase 10 mil pessoas a cada ano, no Brasil a sua incidência ainda não é conhecida com precisão, já que ela não faz parte das estimativas anuais do Instituto Nacional de Câncer (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2014). A prevalência da doença é maior a partir da quinta década de vida, principalmente entre 50 e 60 anos, embora, alguns casos (cerca de 2%) são diagnosticados em indivíduos com idade inferior a 40 anos, inclusive em crianças (HUNGRIA et al., 2006). Também é mais comum em negros e relativamente mais frequente em indivíduos do sexo masculino (RAJKUMAR, 2009). O aumento da incidência do MM nos últimos anos está relacionado ao maior conhecimento da história natural da doença e da sua patogênese, aliado ao incremento dos recursos laboratoriais para a sua detecção, ao aumento da expectativa de vida mundial e à exposição crônica a agentes poluentes (HIDESHIMA et al., 2004).

O desenvolvimento do MM ocorre, geralmente, a partir de uma condição pré-maligna assintomática chamada de “gamopatia monoclonal de significado indeterminado” (GMSI) e as manifestações clínicas da doença surgem em decorrência da infiltração nos órgãos, principalmente nos ossos, de plasmócitos neoplasmáticos com grande produção de imunoglobulinas monoclonais e da supressão da imunidade humoral normal. Como consequência, observa-se anemia grave, lesão óssea, hipercalcemia, insuficiência renal e infecção recorrente (RAJKUMAR, 2005; VON SUCRO *et al.*, 2009).

Existem cinco classes diferentes de imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA, IgD e IgE), cada uma formada por quatro cadeias de proteínas, sendo duas idênticas pesadas longas e duas idênticas leves curtas [(kappa (κ) e lambda (λ))]. As cadeias leves, quando não estão ligadas às cadeias pesadas, são chamadas de cadeias leves livres (CLL) ou proteínas de Bence-Jones que, por serem muito pequenas, são excretadas na urina, podendo provocar lesão renal. (BOTTINI *et al.*, 1999; SMITH *et al.*, 2005; NAU e LEWIS, 2008).

A quimioterapia é o tratamento de primeira linha para o MM seguida, quando possível, pelo transplante autólogo de células-tronco (TACT), o que tem possibilitado o aumento da sobrevida livre de progressão, principalmente em pacientes com idade inferior a 65 anos (HUNGRIA, 2007). Apesar desses progressos, a maioria dos pacientes recidivará (LUDWIG e SONNEVELD, 2012), sendo que o padrão das recidivas é muito heterogêneo, podendo evoluir com comportamento indolente ou agressivo (HUNGRIA, 2007). Enquanto alguns pacientes apresentam recidivas precoces, com pior prognóstico e, provavelmente, responderão mal ao tratamento, outros apresentam recidivas após um longo período, com uma melhor resposta terapêutica. Por isso, é fundamental a detecção rápida e precisa da presença de imunoglobulinas monoclonais, íntegras ou livres, em amostras de soro e urina, anteriormente às recidivas clínicas do MM, possibilitando ao médico antecipar a terapia de manutenção, quando o paciente ainda se encontra em bom estado clínico.

Na maioria dos laboratórios brasileiros, as duas técnicas atualmente empregadas para a detecção de imunoglobulinas monoclonais em pacientes com diagnóstico confirmado e/ou com suspeita de MM são a eletroforese (EF) e a imunofixação (IF). A EF em gel de agarose é considerada como um método laboratorial relativamente simples, em que as imunoglobulinas monoclonais aparecem como um pico no gráfico eletroforético (pico monoclonal) na maioria dos pacientes com MM. Além de ser realizada em amostras séricas a EF também é realizada na urina, já que, por possuírem tamanho reduzido, as cadeias leves livres passam livremente no glomérulo renal e são excretadas somente por via urinária. Todavia, a técnica de análise considerada como "padrão ouro" é a IF (THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP, 2003). Isso porque, além de confirmar a presença de imunoglobulinas monoclonais ela também permite diferenciar as classes de imunoglobulinas monoclonais (IgG, IgA, IgM) e as cadeias leves livres e ou associadas (κ e λ), as quais formam o pico monoclonal (PM) e servem para avaliar e acompanhar a massa tumoral e a eficácia do tratamento, principalmente nas recidivas (KRAJ et al., 2012).

A comparação entre as técnicas de EF e IF tem sido feita em alguns estudos, com a IF mostrando maior eficácia na detecção de imunoglobulinas monoclonais na maioria das situações, especialmente naquelas em que as referidas imunoglobulinas encontram-se em baixas concentrações ($< 1 \text{ g L}^{-1}$) (VRETEHEM *et al.*, 1993).

Apesar dessas vantagens oferecidas pela IF, em relação à EF, inúmeros laboratórios como, por exemplo, o Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), utilizam apenas a EF de proteínas séricas e urinárias para o diagnóstico e o monitoramento do MM. Em algumas situações específicas, o material para a realização da

IF é enviado a laboratórios externos ao HUSM, o que resulta na demora no envio dos resultados, dificultando ao clínico (hematologista) o monitoramento da doença.

Considerando o aumento na incidência do MM nos últimos anos e, por consequência, o número de pacientes com MM em tratamento no HUSM, acredita-se que a adoção da IF para a análise sérica e urinária de imunoglobulinas monoclonais, em lugar apenas da EF, facilite tanto o diagnóstico do MM como a detecção precoce das recidivas, ampliando as possibilidades de tratamento da doença. Nesse contexto, foi realizado o presente trabalho, no qual foram comparadas as técnicas de IF e EF na análise retrospectiva de amostras séricas de nove pacientes com MM que recidivaram.

1.1 Objetivo geral

Avaliar a importância da identificação dos anticorpos monoclonais (IgG, IgA, IgM) e das cadeias leves livres (κ e λ) no soro e/ou urina para a detecção precoce de recidivas em pacientes com mieloma múltiplo (MM).

1.1.1 Objetivos específicos

- Comparar as técnicas de imunofixação (IF) e eletroforese (EF) quanto à sensibilidade na detecção precoce das imunoglobulinas monoclonais presentes nas recidivas de pacientes com MM.
- Distinguir as diferentes classes de imunoglobulinas e cadeias leves livres monoclonais no soro e relacioná-las com outros marcadores laboratoriais de diagnóstico ou prognóstico de recidivas em pacientes com MM.
- Verificar o perfil das imunoglobulinas monoclonais no MM recidivante.
- Comparar o estadiamento dos pacientes com MM que recidivaram, conforme o ISS (*International Staging System*).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mieloma Múltiplo

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia hematológica progressiva de linfócitos B, caracterizada pela proliferação desregulada e clonal de plasmócitos na medula óssea, os quais produzem e secretam imunoglobulinas anômalas monoclonais ou fragmentos destas (cadeias leves ou proteína de Bence-Jones), chamadas de proteína M, proteína do mieloma ou paraproteína, que são excretadas para o sangue e/ou urina (MANGAN, 2005; SARASQUETE *et al.*, 2005; BARBER, 2006; PASZEKOVA *et al.*, 2014). O MM faz parte de um espectro de gamopatias monoclonais que abrange a gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI), o mieloma múltiplo latente (MML), a amiloidose (AL), o linfoma não-Hodgkin de células B (LNH), a macroglobulinemia de Waldenström e a leucemia plasmocitária rara, além de doenças de cadeia pesada. Aproximadamente 25% dos pacientes portadores de GMSI desenvolvem MM ou outras gamopatias monoclonais (RAJKUMAR, 2005).

A doença afeta predominantemente os ossos, mas pode também atingir os nódulos linfáticos e a pele (STEVENSON *et al.*, 2014). Ocasionalmente, as células plasmáticas infiltram-se em múltiplos órgãos, produzindo uma variedade de sintomas. Além disso, a produção de proteína M pelas células plasmáticas monoclonais pode levar à insuficiência renal provocada por cadeias leves ou à hiperviscosidade, pela quantidade excessiva de proteína M no sangue (KYLE e RAJKUMAR, 2009).

Cabe ressaltar que o MM é uma doença incurável, embora com tratamento adequado os sintomas possam ser gerenciados controlados e a sobrevida dos pacientes prolongada (STEVENSON *et al.*, 2014). O diagnóstico da doença depende da identificação de células plasmáticas monoclonais anormais na medula óssea, da proteína M no soro ou na urina, da evidência de lesões nos órgãos e de um quadro clínico compatível com MM (KYLE e RAJKUMAR, 2009). Segundo Faria e Silva (2007), a confirmação da presença da proteína M é essencial para diferenciar as gamopatias monoclonais das gamopatias policlonais, uma vez que as primeiras são entidades neoplásicas ou potencialmente neoplásicas enquanto as últimas resultam de processos inflamatórios ou infecciosos.

2.1.1 Epidemiologia

O MM corresponde a 10% de todas as neoplasias hematológicas (RAJKUMAR, 2011; HUNGRIA *et al.*, 2013), sendo o segundo tipo de câncer hematológico mais comum, representando 1% de todos os diagnósticos de câncer e 2% de todos os óbitos ocasionados por esta doença no mundo (BARBER, 2006; PASZEKOVA *et al.*, 2014). Entre as neoplasias hematopoiéticas, o MM é a doença com o pior prognóstico e com as menores taxas de sobrevida, que é de 5 anos em 15 a 20% dos casos (PARKIN *et al.*, 2005; ALTIERI *et al.*, 2006).

A idade média ao diagnóstico do MM é de 70 anos, sendo raramente diagnosticada antes dos 40 anos (STEVENSON *et al.*, 2014). Segundo Barber (2006), apenas 2% dos pacientes são diagnosticados antes dos 45 anos. Com relação à etnia e ao gênero dos pacientes, o MM é duas vezes mais comum em negros quando comparado com caucasianos e ligeiramente mais comum nos homens do que nas mulheres (RAJKUMAR, 2009). A taxa de incidência da doença, ajustada por idade, é de 6,9 para cada 100.000 homens e 4,5 para cada 100.000 mulheres (NAU e LEWIS, 2008).

Internacionalmente, a incidência do MM é mais elevada entre os afro-americanos, seguido pelos maoris, havaianos, judeus israelenses, europeus, norte americanos e canadenses. As menores taxas de incidência da doença ocorrem no Oriente Médio, Japão e China. São diagnosticados, a cada ano, aproximadamente 15.000 novos casos de MM nos Estados Unidos da América e 1.800 no Canadá (REECE, 2007). Na Europa, o MM corresponde anualmente por cerca de 15.000 novos casos e 19.000 mortes (BOYLE e FERLAY, 2005). Os centros internacionais de registro de câncer têm reportado nas últimas décadas um aumento nas taxas de incidência e mortalidade provocadas pelo MM, mas ainda não está claro se este aumento é atribuído às novas práticas de diagnóstico ou a um aumento real de novos casos da doença (ALTIERI *et al.*, 2006).

No Brasil, não há um conhecimento exato e oficial sobre a incidência do MM, pois a doença não se encontra registrada nas estimativas anuais do Instituto Nacional de Câncer (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2014). Contudo, outros estudos identificaram que, no país, a idade média ao diagnóstico é de 60,5 anos, com a maior parte dos casos diagnosticados com a doença já em estágio avançado (HUNGRIA *et al.*, 2008).

2.1.2 Etiologia

Apesar dos avanços nas pesquisas para determinar as causas do MM, a etiologia da doença permanece desconhecida (BARBER, 2006; PASZEKOVA *et al.*, 2014; STEVENSON *et al.*, 2014). Nau e Lewis (2008) destacam a probabilidade de fatores ambientais interagirem com fatores genéticos subjacentes elevando o risco de MM. Segundo Barber (2006), as opiniões dos pesquisadores da área divergem sobre a possibilidade da genética, da exposição ambiental e ocupacional e de infecções virais ou disfunções imunológicas de desencadear a doença.

De acordo com Klaus *et al.* (2009) e Morgan *et al.* (2002), fatores genéticos, exposição a radiações ionizantes e ao benzeno, doenças inflamatórias crônicas, terapia imunossupressora e doença autoimune parecem desencadear a doença. Também foi observada uma relação entre a ocorrência de MM em agricultores, produtores de papel, marceneiros e trabalhadores expostos ocupacionalmente a petroquímicos e materiais utilizados na fabricação do plástico e da borracha (MORGAN *et al.*, 2002). Fatores relacionados com o estilo de vida, como a situação socioeconômica (JOHNSTON *et al.*, 1985), dieta (CHATENOUD *et al.*, 1998), tabagismo (ADAMI *et al.*, 1998), alcoolismo (BROWN *et al.*, 1992) e uso de tinturas para cabelo (CORREA *et al.*, 2000) também podem estar ligados a um elevado risco de MM.

Embora seja incomum o MM se desenvolver em mais de um membro da família (BARBER, 2006), o risco é aumentado ligeiramente entre os filhos e irmãos de pessoas portadoras da doença (HEMMINKI *et al.*, 2004). Altieri *et al.* (2006) afirmam que o risco de ocorrência de MM em parentes de primeiro grau de portadores da doença é aumentado de 2 a 4 vezes. Ainda de acordo com os autores, o risco de MM é duas vezes mais alto entre pessoas que tem histórico familiar de qualquer neoplasia linfoproliferativa. Estudos sugerem que a maior incidência de MM em afro-americanos é devido a uma predisposição genética (POTTERN *et al.*, 1992; BROWN *et al.*, 1999). Dentro deste contexto, a GMSI, que é uma doença pré-maligna em que um clone de células plasmáticas produz um pico monoclonal, mas que não ocasiona danos aos órgãos, está presente em 2% das pessoas com mais de 50 anos, para as quais o risco de progressão para MM é de 1% a cada ano (KYLE *et al.*, 2002).

Sendo assim, mesmo com o desenvolvimento de diversos trabalhos relacionados à etiologia do MM, as evidências são contraditórias e mais pesquisas são necessárias.

2.1.3 Fisiopatologia

Normalmente, células plasmáticas (plasmócitos) maduras constituem menos do que 5% das células da medula óssea. Seus precursores são os linfócitos B, que migram para a medula óssea a partir dos nódulos linfáticos após serem estimulados por antígenos e citocinas produzidas por linfócitos T. Ao serem ativados e migrarem para a medula óssea, os linfócitos B param de se proliferar e começam a diferenciar-se em plasmócitos maduros. Estes plasmócitos normais produzem anticorpos ou imunoglobulinas que são liberados em resposta à exposição a antígenos estranhos (BARBER, 2006). As imunoglobulinas são formadas por duas cadeias polipeptídicas pesadas idênticas (G, A, M, D e E) e duas cadeias polipeptídicas leves idênticas (kappa - κ e lambda- λ), como está representado na figura 1.

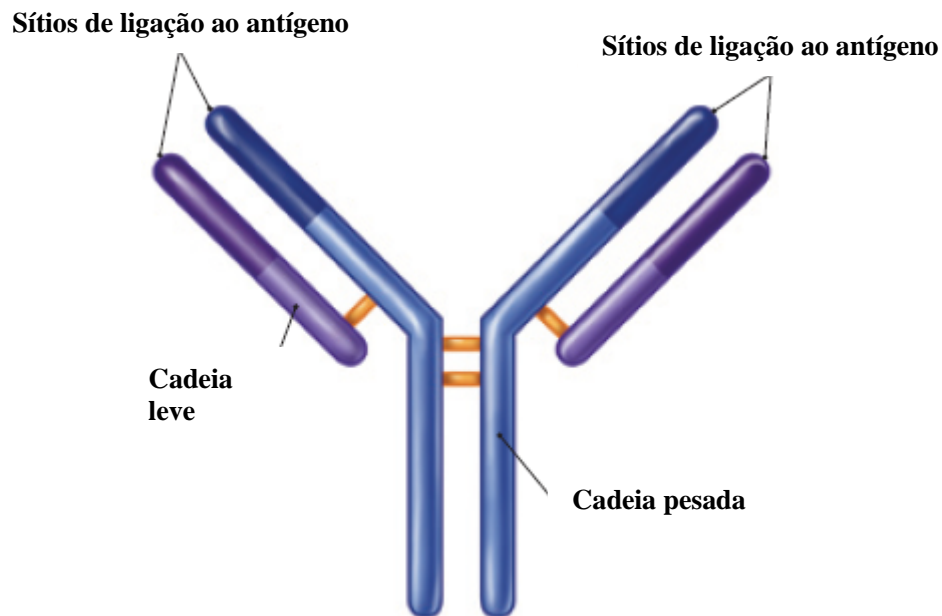


Figura 1 – Molécula de imunoglobulina normal contendo cadeias pesadas pareadas com uma cadeia leve menor conectada em cada. Fonte: Adaptado de Nau e Lewis (2008).

As imunoglobulinas estão divididas nos tipos IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE e suas características estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 – Características das imunoglobulinas (Igs)

Tipo de Ig	Características
IgG	Representa 73% das Igs normais e age contra antígenos bacterianos
IgA	Representa 19% das Igs normais e protege as mucosas e fluídos corporais
IgM	Representa 5% das Igs normais e age na fase aguda de doenças infecciosas
IgD	Função desconhecida
IgE	Reação de hipersensibilidade

Fonte: Adaptado de Silva *et al.* (2008).

Em indivíduos normais, as imunoglobulinas são produzidas pelos plasmócitos a fim de combater infecções. No entanto, em pacientes com MM, plasmócitos monoclonais se proliferam e produzem quantidades excessivas de proteína M, nome dado às imunoglobulinas IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE anormais. As células do MM também produzem proteínas de cadeia leve anormais (κ ou λ), citocinas e outros fatores angiogênicos que promovem a formação de novos vasos sanguíneos (NAU e LEWIS, 2008). O tipo de proteína monoclonal produzida varia em cada indivíduo portador do MM, sendo que os tipos mais comuns são o IgG em 60% dos casos e o IgA em 25% (ANGTUACO *et al.*, 2004). A secreção de IgM, IgD ou IgE em pacientes com MM é rara, e em 3 a 5% dos pacientes a proteína M não é detectável, caso considerado como MM não secretor (ABDALLA e TABARRA, 2002). Ainda cabe ressaltar que a produção de proteínas de cadeias leves anormais κ ou λ é detectada em aproximadamente 20% dos pacientes com MM (RAJKUMAR e KYLE, 2005).

As células do mieloma também podem crescer sobre a forma de tumores localizados, os plasmocitomas, que podem permanecer confinados à medula óssea e osso (intramedular) ou desenvolver-se fora do osso em tecidos moles (extramedular). Os pacientes com MM podem ainda apresentar plasmocitomas únicos ou múltiplos (DURIE, 2012).

Quanto à origem das células mielomatosas em pacientes com MM, as células plasmáticas malignas desenvolvem-se quando um ou mais estímulos exógenos induzem alterações citogenéticas nos linfócitos B (BARBER, 2006). As duas principais vias pelas quais se inicia a transformação de uma célula plasmática normal em uma célula mielomatosas são as translocações no locus de IGH (*Immunoglobulin heavy locus*) e a hiperdiploidia (BERGSAGEL *et al.*, 2005). Na maioria dos pacientes essas duas lesões distintas são mutuamente exclusivas e não estão ligadas a nenhum fenótipo específico (BRIOLI *et al.*, 2014). No entanto, estas alterações genéticas sozinhas não são suficientes para causar o MM e eventos adicionais são necessários para a doença progredir (FONSECA *et al.*, 2002). Mutações na forma de variantes do nucleotídeo único, anormalidades no número de cópias cromossômicas e alterações epigenéticas são responsáveis pela progressão da doença (MORGAN *et al.*, 2012). Aproximadamente 50% dos pacientes com MM tem um cariótipo anormal, sendo que as anormalidades mais comuns são a hiperdiploidia (individual ou combinada) dos cromossomos 3, 5, 7, 9, 11, 15 e 19 e a hipodiploidia dos cromossomos 8, 13, 14 e do cromossomo sexual X (HIGGINS e FONSECA, 2005).

2.1.3.1 Heterogeneidade clonal na evolução do MM

Em trabalhos recentes, realizados por Ahn *et al.* (2014) e Brioli *et al.* (2014), foi evidenciado que a heterogeneidade clonal, observada na evolução do MM, ocorre devido à mutações genéticas de um clone provindo de uma célula progenitora maligna (plasmócito mielomatoso). Os autores observaram que a progressão da doença não ocorre de forma linear, mas através de uma forma não-linear originando diversas ramificações geneticamente distintas (sub-clones), de forma similar ao ocorrido com a evolução das espécies descrita por Darwin.

No trabalho de Magrangeas *et al.* (2013) os diversos tratamentos quimioterápicos usados em cada recidiva não conseguiram combater a célula-inicial maligna (“clone fundador”), mas apenas algumas das suas mutações (sub-clones).

O principal objetivo da terapia inicial no MM (terapia de indução) consiste em maximizar a morte celular, visando erradicar a proliferação de clones que darão origem à recidiva precoce e agressiva, além de reduzir a heterogeneidade intra-clonal das células de tumores residuais. Como os estudos envolvendo a heterogeneidade clonal são recentes, é

plausível imaginar que a combinação de medicamentos de manutenção, alternando drogas que tenham diferentes mecanismos de ação, possam ser utilizados para evitar o surgimento de clones resistentes, o que transformaria o MM de doença incurável em uma doença crônica (MANIER e LELEU, 2011; BRIOLI *et al.*, 2014).

2.1.4 Aspectos clínicos

As manifestações clínicas do MM resultam da infiltração das células plasmáticas malignas na medula óssea e da secreção de proteína M no sangue e/ou na urina (BARBER, 2006). Os sintomas mais comuns são fadiga e dor óssea, sendo que as lesões osteolíticas e as fraturas por compressão são as características mais marcantes da doença (RAJKUMAR, 2009). Entretanto, alguns pacientes podem ser assintomáticos e a doença é descoberta apenas através de exames laboratoriais (VON SUCRO *et al.*, 2009). Pode-se destacar ainda que o MM é uma neoplasia que apresenta períodos de remissão e recidiva (KLAUS *et al.*, 2009).

De acordo com o The International Myeloma Working Group (2003) e Smith *et al.* (2005), os danos e deficiências ocasionados pelo MM nos órgãos e tecidos são variados e podem incluir, entre outros:

- hipercalcemia (nível de cálcio sérico superior a 11 mg/dL);
- insuficiência renal com elevação aguda do nível de creatinina sérica;
- anemia (nível de hemoglobina inferior a 10 g/dL);
- Lesões osteolíticas ou osteoporose; e
- outros problemas como a hiperviscosidade sintomática, a amiloidose e o aumento no número de infecções bacterianas (mais de duas infecções bacterianas em período inferior a 12 meses).

As lesões osteolíticas são ocasionadas pela formação de tumores nos ossos pelos plasmócitos neoplásicos, resultando em destruição óssea e fraturas. A perda de massa óssea no MM é resultado da combinação entre o aumento da reabsorção óssea osteoclástica e a diminuição na formação óssea osteoblástica (EDWARDS *et al.*, 2008).

A hipercalcemia ocorre em 30 a 40% de pacientes com MM, podendo causar hipercalciúria e diurese osmótica, que por sua vez podem progredir para um quadro de insuficiência renal (BARBER, 2006). A hipercalcemia ocasionada pelo MM ainda leva a

sintomas como a anorexia, náuseas, constipação, sonolência e polidipsia (NAU e LEWIS, 2008).

As infecções são consideradas causas importantes de morbidade e são as principais causas de mortalidade em pacientes com MM (OLIVEIRA e NUCCI, 2007). A susceptibilidade dos pacientes com MM a infecções bacterianas recorrentes pode resultar de uma deficiência na resposta dos anticorpos devido à redução de imunoglobulinas normais e a neutropenia, ou ainda a uma combinação destes fatores (THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP, 2003). Além disso, a susceptibilidade a infecções pode ser atribuída à imunossupressão cumulativa dos diversos tratamentos recebidos ao longo do curso da doença (OLIVEIRA e NUCCI, 2007).

A insuficiência renal é uma complicação comum e, em muitos casos, uma das primeiras manifestações clínicas do MM (METHA *et al.*, 2014). Até 30% dos pacientes com MM apresentam insuficiência renal ao diagnóstico e 50% desenvolvem o problema em algum estágio da doença. Aproximadamente 12% dos pacientes com MM desenvolvem falência renal crônica (SMITH *et al.*, 2005). Além disso, os pacientes com insuficiência renal podem ter níveis reduzidos de eritropoietina, o que pode levar à anemia (BARBER, 2006). A insuficiência renal no MM está associada principalmente à excreção de proteínas de cadeia leve, sendo menos frequentes os casos envolvendo proteínas de cadeia pesada (SMITH *et al.*, 2005). A patogênese da insuficiência renal no MM pode ser explicada da seguinte forma: normalmente, as cadeias leves são filtradas e reabsorvidas nos túbulos renais. Devido ao aumento significativo na produção das cadeias leves no MM, os túbulos renais ficam sobrecarregados, levando à formação de obstruções e ocasionando assim danos aos túbulos (METHA *et al.*, 2014). Os danos tubulares resultam tanto dos efeitos tóxicos das próprias cadeias leves, quanto da formação de sedimentos intratubulares e da liberação intracelular de enzimas lisossomais (LEUNG e BEHRENS, 2012). Com menor frequência, as cadeias leves também podem gerar dano renal através de depósitos no glomérulo renal (MAIOLINO E MAGALHÃES, 2007). O risco de dano renal é diretamente proporcional ao nível de excreção urinária de cadeias leves livres e não pode ser atribuído ao tipo de cadeia leve ou à presença ou ausência de proteínas M (LEUNG e BEHRENS, 2012). No diagnóstico do MM, a detecção de insuficiência renal está relacionada à grande carga tumoral, sendo que na maioria dos casos indica estágio avançado da doença (MAIOLINO E MAGALHÃES, 2007).

Mais de 60% dos pacientes com MM tem anemia normocítica normocrômica (ANN) devido à diminuição na produção de glóbulos vermelhos pela medula óssea por causa da infiltração de células plasmáticas. Problemas de coagulação são raros, mas podem ocorrer em

parte devido à disfunção plaquetária ou coagulopatia adquirida (BARBER, 2006). Também podem ocorrer, com pouca frequência, problemas como a leucopenia e/ou trombocitopenia (SMITH *et al.*, 2005). Outra possível manifestação clínica é a síndrome do túnel do carpo, considerada a neuropatia periférica mais comum em pacientes com MM (NAU e LEWIS, 2008).

2.2 Diagnóstico do MM

O diagnóstico do MM é geralmente confirmado pela presença de uma proteína monoclonal no soro ou na urina e/ou lesões líticas no raio-X, em conjunto com o aumento do número de células plasmáticas na medula óssea. Outras condições em que a proteína M pode estar presente incluem a amiloidose (AL), a gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI), o MM assintomático, a leucemia linfóide crônica(LLC), o linfoma não-Hodgkin de células B (LNH) e o plasmocitoma solitário ósseo ou extramedular (SMITH *et al.*, 2005). Os critérios adotados no diagnóstico dos diferentes tipos de MM e da GMSI, segundo o The International Myeloma Working Group (2003), Smith *et al.* (2005) e Rajkumar (2009) estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Critérios no diagnóstico da gamopatia monoclonal de significado indeterminado, do MM assintomático e do MM sintomático

Gamopatia monoclonal de significado indeterminado*	MM assintomático*	MM sintomático*
Proteína M sérica <30 g/L	Proteína M sérica >30 g/L e/ou células plasmáticas na medula óssea >10%	Proteína M no soro e/ou urina**
Células plasmáticas na medula óssea <10% e baixo nível de infiltração das células plasmáticas	Sem dano orgânico (incluindo lesões ósseas) e sintomas relacionados ao MM	Células plasmáticas clonais na medula óssea ou plasmocitoma comprovado por biópsia
Sem dano orgânico (incluindo lesões ósseas) e sintomas relacionados ao MM		Qualquer dano orgânico relacionado ao MM ***
Sem evidências de outra desordem proliferativa de células B ou amiloidose associada a cadeias leves ou outro dano tecidual associado a cadeias leves, pesadas ou imunoglobulinas		

*Todos os critérios devem ser evidenciados

** Nenhum nível específico é necessário para o diagnóstico. Uma pequena porcentagem dos pacientes não possui proteína M detectável no soro ou na urina (pacientes com MM não secretor), mas apresentam dano aos órgãos relacionado com o MM e aumento nas células plasmáticas da medula óssea

***Níveis de cálcio elevado (superior a 11 mg/dL); insuficiência renal(atribuída ao MM); anemia (hemoglobina inferior a 10 g/dL); lesões ósseas; outros (hiperviscosidade sintomática, a amiloidose e o aumento no número de infecções bacterianas)

Fonte: Adaptado de The International Myeloma Working Group (2003), Smith *et al.* (2005) e Rajkumar (2009).

Como pode ser observado na tabela 2, para o diagnóstico do MM é requerida a presença de 10% ou mais de plasmócitos clonais no exame da medula óssea (ou comprovação da presença de plasmocitoma por biópsia), proteína M no soro e/ou urina (exceto em pacientes com MM não secretor) e evidência de dano orgânico ligado ao MM (RAJKUMAR, 2009). No caso dos critérios de diagnóstico do MM sintomático não é estabelecido nenhum nível de proteína M no soro ou na urina. Aproximadamente 40% dos pacientes com MM sintomático possui uma concentração de proteína M inferior a 30 g/L, mas 97% deles possui alguma quantidade de proteína M no soro ou na urina. O nível mínimo de células plasmáticas na medula óssea também não foi estabelecido, pois 5% dos pacientes com MM sintomático possuem menos de 10% de células plasmáticas na medula. Sendo assim, o critério mais

importante e crítico para o diagnóstico do MM sintomático é o da presença de qualquer dano orgânico relacionado ao MM (THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP, 2003).

Nos pacientes com suspeita clínica de neoplasias de linfócitos B, como o MM, tanto o soro quanto a urina devem ser analisados para a detecção das proteínas M. A eletroforese (EF) em gel de agarose é a técnica mais utilizada na detecção de proteínas M. No entanto, a imunofixação (IF) é considerada a técnica “padrão ouro” na confirmação da presença de proteína M e também para distinguir as cadeias leves e pesadas no MM. Na EF, o chamado pico monoclonal ou pico M é observado em 80% dos pacientes no momento do diagnóstico, enquanto que a IF revela a presença de proteína M em mais de 90% dos casos. A urina também pode conter proteína M em aproximadamente 75% dos pacientes (THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP, 2003). A combinação entre as técnicas EF e IF aumenta a sensibilidade na detecção de proteínas M nos pacientes com MM em até 97% (RAJKUMAR, 2009; KYLE e RAJKUMAR, 2009).

De acordo com San Miguel *et al.* (2006), o diagnóstico do MM deve ser realizado por meio de uma série de exames laboratoriais, objetivando:a) contribuir para o diagnóstico diferencial de gamopatias monoclonais; b) auxiliar na obtenção de informações sobre fatores prognósticos, a fim de facilitar no processo de decisão terapêutica; c) fornecer indicadores adequados para monitorar a eficácia do tratamento.

Para uma investigação inicial em pacientes com suspeita de MM, pode-se utilizar os seguintes testes e exames laboratoriais (DIMOPOULOS *et al.*, 2011):

- exames físicos e anamnese do paciente;
- hemograma completo e diferencial, assim como a análise do esfregaço de sangue periférico;
- exames químicos laboratoriais, incluindo cálcio e creatinina;
- eletroforese e imunofixação séricas;
- quantificação nefelométrica das imunoglobulinas séricas;
- eletroforese e imunofixação urinária (coleta de urina em 24 horas);
- análise do aspirado da medula óssea ou biópsia da medula
- análise citogenética (por exemplo, *Fluorescent In Situ Hybridization* – FISH);
- radiologia do esqueleto, incluindo coluna vertebral, pélvis, crânio, úmero e fêmur;
- imagem por ressonância magnética do esqueleto (em situações específicas);
- análise da β_2 -microglobulina e da desidrogenase láctica; e

- dosagem das cadeias leves livres (κ e λ).

Atualmente, a eletroforese de proteínas séricas e urinárias e o exame ósseo permanecem como técnicas padrão para o diagnóstico e tratamento de pacientes com MM, mas novos exames celulares e sorológicos, assim como novas técnicas de imagem e radiologia têm sido utilizadas (SAN MIGUEL *et al.*, 2013). A demora no diagnóstico do MM é uma das principais causas de sua elevada morbidade e da redução na qualidade de vida dos pacientes (BIANCHI e GHOBRIAL, 2012). Portanto, é fundamental que o diagnóstico do MM ocorra ainda no início do curso da doença.

A seguir, serão abordadas as principais técnicas e exames empregados atualmente no diagnóstico do MM.

2.2.1 Eletroforese de proteínas séricas (EFS) e/ou urinárias (EFU)

A eletroforese no soro (EFS) e/ou na urina (EFU) é um método fundamental para a detecção das proteínas monoclonais, contribuindo para o diagnóstico, estadiamento e acompanhamento clínico dos pacientes com MM (RAJKUMAR e KYLE, 2005; SAN MIGUEL *et al.*, 2006; DIMOPOULOS *et al.*, 2011). Existem dois tipos principais de técnicas eletroforéticas empregadas no diagnóstico do MM: a EF em gel de agarose e a EF capilar.

A EF em gel de agarose pode ser considerada um método laboratorial relativamente simples que permite a separação das proteínas presentes no plasma ou na urina de acordo com suas cargas elétricas e peso molecular, por meio de forças eletroforéticas e eletroosmóticas do meio. As variações nas cargas elétricas das proteínas resultam das diferentes ligações covalentes entre os aminoácidos que a compõem, assim como da quantidade de aminoácidos presentes em cada molécula de proteína. A técnica de EF em gel de agarose consiste na aplicação da amostra de soro ou urina em um meio sólido (gel de agarose) para então submetê-la a um potencial elétrico gerado por um polo positivo (cátodo) e por um polo negativo (ânodo). Em função das diferenças nas cargas elétricas e peso molecular, as proteínas percorrem distâncias distintas em direção ao ânodo, o que leva à formação de bandas denominadas: albumina, α -1-globulina, α -2-globulina, β -globulina e γ -globulina. A visualização das frações proteicas nas diferentes bandas é realizada com o uso de corantes sensíveis às proteínas, obtendo-se então um resultado similar ao apresentado na figura 2. A quantificação das frações proteicas é feita utilizando-se densitometria ou eluição, o que

permite a elaboração de um gráfico para a comparação das frações em cada banda e facilita a detecção de anormalidades, como no caso do MM (BOTTINI, 2007; PAULA e SILVA *et al.*, 2008). A EF capilar, por sua vez, é uma técnica de separação eletroforética e cromatográfica realizada em meio líquido e é baseada nas diferenças da relação carga/massa das diversas proteínas, através da dissociação em pH constante dos grupos ácidos em um soluto. Pode ser considerada uma técnica mais sensível que a eletroforese em gel de agarose, pois permite o fracionamento do pico monoclonal, quantificando-o (BOTTINI, 2007).

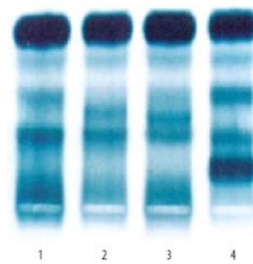


Figura 2 – Representação de uma EF em gel de agarose. Fonte: Paula e Silva *et al.* (2008).

O diagnóstico do MM pela EF é caracterizado pela detecção do chamado pico monoclonal no gráfico de quantificação das frações proteicas por densitometria (Figura 3) ou pela presença de uma banda proteica destacada no gel de agarose (THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP, 2003; KRAJ, 2014).

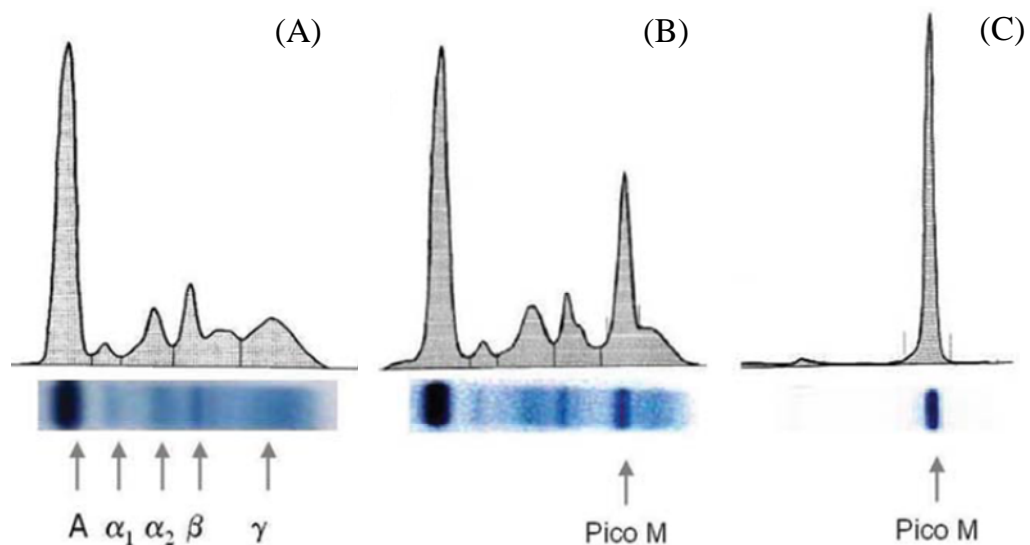


Figura 3 – Eletroforese em gel de agarose. (A) Perfil sérico normal; (B) Pico monoclonal sérico; (C) Pico monoclonal urinário. Fonte: Bottini (2007).

No entanto, cabe ressaltar que os resultados obtidos pela EFS na detecção da proteína M podem ser imprecisos, dependendo da velocidade com que as proteínas migram pelas bandas eletroforéticas (Figura 4). As proteínas M podem migrar para qualquer ponto entre as bandas α e γ , podendo ser obscurecidas por proteínas de tamanho superior como a haptoglobina na banda α_2 ou pela transferrina na região β (KRAJ, 2014). Além disso, a EFS não determina a presença de cadeias leves livres monoclonais, características do MM por cadeias leves livres (CLL). Nestes casos é indicada além da análise em urina concentrada de 24 hs (EFU) a utilização de técnicas mais sensíveis, como a IFS e/ou IFU ou a eletroforese de alta resolução (SAN MIGUEL *et al.*, 2006).

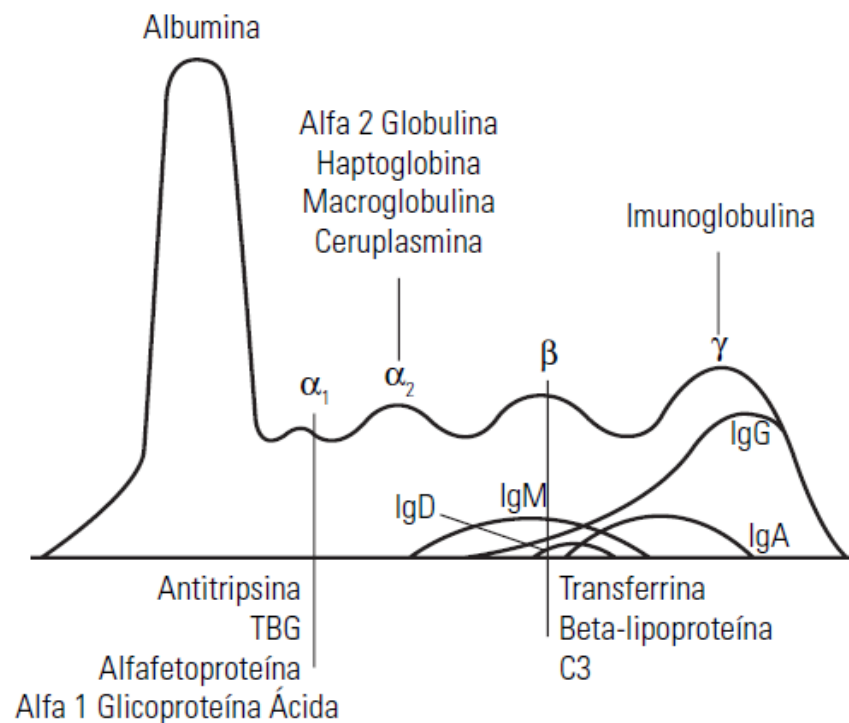


Figura 4 – Principais proteínas encontradas em cada banda eletroforética. Fonte: Paula e Silva et al. (2008).

2.2.2 Imunofixação sérica(IFS) e urinária(IFU)

Conforme foi mencionado anteriormente, a IF é considerada como o método "padrão ouro" para a confirmação da presença de proteínas monoclonais e para a determinação do seu tipo de cadeia leve e pesada (THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP, 2003; DIMOPOULOS *et al.*, 2011; BENDER *et al.*, 2013). Além disso, a IF é uma técnica mais sensível do que a EF, permitindo a detecção de pequenas quantidades de proteínas monoclonais e, portanto, é um método particularmente adequado para o acompanhamento e avaliação de componentes monoclonais residuais no pós-tratamento de pacientes com MM (SAN MIGUEL *et al.*, 2006). O limite inferior de concentração de proteína M no soro, para a sua detecção pela EFS, varia entre 0,2 a 0,6 g/L, enquanto na IFS este limite varia de 0,12 a 0,25 g/L (SAN MIGUEL *et al.*, 2013). Em amostras de urina, a concentração mínima de proteínas M para a sua detecção via IFU é de 0,04 g/L (THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP, 2003). Apesar da sua alta sensibilidade, a IF não é uma técnica quantitativa (KRAJ, 2014).

A IF deve ser realizada, principalmente, quando for detectada no paciente a hipogamaglobulinemia (frequente em casos de MM de cadeias leves) ou ainda quando os resultados obtidos na EF forem aparentemente normais, mas a suspeita de MM ou outro distúrbio relacionado não puder ser descartada. Isto ocorre na maior parte dos casos onde os níveis de proteínas monoclonais são baixos e a EF indica resultados normais (RAJKUMAR, 2009; DIMOPOULOS *et al.*, 2011). Também cabe ressaltar que o resultado negativo na IF para presença de proteínas M é um dos principais critérios para a definição de uma resposta completa ao tratamento do MM. A obtenção de uma resposta completa ao tratamento é considerada atualmente como um dos melhores fatores prognósticos do MM (SAN MIGUEL *et al.*, 2013).

A IF é um método imunológico, utilizado para identificar o tipo de proteína M (IgG, IgA, IgM e kappa ou lambda) sendo adotada por um grande número de laboratórios. É uma técnica que identifica exatamente os tipos de cadeia (pesada ou leve) das proteínas monoclonais (LAPALUS e CHEVAILLER, 2000). O método de IF é uma combinação entre as técnicas de EF e imunoprecipitação. A primeira etapa consiste na migração eletroforética do soro e/ou urina em um gel de agarose. Na segunda fase (imunológica), os anti-soros específicos para cada imunoglobulina são depositados na superfície do gel, para reagir com os antígenos, formando precipitados. As proteínas não precipitadas são lavadas e o

imunoprecipitado é então corado. A presença de proteína monoclonal é caracterizada na IF pela presença de uma banda bem definida associada com uma classe de cadeia pesada (IgG, IgA ou IgM) e banda de mesma mobilidade que reage com cadeia κ ou λ . Este método tem grande aplicação na identificação de proteínas M presentes em pequenas quantidades, que são difíceis de detectar por outros métodos (BOTTINI, 2007; LAPALUS e CHEVAILLER, 2000). A figura 4 ilustra o resultado da técnica de IF em pacientes com MM.

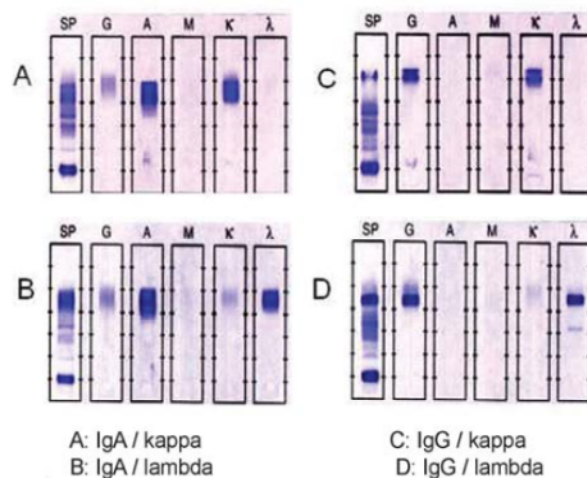


Figura 5 – Resultado de IFS em pacientes com MM. Fonte: Bottini (2007).

Algumas dificuldades podem ser encontradas na interpretação da IF. Casos como os relatados por Ghrairi *et al.* (2009) indicam que o uso de beta-mercaptoetanol (BME) evita os efeitos de polimerização da proteína, dissociando as pontes de dissulfeto das imunoglobulinas polimerizadas e obtendo uma molécula de monômero e assim homogeneizar a mobilidade eletroforética. Também o BME é usado para diminuir a viscosidade das amostras e conseqüentemente reduzir os polímeros das proteínas. Outro fator de interferência é a presença de aditivos no gel (polielilenoglicol) que é usado para maximizar a reação antígeno-anticorpo. Este aditivo pode interferir causando precipitação das proteínas no ponto de aplicação da placa de IF evitando a livre migração das imunoglobulinas no gel. Isso destaca a importância de se utilizar anti-soros de boa qualidade que não contenham aditivos que sejam prejudiciais a técnica. O autor salienta também que nos casos em que as dosagens de imunoglobulina monoclonal são muito elevadas, há a necessidade de diluições prévias das amostras antes da realização da IF, evitando o fenômeno de excesso de antígeno e assim obtendo uma visualização mais nítida dos componentes monoclonais.

2.2.3 Outras técnicas para o diagnóstico do MM

Atualmente, com os avanços nas áreas médica e laboratorial, novas técnicas estão sendo empregadas no diagnóstico do MM, como a dosagem das cadeias leves livres κ e λ (*Free Light Chain – FLC*), o teste da razão cadeia leve / cadeia pesada (*Heavy Chain / Light Chain Assay - HLC*), a citometria de fluxo e o método de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH). Na tabela 3 é apresentada uma visão geral das técnicas utilizadas atualmente no diagnóstico e avaliação do MM.

Tabela 3 – Procedimentos e técnicas mais relevantes utilizados atualmente para a avaliação e diagnóstico de pacientes com MM

Análise de proteínas	Aplicação
EF	Detecção e quantificação das Igs séricas e urinárias
IF	Caracterização das cadeias pesadas e leves. Confirmação de resposta completa
FLC	Avaliação dos pacientes com MM não secretor ou oligosecretor. Confirmação de Resposta completa.
HLC	Quantificação simultânea das cadeias leves e pesadas
Morfologia	
Aspirado da medula óssea	Quantificação e caracterização morfológica das células plasmáticas
Biópsia por trefina	Indicada para pacientes com suspeita de MM e plasmocitoma
Imunofenotipagem	Determina o grau de clonalidade (que é associado com um maior risco de transformação de uma GMSI ou MLL para MM sintomático) por meio de uma relação entre as células plasmáticas clonais e normais.
Genética e citogenética	A citogenética é geralmente avaliada pela FISH (em células plasmáticas purificadas) e tem se tornado um dos fatores prognósticos mais importantes, sendo considerado essencial para pacientes recém diagnosticados com MM.
Técnicas de imagem	
Raio-X	Técnica padrão ouro para avaliação da doença óssea
MRI	Essencial em alguns casos específicos, como no plasmocitoma solitário
CT	Utilizada quando a MRI não está disponível para avaliação da medula
PET/CT	Não deve ser utilizado rotineiramente. Pode ser útil na avaliação da doença residual mínima fora da medula óssea

Abreviações: EF, Eletroforese; IF, Imunofixação; FLC, *Free Light Chains*; HLC, *Heavy Light Chains*; GMSI, Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado; MML, Mieloma Múltiplo Latente; FISH, Hibridação *in situ* por Fluorescência; IRM, Imagem por Ressonância Magnética; TC, Tomografia Computadorizada; PET/TC, Tomografia por Emissão de Pósitrons/Tomografia Computadorizada. Fonte: Adaptado de San Miguel *et al.* (2013).

A dosagem das cadeias leves livres pelo teste FLC pode ser utilizada no prognóstico do MM, GMSI, MML e plasmocitoma solitário ósseo. Além disso, o teste pode ser utilizado em conjunto com a EF e a IF na detecção de proteínas monoclonais, substituindo, em parte, a necessidade de análise das proteínas na urina de 24 horas (se for diagnosticado um distúrbio proliferativo de células plasmáticas a EF de proteínas urinárias de 24 horas e a IF são necessários) (KYLE e RAJKUMAR, 2009). O teste FLC é útil tanto no acompanhamento de pacientes que não possuem componente monoclonal mensurável pela EF ou IF sérica e/ou urinária, quanto no diagnóstico de MM não secretor ou ainda MM por CLL (DIMOPOULOS *et al.*, 2011). Considera-se como MM mensurável, aquele que possui proteína M sérica ≥ 1 g/100 mL ou proteína M urinária ≥ 200 mg por 24 horas. Destaca-se que o teste FLC não deve ser utilizado na avaliação da resposta ao tratamento em pacientes que possuam evidência de MM mensurável no soro ou na urina (KYLE e RAJKUMAR, 2009). Níveis anormais de FLC são associados a um maior risco de progressão de GMSI e MML para um caso de MM sintomático (KHORIATY *et al.*, 2010; DIMOPOULOS *et al.*, 2011).

O teste FLC permite a quantificação das cadeias livres κ e λ (cadeias leves que não estão ligadas com as imunoglobulinas) e baseia-se na técnica de imunonefelometria e no uso de um conjunto de reagentes de anticorpos policlonais, sendo executado em diversos instrumentos químicos laboratoriais automatizados. O procedimento utilizado no teste consiste em duas técnicas separadas, uma para quantificar as cadeias livres κ e outra para quantificar as cadeias livres λ (DISPENZIERI *et al.*, 2009; RAJKUMAR, 2009). O teste avalia a clonalidade baseado na razão entre os níveis das cadeias κ / λ (valores normais de referência: 0,26 - 1,65). Os pacientes com uma razão FLC inferior a 0,26 são definidos por possuir uma FLC λ monoclonal, enquanto aqueles que possuem uma razão superior a 1,65 possuem uma FLC κ monoclonal (KYLE e RAJKUMAR, 2009).

Apesar de ser considerado um avanço na área do diagnóstico do MM e possuir uma alta sensibilidade, o teste FLC apresenta algumas limitações, como: inconsistência nos resultados obtidos devido à variabilidade nos reagentes policlonais; algumas cadeias leves monoclonais não se diluem linearmente, podendo ser subestimadas; excesso de antígeno pode ocasionar, erroneamente, níveis baixos de FLC; e alterações na sequência dos aminoácidos das cadeias leves podem tornar certos determinantes antigênicos (epítomos) da cadeia leve não detectáveis pelos reagentes da técnica FLC, mas detectáveis na EF e IF (KATZMANN, 2009; DISPENZIERI *et al.*, 2009). De acordo com Kumar *et al.* (2008) a normalização da razão FLC está associada com uma maior sobrevida dentre os pacientes com MM que apresentam um resultado negativo da IF. Segundo San Miguel *et al.* (2013), durante a última década o uso

do teste FLC para a quantificação das cadeias leves livres tornou-se parte dos testes clínicos de rotina para diagnóstico do MM.

Outro teste que vem sendo empregado nos últimos anos no diagnóstico das gamopatias monoclonais consiste na razão entre as cadeias leves e pesadas das imunoglobulinas, denominado *Heavy Chain / Light Chain Assay* (HLC). Este teste pode ser considerado como um complemento quantitativo a técnicas apenas qualitativas, como a IF. A disponibilidade de anticorpos que se ligam a epítopos específicos das regiões de junção entre as cadeias livres κ ou λ e suas respectivas cadeias pesadas nas imunoglobulinas, permitiu a quantificação específica das concentrações séricas de IgG κ , IgG λ , IgA κ , IgA λ , IgM κ e IgM λ . Sendo assim, por meio do teste HLC é possível medir separadamente em pares os tipos de cadeias leves de cada classe de imunoglobulina, fornecendo uma razão de imunoglobulina monoclonal e policlonal (por exemplo, IgG κ /IgG λ e IgA κ /IgA λ), facilitando a avaliação da presença de proteínas monoclonais. De modo similar à razão κ / λ , a avaliação da razão entre os pares de cadeia leve e pesada também indica a clonalidade das proteínas (KRAJ *et al.*, 2011; KRAJ *et al.*, 2012). De acordo com San Miguel *et al.* (2013) e Katzmann *et al.* (2013) o teste HLC pode fornecer informações prognósticas adicionais sobre o MM sintomático e a GMSI. Conforme os autores, a maior contribuição do teste ao prognóstico do MM é a capacidade de quantificar as imunoglobulinas, o que permite a identificação dos pacientes com GMSI que possuem um risco maior de progressão e, no caso do MM sintomático, o aumento na sobrevida dos pacientes. Porém, os autores ressaltam a necessidade de realizar mais estudos com o teste HLC, a fim de melhor estabelecer a sua real utilidade clínica.

Atualmente, existem outras técnicas para diagnóstico de gamopatias monoclonais que envolvem biologia molecular e citogenética, como a citometria de fluxo e a reação de FISH. Quanto à imunofenotipagem por citometria de fluxo, ela tornou-se, na última década, totalmente integrada às práticas clínicas que envolvem o MM, sendo considerada uma técnica confiável para a diferenciação das células plasmáticas malignas e benignas, principalmente para a avaliação da doença residual mínima. Além disso, a quantificação do conteúdo de DNA celular pela citometria de fluxo fornece informações rápidas e objetivas sobre anormalidades quantitativas no DNA de cada célula, assim como sobre a distribuição do ciclo celular (SAN MIGUEL *et al.*, 2006). Os marcadores mais frequentemente utilizados para a identificação dos plasmócitos malignos por citometria de fluxo são as imunoglobulinas citoplasmáticas de cadeias leves, CD19, CD56 e CD45, mas existem outros marcadores importantes. A citometria de fluxo é considerada uma das únicas técnicas disponíveis para quantificação das células plasmáticas tumorais (FRÉBET *et al.*, 2011), o que aumenta a

possibilidade do monitoramento das terapias utilizadas no tratamento do MM, podendo prolongar o tempo de sobrevivência dos pacientes (SAN MIGUEL *et al.*, 2013). A citometria de fluxo foi empregada por Frébet *et al.* (2011) para a detecção de células plasmáticas tumorais em 229 pacientes que apresentavam algum tipo de imunoglobulina monoclonal. Os autores constataram que a técnica foi capaz de identificar as células tumorais em 96,8% dos casos e apresentou uma sensibilidade de 81% e especificidade de 84% no diagnóstico diferencial entre GMSI e MM.

Pesquisadores como Lapalus e Chevailler (2000), Funari *et al.* (2005), Leite *et al.* (2010) e Brioli *et al.* (2014) relatam que a imunofenotipagem, através da citometria de fluxo, permite avaliar fenótipos aberrantes na maioria dos casos de MM, sendo uma boa ferramenta para distinguir células plasmáticas normais dos plasmócitos mielomatosos, assegurando, desta forma, uma maior eficácia no tratamento desses pacientes. Esta técnica ainda possui um custo elevado, mas é de grande importância e, num futuro próximo, poderá ser aplicada de forma rotineira, em conjunto com tratamentos específicos e dirigidos diretamente às células com lesões genéticas.

As aberrações cromossômicas nas células tumorais no MM são geralmente complexas e representam uma característica marcante da doença, envolvendo muitos cromossomos que possuem alterações numéricas e estruturais, sendo que a anormalidade genética mais comum é a deleção do cromossomo 13 (del 13) (GREIP *et al.*, 2005). No entanto, nas técnicas citogenéticas e cromossômicas utilizadas no diagnóstico do MM, apenas as células que estão em divisão podem ser analisadas. Isto pode ser considerada como uma das principais limitações destas técnicas, uma vez que a atividade mitótica dos plasmócitos malignos é baixa na fase inicial da doença. Esta limitação foi superada, em parte, pelo uso da técnica molecular citogenética de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH), que analisa o núcleo celular na interfase, sendo independente do processo de divisão celular (SAWYER, 2011). Pelo método FISH, os diferentes cromossomos podem ser enumerados e é possível detectar a incidência de anormalidades cromossômicas numéricas (CHAUFFAILLE *et al.*, 2007). Segundo Greip *et al.* (2005), as técnicas convencionais de citogenética são capazes de identificar anormalidades nos clones do MM em 20% a 30% dos pacientes. No entanto, ainda de acordo com os mesmos autores, a técnica FISH pode apresentar uma maior sensibilidade na detecção destas anormalidades.

Na literatura foram encontrados alguns estudos que compararam as principais técnicas de diagnóstico do MM. No trabalho de Kraj *et al.* (2012), os testes de dosagem de cadeias leves livres (FLC) e de cadeia leve/pesada (HLC) foram comparados à IF na avaliação da

remissão do MM. Os testes IF, HLC e FLC foram realizados no soro de 44 pacientes com MM que haviam passado por transplante autólogo de células tronco (TACT). Após o transplante, dos 44 pacientes, 26 (59%) apresentaram resultado normal para FLC. Destes, 22 (84,6%) também apresentaram resultado normal para HLC, mas em 5 pacientes (19%) apenas o resultado da IF permaneceu positivo. Somente em um caso a IF revelou um resultado negativo, enquanto que o teste FLC indicava positividade e recidiva do MM. Uma concordância entre os três testes foi encontrada em 19 pacientes. Pelo fato da IF indicar um resultado positivo, enquanto os demais testes indicavam a normalidade, os autores concluíram que a IF é mais sensível que os testes HLC e FLC na detecção do componente monoclonal residual em pacientes com MM.

A resposta de 344 pacientes com MM ao tratamento com quimioterapia e transplante autólogo de células tronco foi avaliada por Lahuerta *et al.* (2000), através do uso simultâneo da IF e da EF (sérica e/ou urinária). Os pacientes que mostraram uma remissão completa da doença foram então classificados em 2 subgrupos: aquele em que a proteína M não foi detectada tanto pela EF quanto pela IF e aquele em que a proteína M foi detectada pela IF mas não pela EF. O grupo de pacientes em que a IF não detectou proteína M apresentaram uma melhor sobrevida livre de eventos (35% em 5 anos) e uma melhor sobrevida global (72% em 5 anos) quando comparado com o outro subgrupo. Assim, os autores concluíram que a obtenção de um resultado negativo na IF para os pacientes em tratamento do MM corresponde ao melhor prognóstico e também que as estratégias terapêuticas devem ser elaboradas a fim de atingir este resultado negativo na IF.

Ao compararem a IF e HLC na análise de amostras séricas de 15 pacientes com MM, Decaux *et al.* (2011) constataram que, em 5 pacientes que atingiram o estado de VGPR (*Very Good Partial Response*; redução superior a 90% nas proteínas M) após 9 meses de tratamento, os resultados da HLC indicaram a normalidade, enquanto a IF ainda indicava resultado positivo.

A sensibilidade das técnicas de IF, HLC, FLC e citometria de fluxo (CF) na detecção da doença residual mínima no MM foi avaliada por Olivero *et al.* (2011). As amostras dos 27 pacientes estudados foram analisadas em 3 momentos distintos: antes do transplante autólogo de células tronco (n=11, estágio MRD1), após o transplante (n=25, estágio MRD2) e após a consolidação (n=23, MRD3). Em 50 amostras de imunoglobulina, as técnicas de CF e IF apresentaram sensibilidade similar de 60 e 58%, respectivamente. Nas amostras correspondentes ao estágio MRD1, a análise por CF apresentou melhor sensibilidade do que as técnicas de IF (100% vs 80%) e HLC (100 vs 70%). Nos demais estágios (MRD2 e MRD3)

não foi observada diferença significativa entre as técnicas. Os resultados da técnica FLC evidenciaram uma baixa sensibilidade em todos os estágios (30%).

2.3 Prognóstico e sistema de estadiamento

Nos pacientes com MM, a evolução clínica da doença é altamente variável. Apesar do tempo de sobrevida médio dos pacientes ser de 3 a 4 anos, este período pode variar de menos de 6 meses a até mais de 10 anos. Esta variabilidade deriva da heterogeneidade tanto da biologia das células mielomatosas, quanto de fatores relativos aos próprios pacientes. Por estas razões, é fundamental a ampliação do conhecimento sobre o prognóstico do MM, permitindo assim a identificação de grupos de risco e o aperfeiçoamento no tratamento dos pacientes (GREIP *et al.*, 2005). Para San Miguel e García-Sanz (2005) os fatores prognósticos associados à carga tumoral e aos sintomas do MM podem ser divididos em 3 grupos: (1) fatores relacionados à expansão das células clonais malignas/carga tumoral; (2) fatores relacionados às manifestações clínicas da doença (anemia, insuficiência renal, lesões ósseas, etc); (3) marcadores bioquímicos que refletem a atividade da doença. A identificação de parâmetros clínicos e laboratoriais, nos últimos anos, que podem auxiliar a prever a sobrevida dos pacientes, possibilitou a proposição de sistemas para a classificação do estadiamento do MM (GREIP *et al.*, 2005).

O primeiro sistema de estadiamento para avaliação da carga tumoral no MM foi o de Durie-Salmon, em 1975, obtido por meio de modelos matemáticos que relacionavam a massa tumoral com a quantidade de proteínas monoclonais (SAN MIGUEL e GARCÍA-SANZ, 2005). O sistema de estadiamento Durie-Salmon (Tabela 4) é baseado em critérios clínicos para avaliação da gravidade e expansão da doença, incluindo parâmetros como hemoglobina, cálcio sérico, creatinina sérica, níveis de proteína monoclonal e o número de lesões ósseas. Os estágios de I a III e A ou B são utilizados para avaliar a resposta do paciente ao tratamento. O estágio I representa doença moderada, enquanto os estágios II e III são mais graves e estão associados a lesões ósseas (STEVENSON *et al.*, 2014). Apesar de ser muito utilizado, o sistema de estadiamento Durie-Salmon apresenta algumas falhas, como a complexidade na obtenção dos parâmetros clínicos e o fato da identificação das lesões ósseas depender da interpretação do examinador, sendo, portanto, uma avaliação subjetiva e com reprodutibilidade reduzida (RAJKUMAR, 2009; KYLE e RAJKUMAR, 2009). De acordo

com Paszekova *et al.* (2014), o sistema de estadiamento Durie-Salmon tem utilidade limitada no cenário atual de prognóstico do MM.

Tabela 4 – Estadiamento de Durie e Salmon

Estádio	Critérios	Sobrevida média (meses)
I	Baixa massa tumoral ($< 0,6$ células x $10^{12}/m^2$) Todos os seguintes:	
	<ul style="list-style-type: none"> • Hb > 10 g/dL; • cálcio normal; • IgG < 5g/dL, IgA < 3g/dL; • proteína urinária monoclonal < 4 g/24h; • ausência ou lesão óssea única. 	IA - 62 IB - 22
II	Intermediário (entre os estádios II e III)	IIA - 58 IIB - 31
III	Alta massa tumoral ($1,2$ células x $10^{12}/m^2$) Qualquer um dos seguintes:	
	<ul style="list-style-type: none"> • Hb $< 8,5$ g/dL; • cálcio > 12 mg/dL; • IgG > 7 g/dL, IgA > 5 g/dL; • proteína urinária monoclonal > 12 g/24h; • Múltiplas lesões osteolíticas, fraturas. 	IIIA - 45 IIIB - 24
Subclasse	A - se creatinina < 2 mg/dL B - se creatinina > 2 mg/dL	

Abreviações: Hb, Hemoglobina; Ig, Imunoglobulina.

Fonte: Adaptado de Martinez (2007) e Greipp *et al.* (2005).

Em 2005, a fim de garantir uma classificação mais objetiva, simplificada e reprodutível dos pacientes com MM, Greipp *et al.* (2005), apoiados pela Fundação Internacional do Mieloma (International Myeloma Foundation – IMF) e pelo Grupo Internacional de Trabalho sobre Mieloma (*International Myeloma Working Group - IMWG*), elaboraram o Sistema Internacional de Estadiamento do MM (*International Staging System - ISS*), com base nos parâmetros clínicos $\beta 2$ -microglobulina e albumina. Estes parâmetros

foram escolhidos devido a sua ampla disponibilidade e simplicidade na identificação por exames de sangue, como no caso da β 2-microglobulina sérica, que é um teste laboratorial com alta reprodutibilidade e que mede a carga tumoral e a função renal (KYLE e RAJKUMAR, 2009). O sistema de estadiamento ISS classifica os pacientes com MM em três estádios com diferentes médias de sobrevida (Tabela 5).

Tabela 5 – Sistema Internacional de Estadiamento do MM (*International Staging System*)

Estádio	Critérios	Sobrevida média (meses)
I	β 2-microglobulina sérica < 3,5 mg/dL Albumina sérica > 3,5 g/dL	62
II	Nem estágio I ou III*	44
III	β 2-microglobulina sérica > 5,5 mg/dL	29

Existem 2 categorias para o estágio II:

- β 2-microglobulina sérica < 3,5 mg/L, mas albumina sérica < 3,5 g/dL, ou
- β 2-microglobulina 3,5 - 5,5 mg/L independente do nível de albumina sérica.

Fonte: Adaptado de Greipp *et al.* (2005).

Este sistema de estadiamento já foi validado em diversas situações, como em pacientes jovens e em idosos, em pacientes tratados por quimioterapia convencional ou por transplante autólogo de células tronco, e ainda nos pacientes tratados com novos fármacos, tanto no momento do diagnóstico, como na recidiva (KASTRITIS *et al.*, 2009). O sistema ISS, mesmo existindo há quase uma década, representa atualmente o sistema de estadiamento mais utilizado para pacientes com MM, fornecendo informações úteis sobre as características biológicas da doença e permitindo a comparação do resultado de diferentes estudos clínicos (PASZEKOVA *et al.*, 2014). Apesar disso, o sistema ISS apresenta algumas limitações, como a impossibilidade de ser utilizado para diferenciar casos de GMSI e MLL dos casos de MM sintomático e o fato de classificar os pacientes em apenas três grandes grupos prognósticos, enquanto na realidade os pacientes com MM são descritos como um grupo muito heterogêneo

que não poderia ser incluído em somente três categorias. Além disso, a identificação dos pacientes de alto risco ocorre apenas em um pequeno grupo de pacientes (entre 5 e 9%), sendo necessária uma investigação mais detalhada por meio de análises citogenéticas e de genética molecular. O sistema ainda apresenta uma baixa sensibilidade na detecção de casos de MM de alto risco genético, com exceção dos casos em que o MM é altamente proliferativo. O estágio III do ISS é composto tanto por um grupo de pacientes em que o nível de $\beta 2$ -microglobulina é elevado devido à carga tumoral, quanto por um grupo em que essa elevação ocorre devido à insuficiência renal. Logo, nestes casos, o ISS não fornece uma boa estimativa da carga tumoral dos pacientes e não pode ser utilizado para a estratificação de riscos terapêuticos (TUCHMAN e LONIAL, 2011; PASZEKOVA *et al.*, 2014; KYLE e RAJKUMAR, 2009).

2.4 Tratamento do MM

Atualmente, tem havido um crescente progresso no tratamento do MM, o que levou a um aumento tanto na extensão como na frequência da resposta dos pacientes às terapias, assim como no aumento da sua sobrevida e da qualidade de vida (HUNGRIA *et al.*, 2013; MUNSHI e ANDERSON, 2013). Na tabela 6 são apresentadas as alternativas atualmente disponíveis para o tratamento do MM, conforme a Fundação Internacional do MM (IMF).

Durante décadas, as terapias de tratamento do MM eram baseadas no uso de alquiladores e corticosteróides, como o melfalano e a prednisona. Posteriormente, na década de 90, foi constatado que o uso de tratamentos como a quimioterapia em alta dose e o transplante autólogo de células tronco eram capazes de prolongar a sobrevida dos pacientes, quando comparadas à quimioterapia convencional. Ainda, com o uso destes novos tratamentos, pela primeira vez pode-se atingir uma resposta completa dos pacientes ao tratamento (RAJKUMAR, 2009; MUNSHI e ANDERSON, 2013).

O panorama geral do tratamento do MM modificou-se na última década com o surgimento de novas terapias e medicamentos. Drogas imunomoduladoras (talidomida, lenalidomida, pomalidomida, etc...) e inibidoras de proteassoma (*bortezomib*, *carfilzomib*, etc...), quando utilizadas como terapia inicial em pacientes recém diagnosticados, podem levar a uma resposta completa em uma porção significativa dos pacientes (ANDERSON, 2011). Além disso, o uso de terapias de manutenção e consolidação com estes novos medicamentos pode aumentar ainda mais a ocorrência e a duração das respostas completas (MUNSHI e

ANDERSON, 2013). Com os avanços na área da biologia do MM há uma busca contínua por outros agentes capazes de melhorar o tratamento da doença (RAJKUMAR, 2009).

Tabela 6 – Opções de tratamento do MM conforme a IMF (2012)

1. Quimioterapia
2. Quimioterapia em alta dose e transplante de células tronco hematopoiéticas
3. Radiação
4. Terapia de manutenção (interferon alfa, prednisona, etc...)
5. Terapia de suporte:
 - Eritropoetina
 - Analgésicos
 - Bisfosfonatos (Zometa®)
 - Fatores de crescimento
 - Antibióticos
 - Ortose/colete
 - Exercícios físicos leves
 - Tratamentos de emergência (diálise, plasmaferese, cirurgia, etc...)
6. Controle de doença refratária ou resistente ao medicamento
7. Tratamentos novos e emergentes:
 - Talidomida, Lenalidomida (Revlimid®), e a próxima geração de drogas imunomoduladoras (IMiDs), como a pomalidomida*
 - *Bortezomib* (Velcade®) e a próxima geração de inibidores de proteassoma, como a *carfilzomib* e *marizomib** (NPI-0052)
 - Doxil® (doxorubicina lipossomal peguilada) em substituição a adriamicina injetável.
 - Mini-alo transplante (não mieloablativo)
 - Inibidores das histonas desacetilases (HDACs), como o *vorinostat** e *panobinostat**
 - Anticorpos monoclonais, como o *elotuzuma**

* Ainda em fase de ensaios clínicos

2.5 Mieloma múltiplo recidivado e refratário

O MM é caracterizado pelo acúmulo e proliferação descontrolada de células plasmáticas monoclonais, que produzem imunoglobulinas monoclonais, as quais levam à imunossupressão e a várias disfunções orgânicas. Embora a inclusão de novas drogas e terapias tenha elevado a taxa de resposta da doença aos tratamentos e ocorra a remissão da doença por um longo prazo, a maioria dos pacientes eventualmente irá sofrer uma recidiva, incluindo aqueles que apresentaram uma resposta completa ao tratamento inicial. Por meio de tratamentos adicionais, existe a possibilidade dos pacientes recidivados atingirem múltiplas remissões da doença, porém, em cada recidiva, os tumores mielomatosos se repetem de forma mais agressiva devido à seleção de clones resistentes ao tratamento, levando a um “padrão” de remissão e recidiva que resulta no desenvolvimento de MM refratário ao tratamento (RÖLLIG e ILLME, 2009; LUDWIG e SONNEVELD, 2012). Neste contexto, Kumar *et al.* (2004) concluíram que a duração da resposta ao tratamento do MM diminui a cada recidiva, provavelmente por causa do aumento na taxa proliferativa das células do mieloma e pela resistência adquirida por estas células aos medicamentos.

Apesar de variável, a duração da resposta dos pacientes ao tratamento do MM geralmente não excede três anos, sendo a recidiva da doença a principal causa de morte. Isto ocorre devido à persistência das células tumorais residuais, na chamada doença residual mínima, responsável pela recidiva tumoral (SARASQUETE *et al.*, 2005; GORGUN, 2012). Em seu estudo, Leung-Hagesteijn *et al.* (2013) examinaram as células tumorais do MM em diversos estágios do tratamento, concluindo que a principal causa da recidiva da doença ocorre pelo fato do medicamento não agir diretamente nas células progenitoras malignas, mesmo nos casos em que é constatada uma remissão completa da doença.

Segundo Hungria (2007), o padrão das recidivas no MM é muito heterogêneo, com comportamento indolente ou agressivo. O tratamento mais adequado para pacientes com MM recidivado deve ser individualizado e depende de diversos fatores, como idade, terapia inicial, resposta às terapias, função da medula óssea, resultados da citogenética do paciente, função renal e tempo para a recidiva (HUNGRIA, 2007; VAN DE DONK *et al.*, 2011). Para a detecção do MM recidivado, Dimopoulos *et al.* (2011) afirmam que a propedêutica recomendada no diagnóstico inicial da doença também é pertinente na recidiva.

O uso de novos tipos de medicamentos como a talidomida, lenalidomida e bortezomibe tem sido eficaz e bem tolerado no tratamento de pacientes com MM recidivado

e/ou refratário, prolongando a duração da resposta ao tratamento. Além disso, a introdução de medicamentos imunomoduladores e dos inibidores de proteassoma (utilizados individualmente ou em combinação com as terapias clássicas contra o MM) tem apresentado melhores resultados nos pacientes com MM recidivado (VAN DE DONK *et al.*, 2011). Porém, ainda existe a necessidade em se aperfeiçoar o tipo de tratamento dos pacientes que recidivam após uma terapia inicial. Ainda não foi definida a duração ótima das terapias nos pacientes com MM recidivado e/ou refratário, sendo que, muitas vezes, o tratamento é administrado por um número de ciclos limitado, ou até que seja obtida a melhor resposta ao tratamento. No entanto, o uso de terapia contínua após a primeira recidiva pode fornecer bons resultados devido à supressão da doença residual mínima, prolongando o tempo até a próxima recidiva (LUDWIG e SONNEVELD, 2012).

3 MANUSCRITO

COMPARAÇÃO ENTRE IMUNOFIXAÇÃO E ELETROFORESE NA DETECÇÃO PRECOCE DE RECIDIVAS DO MIELOMA MÚLTIPLO

Marta Helena Carlesso Aita^a; Luiz Claudio Arantes^b; José Edson Paz da Silva^{a*}.

^a Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, 97119900, Santa Maria, RS, Brasil.

^b Médico do Serviço de Nefrologia do Hospital Universitário de Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 97105900, Santa Maria, RS, Brasil.

* Autor Correspondente:

José Edson Paz da Silva

Telefone: (55) 2208464 Ramal: 8346

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, prédio número 26, Campus Universitário, 97119900 - Santa Maria, RS – Brasil.

e-mail: jepazdasilva@gmail.com

RESUMO

COMPARAÇÃO ENTRE IMUNOFIXAÇÃO E ELETROFORESE NA DETECÇÃO PRECOCE DE RECIDIVAS DO MIELOMA MÚLTIPLO

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia hematológica progressiva ainda incurável, caracterizada pela sua evolução heterogênea e pela ocorrência de recidivas na maioria dos pacientes após o tratamento. A utilização de métodos analíticos que permitam detectar o mais precocemente possível a presença de imunoglobulinas monoclonais em amostras séricas, antes da ocorrência das recidivas, é fundamental para a definição da terapêutica a adotar. O objetivo deste trabalho consistiu em comparar as técnicas de imunofixação (IF) e eletroforese (EF) séricas quanto a sua eficácia em detectar as recidivas do MM. Para isso, foram monitorados 52 pacientes em tratamento junto ao Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), sendo detectada a recidiva da doença em nove destes pacientes. A análise retrospectiva de proteínas séricas dos pacientes recidivados, no período entre janeiro de 2012 e julho de 2014, indicou que a IF foi mais eficaz do que a EF em detectar precocemente as recidivas, independentemente da classe de imunoglobulinas presente. Nos nove pacientes recidivados, a precocidade da IF, em relação à EF, na detecção das recidivas do MM variou de 2,0 a 18,8 meses, com um tempo médio de 6,6 meses.

Palavras-chave: mieloma múltiplo, imunoglobulinas monoclonais, imunofixação, eletroforese, recidivas.

ABSTRACT

COMPARISON BETWEEN ELECTROPHORESIS AND IMMUNOFIXATION IN EARLY DETECTION OF RELAPSED MULTIPLE MYELOMA

Multiple myeloma (MM) is an incurable progressive hematologic malignancy characterized by its heterogeneous evolution and by the occurrence of relapses in most patients after treatment. The use of analytical methods to detect as early as possible the presence of monoclonal immunoglobulins in serum samples prior to the occurrence of relapses is essential to define the therapeutic to adopt. The objective of this study was to compare the effectiveness of the techniques of serum immunofixation (IF) and electrophoresis (EP) in the detection of MM relapses. For this, 52 patients under treatment in the University Hospital of Santa Maria (HUSM) were monitored, being detected the relapse of the disease in nine of these patients. The retrospective analysis of serum proteins of the relapsed patients, conducted in the period between January 2012 and July 2014, indicated that IF was more effective than EP in the early detection of relapses, regardless of the present class of immunoglobulins. In the nine relapsed patients, the precocity of IF in relation to EP in detecting MM relapses ranged from 2.0 to 18.8 months, with a mean of 6.6 months.

Keywords: multiple myeloma, monoclonal immunoglobulins, immunofixation electrophoresis, relapses.

1 INTRODUÇÃO

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia hematológica progressiva de células B, caracterizada pela proliferação desregulada e clonal de plasmócitos na medula óssea, os quais produzem e secretam imunoglobulinas anômalas monoclonais ou fragmentos destas (cadeias leves livres ou proteína de Bence-Jones), chamadas de proteína M, proteína do mieloma ou paraproteína, que são excretadas para o sangue e/ou urina (MANGAN, 2005; SARASQUETE *et al.*, 2005; BARBER, 2006; PASZEKOVA *et al.*, 2014). Trata-se do segundo tipo de câncer hematológico mais comum em nível mundial, correspondendo a 10% de todas as neoplasias hematológicas (RAJKUMAR, 2011; HUNGRIA *et al.*, 2013), além de representar 1% de todos os diagnósticos de câncer e 2% de todos os óbitos ocasionados por esta doença (BARBER, 2006; PASZEKOVA *et al.*, 2014). Entre as neoplasias hematológicas o MM é a doença com o pior prognóstico e com as menores taxas de sobrevida, que é de 5 anos em 15 a 20% dos casos (PARKIN *et al.*, 2005; ALTIERI *et al.*, 2006).

Os centros internacionais de registro de câncer têm reportado um aumento nas taxas de incidência e na mortalidade provocada pelo MM nas últimas décadas, embora ainda não esteja claro se isso se deve às novas práticas de diagnóstico ou a um aumento real de novos casos da doença (ALTIERI *et al.*, 2006). Embora no Brasil, ainda não exista um conhecimento exato e oficial sobre a incidência do MM, já que a doença não se encontra registrada nas estimativas anuais do Instituto Nacional de Câncer (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2014), alguns estudos como o de Hungria *et al.* (2008) indicam que a idade média ao diagnóstico é de 60,5 anos, com a maior parte dos casos sendo diagnosticados quando a doença já se encontra em estágio avançado.

Embora o MM seja uma doença incurável, o seu tratamento adequado pode aliviar os sintomas e prolongar a sobrevida dos pacientes (STEVENSON *et al.*, 2014). O diagnóstico da doença depende da identificação de células plasmáticas monoclonais anormais na medula óssea, proteína M no soro ou na urina, evidência de lesões nos órgãos e um quadro clínico compatível com MM (KYLE e RAJKUMAR, 2009). Segundo Faria e Silva (2007), a confirmação da presença da proteína M é essencial para diferenciar as gamopatias monoclonais das gamopatias policlonais, uma vez que as primeiras são entidades neoplásicas ou potencialmente neoplásicas enquanto as últimas resultam de processos inflamatórios ou infecciosos. Assim, a utilização de técnicas eficientes e precisas no diagnóstico do MM é um aspecto fundamental no sentido de contribuir ao diagnóstico diferencial de gamopatias monoclonais, de auxiliar na obtenção de informações sobre fatores prognósticos, o que facilita

o processo de decisão terapêutica, e também de fornecer indicadores adequados para monitorar a eficácia do tratamento (SAN MIGUEL *et al.*, 2006). O diagnóstico do MM e a detecção precoce das suas recidivas são essenciais para a redução da sua morbidade e para melhorar a qualidade de vida dos pacientes (BIANCHI e GHOBRIAL, 2012).

Atualmente, a eletroforese (EF) de proteínas séricas e/ou urinárias permanece como a técnica padrão para o diagnóstico e o tratamento de pacientes com MM (SAN MIGUEL *et al.*, 2013). Embora a EF em gel de agarose possa ser considerada como um método laboratorial relativamente simples para a detecção de proteínas M, a técnica considerada como "padrão ouro" para a confirmação da presença destas proteínas e também para distinguir as cadeias leves e pesadas no MM é a imunofixação (IF) (THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP, 2003). A combinação entre as técnicas de EF e IF aumenta em até 97% a sensibilidade na detecção de proteínas M nos pacientes com MM (RAJKUMAR, 2009; KYLE e RAJKUMAR, 2009).

A comparação entre as técnicas de EF e IF tem sido feita em alguns estudos, com a IF mostrando maior eficácia na detecção de imunoglobulinas monoclonais na maioria das situações, especialmente naquelas em que as imunoglobulinas monoclonais encontram-se em baixas concentrações ($< 1 \text{ g L}^{-1}$) (VRETEHEM *et al.*, 1993). No trabalho de Keren (1990) a imunoglobulina monoclonal IgM não foi detectada pela EF mas apenas pela IF, o que foi atribuído ao fato de que as moléculas de IgM possuem grande volume e, por isso, difundem lentamente no gel de agarose utilizado na EF. A IF também apresentou resultados mais consistentes do que a EF na detecção de imunoglobulinas IgG, IgA e IgM, em amostras de soro tanto com alta como baixa concentração das referidas imunoglobulinas (MARSHALL, 1980).

Considerando que após o tratamento dos pacientes pode haver remissão completa do MM, mas não a sua cura (LUDWIG e SONNEVELD, 2012; STEVENSON *et al.*, 2014), é importante o acompanhamento destes pacientes no sentido de poder detectar o mais precocemente possível as recidivas da doença. Quando Reichert *et al.* (1982) utilizaram a EF em um paciente que realizou quimioterapia, os resultados indicaram, erroneamente, que o mesmo estava livre do MM, uma vez que quando as amostras foram analisados retrospectivamente, através da IF, o resultado foi positivo para a gamopatia IgA λ . Apesar desses indicativos da superioridade da técnica da IF sobre a EF ainda há carência de resultados comparando as duas técnicas na detecção precoce de recidivas em pacientes com MM que foram submetidos a diferentes processos terapêuticos. O principal objetivo do presente trabalho foi a comparação entre as técnicas de IF e EF quanto a sua eficácia em

detectar precocemente as recidivas do MM, através da análise retrospectiva de imunoglobulinas monoclonais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Pacientes

O presente trabalho possui uma abordagem específica para avaliar a detecção precoce de imunoglobulinas monoclonais e/ou cadeias leves livres monoclonais em pacientes com recidiva do mieloma múltiplo (MM). Assim, os pacientes estudados foram retrospectivamente avaliados com a finalidade de detectar as imunoglobulinas monoclonais presentes nas recidivas da doença.

A população estudada consistiu de 124 pacientes com diagnóstico de MM que faziam acompanhamento no ambulatório de Hematologia do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), RS, Brasil, entre janeiro de 2012 e julho de 2014. Após a adoção dos critérios pré-estabelecidos para inclusão no trabalho, foram selecionados 52 pacientes, nos quais foi retrospectivamente monitorada a sua evolução clínica. A evolução dos 52 pacientes acompanhados no período do estudo é mostrada na figura 1. Todos os pacientes haviam realizado exames laboratoriais de rotina antes de cada consulta e recebiam o tratamento padronizado pelo HUSM.

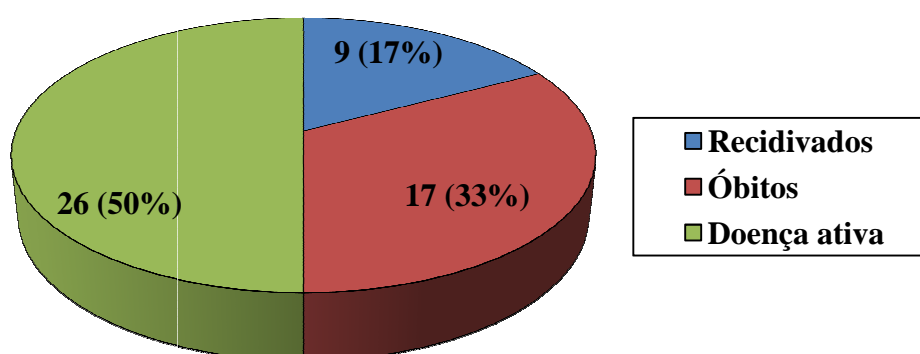


Figura 1 – Evolução dos pacientes com MM acompanhados entre janeiro de 2012 a julho de 2014.

Para a inclusão dos pacientes no estudo foram adotados os seguintes critérios: a) pacientes com diagnóstico confirmado de MM. Foram excluídos do estudo os pacientes que:

a) perderam o acompanhamento clínico e/ou os dados do prontuário estavam incompletos; b) compareceram com a doença em recidiva e em estado avançado c) compareceram no local em que foi realizada a pesquisa (HUSM) para o tratamento quimioterápico e após realizaram acompanhamento clínico laboratorial na cidade de origem.

Todas as informações retrospectivas referentes aos pacientes estavam disponíveis em seus prontuários e os dados foram obtidos e interpretados ao longo de sua evolução clínica. Foram, assim, analisados os seguintes parâmetros: a) idade, sexo, raça e fator de risco; b) período da realização do tratamento quimioterápico e/ou transplante medular.

Como o estudo dos pacientes foi feito de forma retrospectiva, os resultados das análises séricas (EF sérica e dosagens laboratoriais) foram interpretados em cada consulta clínica, sendo elaboradas planilhas para cada paciente em estudo para um melhor monitoramento, principalmente naqueles que apresentavam-se em remissão completa da doença e que poderiam recidivar. Assim o material sorológico de cada paciente foi armazenado em alíquota a uma temperatura - 70°C, para posterior realização da técnica de IFS.

Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento quanto a sua participação no estudo. O comitê de ética da Universidade Federal de Santa Maria aprovou o projeto sob o número CAAE 21135313.8.0000.5346.

2.2 Análises laboratoriais

2.2.1 Amostras (pré-análise)

As amostras de sangue foram coletadas no Laboratório de Hemato-Oncologia e/ou no Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do HUSM. Para a coleta de sangue foi utilizada a técnica padrão de punção venosa, com o material sendo transferido para tubos Vacutainer[®], BD Diagnostics, USA. Tubos sem anticoagulante foram utilizados para as análises sorológicas, enquanto tubos com 7,2 mg de dipotassium anticoagulante EDTA serviram à análise de hemograma. Para obtenção do soro foi realizada a centrifugação das amostras a 4000 r.p.m. durante 10 min. O soro dos pacientes foi conservado, sendo armazenado em alíquotas (tubos eppendorf) em freezer a uma temperatura de - 70°C, até o momento da realização das análises.

2.2.2 Eletroforese Sérica (EFS)

A técnica de EFS foi realizada em cuba eletroforética/CELM, contendo 80 mL de tampão CELM - pH 9,5. O soro foi aplicado no filme de agarose (CELM Gel), conforme técnica recomendada pelo fabricante. A leitura das frações proteicas foi feita através do Programa SDS (Software para Densitometria por Scanner).

2.2.3 Imunofixação sérica (IFS)

As análises de IFS foram realizadas no aparelho Sebia® HYDRASYS® com Hydragel IF 2/4 Sebia, de acordo com as instruções do fabricante. Tais análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre-RS-Brasil, seguindo-se as normas recomendadas para conservação e transporte das amostras até o laboratório.

As proteínas do soro foram separadas em um tampão alcalino (pH 9,1) durante 9 min a 20 W (42 VH). Os tipos de anti-soros contra as classes de Ig específicas (IgG, IgA e IgM) e cadeias leves (κ e λ) foram aplicados e a identificação foi feita após a coloração dos complexos antígenos/anticorpos, os quais formavam imunoprecipitados. Todos os reagentes estão incluídos no kit de IF/Sebia.

A leitura dos géis foi realizada de acordo com a presença ou ausência de banda(s) monoclonal e/ou biclonal de cadeias pesadas (IgG, IgA e IgM) associadas as suas cadeias leves κ e λ (imunoglobulinas completas) ou somente de cadeias leves livres (κ e/ou λ). Consideraram-se dois padrões, sendo um normal (ausência de componente monoclonal e outro anormal (presença de componente monoclonal, biclonal ou oligoclonal).

2.2.4 Dosagens sorológicas

As dosagens sorológicas foram realizadas no setor de Bioquímica do LAC/ HUSM, utilizando-se os analisadores da Siemens Dimension Pand Plus®. Foi utilizado o método imuno-turbidimético para análise das imunoglobulinas (IgG, IgA, IgM). Para dosagens da creatinina e albumina utilizou-se o método colorimétrico e para a análise de desidrogenase láctica (DHL) foi empregado o método ultra-violeta (UV).

O hemograma foi realizado no setor de Hematologia do HUSM, através do equipamento Sysmex XE 2100®, enquanto que para a dosagem sérica de β 2- microglobulina as amostras foram analisadas pelo método de quimioluminescência.

Todas as técnicas utilizadas foram devidamente padronizadas, através do controle de qualidade interno e externo (PNCQ-Programa Nacional de Controle de Qualidade).

2.3 Análise estatística

A análise dos dados foi feita através de estatística descritiva (média e desvio padrão) para algumas das variáveis em estudo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos prontuários dos 52 pacientes com diagnóstico confirmado de mieloma múltiplo (MM) indicou que a idade dos mesmos variou de 28 a 83 anos, com uma média de 59 anos ($\pm 13,5$) (Tabela 1). Essa idade média difere daquela encontrada por volta de 1973, onde a maioria dos casos ocorriam em pacientes na faixa etária de 70 a 80 anos (FASSAS e TRICOT, 2001). A maior precocidade no aparecimento da doença atualmente pode ser atribuída ao avanço nas técnicas de análise, o que permite diagnosticá-la mais precocemente. Além disso, o aumento da estimativa de vida e a heterogeneidade da população no que se refere, principalmente, à exposição aos fatores de risco e ao seu perfil sócio-econômico também podem explicar tais diferenças. Nos trabalhos realizados no Brasil por Casaretto (2005), Faria e Silva (2007), Klaus *et al.* (2009), Paula e Silva *et al.* (2009) e Keren (2010) a idade média para detecção do MM nos pacientes variou na faixa de 62 a 66 anos.

Quanto ao fator raça, se observa na tabela 1 que houve predominância de pacientes brancos (56%), seguido de pardos (23%) e negros (21%), o que contrasta com os resultados encontrados por Kyle *et al.* (2002) e Klaus *et al.* (2009), onde houve maior incidência da doença em negros. Em um estudo multicêntrico realizado no Brasil por HUNGRIA *et al.* (2006) também houve prevalência da doença (80,5%) em brancos ou mulatos. Essa relação do MM com a raça da população é difícil de ser estabelecida com precisão, uma vez que a etnia da população varia entre as diferentes regiões do Brasil. No presente trabalho, por exemplo, predominam pessoas de origem alemã e italiana, o que pode justificar a maior ocorrência da doença em brancos.

Com relação ao sexo dos pacientes, houve um predomínio do masculino (55,8%), o que está de acordo com os resultados de Klaus *et al.* (2009) e Casaretto (2005), porém difere daqueles publicados por Paula e Silva *et al.* (2009) e Hungria *et al.* (2006), onde a maioria dos pacientes (52,5 e 52,0%, respectivamente) eram do sexo feminino. Essa divergência nos resultados pode estar relacionada ao tamanho da amostra e/ou às características próprias da população de cada estudo.

O tipo de imunoglobulina monoclonal e as cadeias leves livres (CLL) (proteína de Bence Jones) são utilizados para caracterizar o tipo de MM. Os resultados obtidos com os 52 pacientes que fizeram parte do presente estudo indicaram uma predominância da imunoglobulina IgG (48%). Não foi detectada a presença de IgD, IgE e MM não secretor. No trabalho de Paula e Silva *et al.* (2009) também houve maior ocorrência do componente monoclonal IgG (57,8%), seguido por CLL (22,9%) e IgA (16,9%), com IgD/IgE e não secretor ocorrendo nas mesmas proporções (1,2%). Esses resultados confirmam a informação da literatura de que o mieloma mais comum é o IgG e que são raros os casos de mieloma IgD e IgE e não secretores (FARIA e SILVA, 2007; BOUATAY *et al.*, 2013).

Diversos estudos têm relatado a existência de fatores de risco, os quais propiciam o surgimento do MM. A exposição a altas doses de radiações ionizantes, a exposição ocupacional nas indústrias agrícolas e petroquímica na presença de benzeno e outros solventes orgânicos, além da exposição a inseticidas e herbicidas são exemplos de fatores que podem induzir desordens celulares plasmocitárias e, conseqüentemente, o MM (KLAUS *et al.*, 2009; FARIA e SILVA, 2007). Também fatores ligados ao estilo de vida, como a condição sócio-econômica, o tabagismo e o álcool, além da estimulação antigênica repetida ou crônica do sistema imunitário podem predispor o aparecimento do MM (MORGAN *et al.*, 2002). Na população que constituiu o presente estudo os fatores mais prevalentes em ordem decrescentes foram a exposição a agentes tóxicos, as alterações genéticas, o tabagismo e o etilismo (Tabela 1).

Tabela 1 - Características e informações gerais dos 52 pacientes portadores de mieloma múltiplo (MM) avaliados no presente trabalho

Características	Informações gerais
Sexo	29 (55,8%) masculino e 23 (44,2%) feminino
Raça	29 (56%) brancos, 11 (21%) negros e 12 (23%) pardos
Idade	Idade média de 59 anos \pm 13,5 anos, com 15 (28,8%) na faixa de 28 a 48 anos, 23 (44,2%) de 49 a 69 anos e 14 (26,9%) acima de 70 anos
Componente monoclonal	24 (48%) IgG, 15 (29%) IgA, 12 (23%) CLL e 1 (2%) IgM
Fatores de risco	17 (33%) exposição a agentes tóxicos ^a , 10 (19%) genéticos ^b , 9 (17%) tabagista/etilista ^c e 16 (31%) sem fator de risco

a) Radiações e agentes tóxicos de atividades envolvendo agrotóxicos, pintura, olaria e solda;
b) Parentes de 1º grau com doenças hematológicas e/ou autoimunes;
c) Uso de álcool e/ou tabaco durante longo período.

Dos 52 pacientes que foram monitorados neste trabalho, nove recidivaram durante o período de estudo, sendo possível observar a evolução da doença antes e após a sua recaída, conforme os critérios de inclusão previamente estabelecidos. Estes pacientes foram acompanhados minuciosamente, através de resultados obtidos junto aos seus prontuários, dando-se atenção especial para as informações relativas ao estado físico, à sintomatologia, à terapêutica utilizada e às análises laboratoriais mais relevantes nas recidivas do MM.

Lahuerta *et al.* (2000) e Hungria *et al.* (2013) constataram que, após a remissão do MM, conseguida através de tratamentos quimioterápicos intensivos e/ ou do transplante autólogo de células-tronco, as imunoglobulinas monoclonais e ou cadeias leves livres podem regredir até atingir níveis normais. Como ainda não há cura para a doença, ela recidivará, sendo que o espaço de tempo para que isso ocorra irá depender dos tipos e subtipos de mieloma, da imunidade do paciente e da terapêutica utilizada anteriormente à recidiva. Na

maioria dos casos, as recidivas em pacientes com MM se manifestam de forma agressiva (LUDWIG e SONNEVELD, 2012), sendo de suma importância a sua detecção precoce, por meio de métodos eficazes. O método da imunofixação (IF) é considerado como "padrão ouro" (BENDER *et al.*, 2013; HUNGRIA *et al.*, 2013), com grande sensibilidade e especificidade para detectar o reaparecimento de uma proteína monoclonal e distinguir as cadeias pesadas e o tipo de cadeias leves presentes no soro e urina dos pacientes com MM.

No presente trabalho, a comparação entre as técnicas da imunofixação e da eletroforese quanto a sua eficácia na detecção de recidivas em pacientes que estavam em remissão da doença é ilustrada através das figuras 2 a 4, em que os pacientes foram separados de acordo com as classes de imunoglobulinas.

Na figura 2, em que são apresentados os resultados de cinco pacientes recidivados (1, 2, 3, 4 e 7) e com o mesmo tipo monoclonal/biclonal de cadeia pesada (IgA), se observa que na primeira análise sérica feita em todos os pacientes, a EF não foi sensível na detecção do componente monoclonal, embora os pacientes apresentassem sintomas clínicos sugestivos de recidiva como, por exemplo, o aumento na intensidade de dor óssea, astenia e mal estar geral. Quando, nas mesmas amostras destes pacientes, em que os resultados da EF eram negativos, aplicou-se a IF, esta detectou a presença do componente monoclonal, confirmando a suspeita da recidiva do MM.

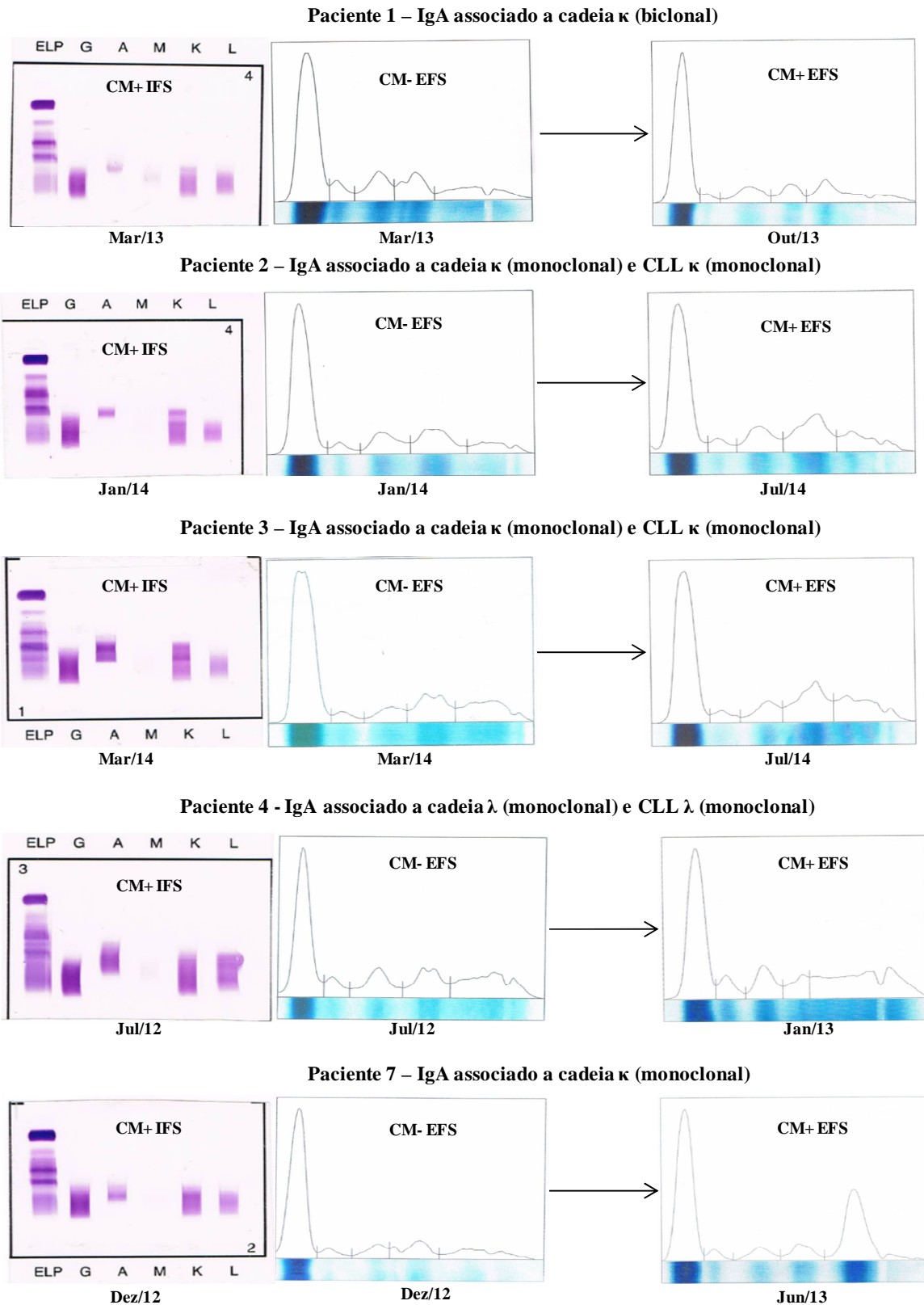


Figura 2 – Detecção precoce de MM do tipo IgA em pacientes monitorados através da imunofixação sérica e eletroforese sérica. IFS: imunofixação sérica; EFS: eletroforese sérica; CM+ e CM-: presença e ausência de componente monoclonal, respectivamente; ELP: corrida eletroforética sérica pela técnica de IFS; G, A, M, κ e L(λ): tipos de anti-soros.

A maior sensibilidade da IFS, em relação à EFS, na detecção das recidivas do MM, observada nos quatro pacientes com padrões IgA, também ocorreu com os dois pacientes (5 e 9), com o tipo de proteína IgG (Figura 3) e com os dois pacientes (6 e 8), que apresentaram o tipo CLL (Figura 4), indicando que, independentemente do tipo de proteína bi/monoclonal, o uso da IFS pode antecipar a detecção das recidivas, em comparação ao uso da EFS.

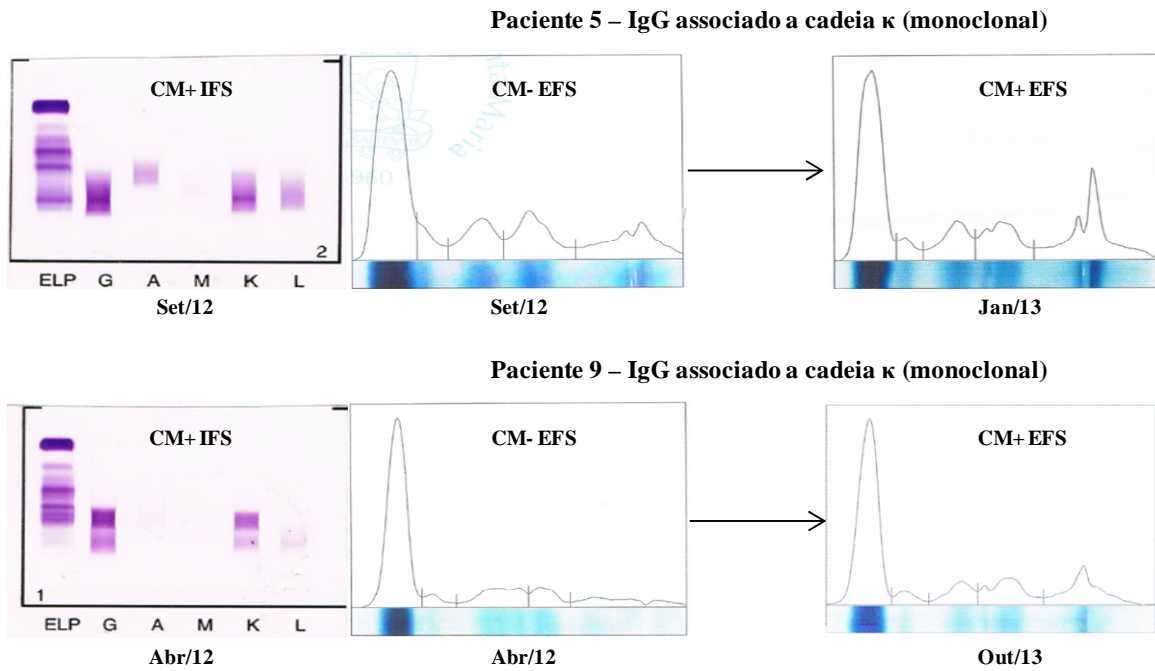


Figura 3 – Detecção precoce de MM do tipo IgG em pacientes monitorados através da imunofixação sérica e eletroforese sérica. IFS: imunofixação sérica; EFS: eletroforese sérica; CM+ e CM-: presença e ausência de componente monoclonal, respectivamente; ELP: corrida eletroforética sérica pela técnica de IFS; G, A, M, κ e L(λ): tipos de anti-soros.

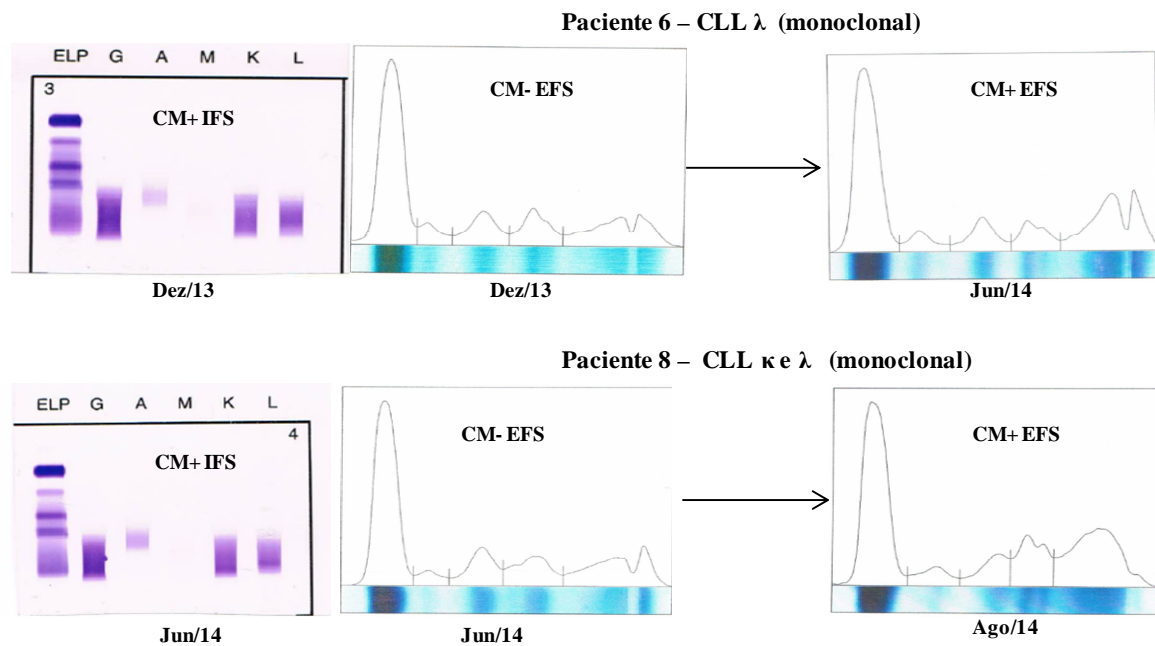


Figura 4 – Detecção precoce de MM do tipo CLL em pacientes monitorados através da imunofixação sérica e eletroforese sérica. IFS: imunofixação sérica; EFS: eletroforese sérica; CM+ e CM-: presença e ausência de componente monoclonal, respectivamente; ELP: corrida eletroforética sérica pela técnica de IFS; G, A, M, κ e L(λ): tipos de anti-soros.

A comparação dos resultados obtidos com a IFS e a EFS nos nove pacientes do presente estudo indica que, independente da classe de imunoglobulina presente, as recidivas do MM foram detectadas mais precocemente com a IFS do que com a EFS. A detecção tardia das recidivas, através da EFS, ocorreu quando o quadro clínico dos pacientes já havia se agravado, reduzindo assim as possibilidades de adoção de estratégias terapêuticas que permitissem aumentar o seu tempo de sobrevivência.

A partir dos resultados apresentados nas figuras 2 a 4, foi elaborada a tabela 2, onde consta a data de detecção das recidivas através da análise sérica pela IF e pela EF, o que permite comparar quantitativamente as duas técnicas quanto a sua sensibilidade na detecção precoce das recidivas. Nos nove pacientes recidivados, a precocidade média na detecção do padrão monoclonal pela IFS superou a eletroforese sérica EFS em $6,6 \pm 4,8$ meses, variando de apenas 2,0 meses no pior dos casos (paciente 8) a 18,6 meses na situação mais favorável (paciente 9).

Tabela 2 – Variação temporal na detecção da recidiva do MM de acordo com as técnicas de imunofixação sérica (IFS) e eletroforese sérica (EFS)

Pacientes (n=9)	Deteção da recidiva pela IFS (data)	Deteção da recidiva pela EFS (data)	Antecipação na deteção da recidiva pela IFS (meses)
1	10/03/2013	22/10/2013	7,4
2	08/01/2014	09/07/2014	6,0
3	13/03/2014	02/07/2014	3,6
4	12/07/2012	02/01/2013	5,7
5	03/09/2012	10/01/2013	4,2
6	23/12/2013	30/06/2014	6,2
7	13/12/2012	14/06/2013	6,0
8	01/06/2014	31/07/2014	2,0
9	10/04/2012	27/10/2013	18,6

Essa maior sensibilidade da IFS, em relação à EFS, na detecção de imunoglobulinas monoclonais, observada no presente trabalho, confirma os resultados de diversos estudos realizados, principalmente, nas décadas de 80 e 90 (MARSHALL, 1980; REICHERT *et al.*, 1982; POTDEVIN *et al.*, 1983; KAHN e BINA, 1988; KEREN, 1990; VRETHEM *et al.*, 1993). Estudando um grupo de 101 pacientes portadores de gamopatias monoclonais, Potdevin *et al.* (1983) constataram que as mesmas foram corretamente identificadas pela IF em 97 dos pacientes, contra apenas 50 dos casos, quando a EF foi empregada. Para Vrethem *et al.* (1993) a baixa sensibilidade da EF se deve à incapacidade dessa técnica em detectar imunoglobulinas monoclonais em baixas concentrações ($< 1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) quando estas se encontram ocultas ou próximas a outras bandas proteicas. Trabalhando especificamente com a imunoglobulina monoclonal IgM, Keren (1990) identificou a sua presença pela IF em uma concentração tão alta quanto $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, sem que a referida IgM tenha sido detectada pela EF. Para o autor, a negatificação ocorrida através da EF se deve ao fato de que as moléculas de IgM possuem grande volume e, por isso, se difundem lentamente no gel de agarose utilizado na EF. Um aspecto a destacar nestes trabalhos é que os mesmos não foram conduzidos com o objetivo específico de comparar as duas técnicas quanto a sua capacidade em detectar precocemente as recidivas em pacientes com MM, conforme foi feito no presente estudo.

Ao compararem as técnicas de IF e EF em um caso de MM em que o paciente realizou quimioterapia, Reichert *et al.* (1982) constataram que o mesmo foi considerado, erroneamente, livre da gamopatia pela técnica de EF, uma vez que, ao analisarem as mesmas amostras retrospectivamente, através da IF, conforme realizado para os nove pacientes do presente estudo (Figuras 2 a 4), os autores relatam ter encontrado resultados positivos para gamopatia monoclonal IgA λ . Também Marshall (1980) comparou as técnicas de EF e IF na identificação de imunoglobulinas monoclonais IgG, IGA e IgM em três amostras de soro com altas concentrações e em três amostras com baixas concentrações das referidas imunoglobulinas e constatou que a IF foi capaz de identificar as imunoglobulinas em todas as amostras, enquanto que a EF forneceu resultados ambíguos nas três amostras com baixa concentração e também em uma das amostras com alta concentração. Isso foi atribuído a maior capacidade da IF em determinar a reação dos anticorpos com a imunoglobulina monoclonal.

Esse conjunto de resultados da literatura, somados aos do presente estudo, comprovam que a EFS, quando utilizada isoladamente, não é uma técnica adequada para a detecção precoce de recidivas do MM, devendo ser executada sempre em conjunto com outras técnicas mais sensíveis como a IFS e a dosagem de CLL, entre outras. Dessa forma, pode-se monitorar os pacientes com maior segurança, tanto na doença ativa como na fase de remissão, detectando precocemente suas recidivas e iniciando rapidamente o tratamento.

Além da determinação das imunoglobulinas monoclonais, com suas respectivas CL associadas, e das CLL (Figuras 2, 3 e 4), também foram analisadas as proteínas séricas β 2 microglobulina e albumina, que são importantes no monitoramento das recidivas do MM. Segundo Casaretto (2005) a dosagem de β 2 microglobulina é um dos mais importantes fatores prognósticos, pois reflete a massa tumoral e a função renal de cada paciente acometido pela doença. Com base na dosagem da β 2 microglobulina e da albumina, Greipp *et al.* (2005) propuseram uma classificação internacional de estadiamento do MM, em que os pacientes são separados nos estádios I, II e III, cuja sobrevida média correspondente é de 62, 44 e 29 meses, respectivamente.

Através da análise destas duas proteínas séricas, foi possível comparar o estadiamento dos 9 pacientes estudados, no momento em que a recidiva do MM foi detectada pela IFS e pela EFS (Tabela 3). Observa-se que 2/9 dos pacientes (pacientes 2 e 7) estariam em estádios iniciais de recidivas quando a proteína monoclonal foi detectada pela técnica de IFS (estádio I) e já estariam no estágio II quando a detecção ocorreu através da EFS. Comportamento semelhante foi observado nos pacientes 4 e 6, em que as recidivas poderiam ter sido

detectadas mais precocemente (estádio II) pela IFS do que pela EFS (estádio III). Essa detecção das recidivas em estádios menos avançados do MM, através da IFS, ilustra a vantagem dessa técnica, em relação à EFS, no acompanhamento de pacientes portadores da doença, já que ela possibilita antecipar a indicação de esquemas terapêuticos e/ou transplantes autólogos de células tronco. Assim, essa antecipação no tratamento poderia resultar num prognóstico mais favorável, já que os pacientes estariam em melhor forma física e clínica (menor intensidade de dores ósseas, imunidade humoral normal e ausência de anemia), aumentando as chances de remissão da doença e conseqüentemente um aumento da sobrevida e da qualidade de vida dos pacientes.

Tabela 3 – Níveis de $\beta 2$ microglobulina sérica, albumina sérica e variações no estadiamento do MM em pacientes apresentando recidiva detectada pela IFS e EFS

Pacientes (n=9)	Detecção da recidiva pela imunofixação (IFS)			Detecção da recidiva pela eletroforese (EFS)		
	$\beta 2m$	Alb	Est.	$\beta 2m$	Alb	Est.
	(mg/L)	(g/dL)	ISS	(mg/L)	(g/dL)	ISS
1	2,4	3,6	I	2,3	4,5	I
2	3,2	3,7	I	4,2	3,7	II
3	1,5	4,8	I	1,5	4,0	I
4	4,1	3,2	II	6,9	3,3	III
5	1,9	3,7	I	2,1	3,6	I
6	4,3	3,6	II	8,3	3,6	III
7	2,0	4,1	I	3,3	3,2	II
8	2,0	4,0	I	1,7	4,0	I
9	2,2	3,6	I	2,2	4,1	I

$\beta 2m$: $\beta 2$ microglobulina sérica; Alb: Albumina sérica;

Valores de Referência: $\beta 2m$ (0,6-2,1 mg/L)/ Alb (3,4-5,0 g/dL)/

Est. ISS: Estadiamento de acordo com o International Staging System.

Estádio I: $\beta 2m < 3,5$ mg/L; Alb $\geq 3,5$ g/dL

Estádio II: Nem estágio I nem III. Existem 2 categorias para o estágio II:

$\beta 2m < 3,5$ mg/L, mas Alb $< 3,5$ g/dL ou

$\beta 2m$ de 3,5 a $< 5,5$ mg/L independente do nível de Alb

Estádio III: $\beta 2m \geq 5,5$ mg/L

Uma das limitações analíticas do presente estudo foi não ser possível comparar a IF com a EF na detecção de imunoglobulinas monoclonais (cadeias pesadas e/ou cadeias leves livres) em amostras de urina dos nove pacientes em estudo. Isso ocorreu em razão da dificuldade em coletar urina de 24 horas nos pacientes recidivados já que eles se encontravam debilitados e habitando em outras localidades. Para suprir essa deficiência seria importante a realização da dosagem sérica de cadeias leves e pesadas, a fim de obter a relação entre ambas. Através dessas análises seria possível aumentar a sensibilidade na detecção do estado de remissão desses pacientes, bem como das suas recidivas.

Alguns parâmetros laboratoriais que auxiliam no monitoramento dos nove pacientes em estudo foram avaliados (Tabela 4). A realização do hemograma, além de análises sorológicas, como a quantificação das imunoglobulinas íntegras (IgG, IgA e IgM), a desidrogenase láctica e a creatinina, são importantes ferramentas, pois caracterizam o estado clínico do paciente, assim como a sua função renal.

A anemia normocítica normocrômica (ANN) e a presença de hemáceas, com grande diversidade de tamanhos (Índice de Anisocitose Eritrocitária - RDW - em níveis elevados), são comuns em pacientes com MM. Quanto à morfologia do sangue periférico, ela pode evidenciar achados específicos como a formação de efeito rouleaux e plasmócitos circulantes (KYLE e RAJKUMAR 2009; HUNGRIA *et al.*, 2013). Todos estes parâmetros vão se agravando à medida que a doença evolui, principalmente nas recidivas, onde além dos fatores inerentes à doença, os medicamentos quimioterápicos também contribuem para agravar ainda mais o quadro hematológico dos pacientes, sendo necessária, na maioria das vezes, a transfusão de concentrados de hemáceas e o uso da eritropoetina para controle da anemia e da insuficiência renal (VON SUCRO *et al.*, 2009).

O agravamento da anemia dos pacientes estudados pode ser confirmada através dos resultados mostrados na tabela 4, onde se observa que, em 66,6 % deles (pacientes 1, 2, 4, 6, 7 e 8), isso já havia ocorrido mesmo quando a recidiva foi detectada precocemente pela IFS. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que tais pacientes apresentavam o MM há vários anos (média 6 anos) e, portanto, já estavam debilitados, tanto pela própria doença, quanto pelo uso frequente de terapias e/ou quimioterapias em recidivas anteriores. Dos nove pacientes que recidivaram no período do estudo, apenas dois deles (3 e 5) mantiveram o quadro hematológico normal (Tabela 4), independentemente do fato da IFS ter detectado a recidiva do MM antes do que a EFS (em média, 3,9 meses). É provável que isso tenha ocorrido em função de ser a primeira recidiva e, por isso, os pacientes ainda não apresentavam sinais de anemia. Já o paciente 9 evoluiu para um quadro anêmico grave devido a recidiva ter

sido detectada apenas tardiamente pela EFS (18,6 meses após a IFS). Isso reforça a importância do uso de técnicas mais sensíveis do que a EFS para o acompanhamento de rotina na evolução dos pacientes do MM, permitindo que a recidiva não seja detectada apenas quando eles já se encontrem em estado hematológico grave, o que dificulta o seu tratamento quimioterápico e/ou transplante medular pós-recidiva.

Embora a quantificação das imunoglobulinas monoclonais completas (IgG, IgA e IgM) auxiliem no monitoramento dos pacientes com MM, ela deve ser utilizada em conjunto com métodos de alta sensibilidade (HUNGRIA *et al.* 2013). Como se observa na tabela 4, os pacientes 1, 2, 3, 4 e 7 apresentaram valores normais médios de IgA de 345,8 mg/dL (128,9 a 775,0 mg/dL) quando a recidiva foi detectada precocemente pela IFS e valores médios aumentados em 3,6 vezes (787,3 a 2.240,0 mg/dL) quando a recidiva foi detectada tardiamente pela EFS. Nos dois pacientes recidivados, com componente monoclonal IgG (5 e 9), embora os valores dessa imunoglobulina estejam em níveis normais, nota-se que houve um aumento médio de 989,6 mg/dL na IFS para 1497,5 (51,3 %) na EFS, mostrando novamente a vantagem do uso da IFS, em relação à EFS, na detecção precoce desse componente monoclonal na recidiva do MM.

A creatinina sérica reflete a função renal e, por isso, os pacientes 2 e 6 já apresentavam um valor aumentado (2,0 e 1,4 mg/dL, respectivamente) mesmo quando a recidiva foi detectada pela IFS. Isso ocorreu pelo fato dos referidos pacientes apresentarem MM do tipo CLL, o que provoca lesões nos túbulos renais. Como a recidiva foi detectada mais tardiamente pela EFS, o valor da creatinina aumentou de 2,0 para 2,6 mg/dL no paciente 2 e de 1,4 para 2,1 no paciente 6, indicando um agravamento da função renal.

Tabela 4 – Parâmetros laboratoriais dos pacientes no início da detecção da recidiva pela imunofixação sérica (IFS) e eletroforese sérica (EFS)

Pacientes (n=9)	IFS Parâmetros laboratoriais na detecção da recidiva						EFS Parâmetros laboratoriais na detecção da recidiva					
	Hg	IgG (mg/dL)	IgA (mg/dL)	IgM (mg/dL)	DHL (UI/I)	CRE (mg/dL)	Hg	IgG (mg/dL)	IgA (mg/dL)	IgM (mg/dL)	DHL (UI/I)	CRE (mg/dL)
1	ANN	612,5	128,9	140,5	218	0,6	ANN	691,4	1538,9	58,5	218	0,9
2	ANN	785,8	158,2	17	122	2,0	ANN	637,3	787,3	15,8	151	2,6
3	N	1242	508,6	62	-	1,0	N	1183,3	804,2	49,8	-	1,1
4	ANN	1591	775,0	70,4	89	1,0	ANN	1982,4	867,7	54,0	102	1,6
5	N	1030,6	156,8	55,6	231	0,8	N	1440,2	103,9	63,3	176	0,9
6	ANN	1549	119,5	35,8	230	1,4	ANN	1964,0	160,0	27,2	254	2,1
7	ANN	717,7	158,5	18,1	167	0,7	ANN	582,7	2240,0	11,1	98	0,7
8	ANN	1530	153,3	41,8	160	0,7	ANN	1605,4	190,5	44,8	155	0,9
9	N	948,6	33,8	16,6	254	0,6	ANN	1554,9	76,8	29,7	200	0,7

Hg: Hemograma; N: Normal; ANN: Anemia Normocítica Normocrômica; IgG, IgA, IgM: Imunoglobulina cadeia pesada G, A e M respectivamente, DHL: Desidrogenase láctica; CRE: Creatinina.

Valores de Referência: **IgG**(mg/dL): 681 a 1648; **IgA**(mg/dL): 87 a 474; **IgM**(mg/dL): 48 a 312; **DHL** (81-234UI/I); **CRE** (Masc.0,8-1,3 Fem. 0,6-1,0 mg/dL).

Além de detectar mais precocemente as recidivas do MM, em relação à EF, a IF também permite avaliar, de modo geral, a evolução da clonalidade tanto das imunoglobulinas íntegras como das CLL. Na tabela 5 se observa que, com exceção dos pacientes 5, 7 e 9, nos demais houve mudança no tipo de componente monoclonal durante a evolução da doença. É provável que essa heterogeneidade clonal, também constatada por Magrangeas *et al.* (2013), Ahn *et al.* (2014) e Brioli *et al.* (2014), se deva ao uso prolongado de drogas quimioterápicas e de manutenção após as recidivas ocorridas. Essa mudança de clonalidade do MM implica na resistência celular intrínseca às terapias posteriores exigindo novas abordagens terapêuticas.

Tabela 5 – Classificação das imunoglobulinas monoclonais no diagnóstico inicial do MM e após detecção das recidivas pela IFS

Pacientes (n=9)	Tempo de progressão do MM (anos)	Nº de recidivas	Tipo de CM no diagnóstico inicial	Tipo de CM na última recidiva
1	12	3	IgA/κ (monoclonal)	IgA/κ (biclonal)
2	10	2	CLL κ e λ (monoclonal)	IgA/κ (monoclonal) e CLL κ (monoclonal)
3	5	1	IgA/κ (monoclonal)	IgA/κ (monoclonal) e CLL κ (monoclonal)
4	4	1	IgA/λ (monoclonal)	IgA/λ (monoclonal) e CLL λ (monoclonal)
5	2	2	IgG/κ (monoclonal)	IgG/κ (monoclonal)
6	2	1	IgG/λ (monoclonal)	CLL λ (monoclonal)
7	8	2	IgA/κ (monoclonal)	IgA/κ (monoclonal)
8	4	1	IgG/κ (monoclonal)	CLL κ e λ (monoclonal)
9	3	1	IgG/κ (monoclonal)	IgG/κ (monoclonal)

Abreviações:

CM: componente monoclonal; CLL: cadeias leves livres;

IgA/κ: imunoglobulina IgA associada a cadeia leve κ;

IgA/λ: imunoglobulina IgA associada a cadeia leve λ;

IgG/κ: imunoglobulina IgG associada a cadeia leve κ;

IgG/λ: imunoglobulina IgG associada a cadeia leve λ.

Apesar dos resultados obtidos com os nove pacientes indicarem a superioridade da IFS, em relação à EFS, quanto à detecção precoce das recidivas de MM, é importante destacar que essa técnica exige alguns cuidados na sua execução e também na interpretação dos resultados, conforme sugerem Ghrairi *et al.* (2009). Em determinadas situações clínicas o diagnóstico seguro de imunoglobulina monoclonal necessita da combinação cuidadosa de diversas técnicas como eletroforese e imunofixação, além da dosagem ponderal das imunoglobulinas, para estimar a hipogamaglobulinemia residual (LAPALUS e CHEVAILLER, 2000).

CONCLUSÕES

A comparação realizada no presente estudo entre as técnicas de imunofixação (IF) e eletroforese (EF) séricas, através da análise retrospectiva de pacientes com mieloma múltiplo (MM) recidivados, mostrou que a IF foi mais eficaz do que a EF em detectar precocemente as recidivas, independentemente da classe de imunoglobulinas monoclonais presente. Na média dos nove pacientes recidivados, a IF detectou o padrão monoclonal 6,6 meses antes do que a EF, variando de apenas 2,0 meses no pior dos casos a 18,6 meses na situação mais favorável. Esses resultados são extremamente relevantes, pois impactam diretamente na conduta terapêutica do MM, visando uma maior e melhor sobrevida do paciente.

REFERÊNCIAS

AHN, J.; JUNG, S.; YANG, D.; BAE, S.; KIM, Y.; KIM, H.; LEE, J. **Patterns of Relapse or Progression After Bortezomib-Based Salvage Therapy in Patients With Relapsed/Refractory Multiple Myeloma.** *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*, 14(5), 389-394, 2014.

ALTIERI, A.; CHEN, B.; BERMEJO, J.L.; CASTRO, F.; HEMMINKIA, K. **Familial risks and temporal incidence trends of multiple myeloma.** *European Journal of Cancer* 42, 1661-1670, 2006.

BARBER, F.D. **Multiple Myeloma: Early Recognition by Primary Care Nurse Practitioners.** *The Journal for Nurse Practitioners*, 2(10), 665-672, 2006.

BENDER, L.M.; COTTEN, S.W.; FEDORIW, Y.; WILLIS, M.S.; MCCUDDEN, C.R. **Evaluation of digital images for identification and characterization of monoclonal immunoglobulins by immunofixation.** *Clinical Biochemistry*, 46, 255–258, 2013.

BIANCHI, G.; GHOBRIAL, I.M. **Does My Patient with a Serum Monoclonal Spike have Multiple Myeloma?** *Hematol Oncol Clin N Am*, 26, 383–393, 2012.

BOUATAY, A.; HIZEM, S.; YOUSSEF, B.Y.; SAYARI, F.; BRAHAM, N.; KHÉLIF, A.; KORTAS, M. **Myélome multiple: aspect clinique, diagnostic biologique et pronostic.** *Immunoanalyse & Biologie Spécialisée*, 28 (1), 30-35, 2013.

BRIOLI, A.; MELCHOR, L.; CAVO, M.; MORGAN, G.J. **The impact of intra-clonal heterogeneity on the treatment of multiple myeloma.** *British Journal of Haematology*, 165, 441–454, 2014.

CASARETTO, L. **Mieloma Múltiplo - Como o vemos nos dias atuais.** *Rev. Bras. Oncologia Clínica*, 1(4), 13-18, 2005.

FARIA, R.M.D.; SILVA, R.O.P. **Gamopatias monoclonais – critérios diagnósticos e diagnósticos diferenciais.** *Rev. bras. hematol. Hemoter.*, 29(1), 17-22, 2007.

FASSAS, A.; TRICOT, G. **Results of high-dose treatment with autologous stem cell support in patients with multiple myeloma.** *Semin Hematol.*, 38, 231-42, 2001.

GHRAIRI, N.; BOUAKKEZ, H.; DAHMOUNI, A.; NAHDI, I.; MECHMECHE, L.; BOUGHNIM, L.; YALAOUI, S. **Difficultés au cours de l'immunofixation sérique.** *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 24 (2), 100-103, 2009.

GREIPP, P.R.; SAN MIGUEL, J.; DURIE, B.G.M.; CROWLEY, J.J.; BARLOGIE, B.; BLADÉ, J.; BOCCADORO, M.; CHILD, J.A.; AVET-LOISEAU, H.; KYLE, R.A.; LAHUERTA, J.J.; LUDWIG, H.; MORGAN, G.; POWLES, R.; SHIMIZU, K.; SHUSTIK, C.; SONNEVELD, P.; TOSI, P.; TURESSON, I.; WESTIN, J. **International Staging System for Multiple Myeloma.** *Journal of Clinical Oncology*, 23(15), 2005.

HUNGRIA V, MAIOLINO A, MARTINEZ G, *et al.* **Multiple Myeloma in Brazil: clinical and demographic feature and the utility of ISS in patients, mostly with advanced disease.** *Haematologica*, 91(suppl 1), 96, 2006.

HUNGRIA, V.T.; MAIOLINO, A.; MARTINEZ, G.; COLLEONI G.W.; COELHO, E.O.; ROCHA, L.; NUNES, R.; BITTENCOURT, R.; OLIVEIRA, L.C.; FARIA, R.M.; PASQUINI, R.; MAGALHÃES, S.M.; SOUZA, C.A.; PINTO NETO, J.V.; BARRETO, L.; ANDRADE, E.; PORTELLA, S.; BOLEJACK, V.; DURIE, B.G. **International Myeloma Working Group Latin America. Confirmation of the utility of the International Staging System and identification of a unique pattern of disease in Brazilian patients with multiple myeloma.** *Haematologica*, 93(5), 791-792, 2008.

HUNGRIA, V.T.M.; CRUSOE, E.Q.; QUERO, A.A.; SAMPAIO, M.; MAIOLINO, A.; BERNARDO, W.M. **Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma treatment: Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia e Terapia Celular**

Project guidelines: Associação Médica Brasileira – 2012. Rev Bras Hematol Hemoter.; 35 (3), 201-217, 2013.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 124p, 2014.

KAHN, S.N.; BINA, M. **Sensitivity of immunofixation electrophoresis for detecting IgM paraproteins in serum.** Clin Chem, 34, 1633-1659, 1988.

KEREN, D.F. **Multiple Myeloma Laboratory Testing for Plasma Cell Proliferative Processes.** Clinical Laboratory News, 36(8), 8-10, 2010.

KEREN, D.F. **The Use of High-Resolution Electrophoresis, Kappa and Lambda Quantification, and immunofixation to Diagnose Monoclonal Gammopathies in Serum.** Clinical Immunology, 7(1), 106-110, 1990.

KYLE, R.A.; RAJKUMAR, S.V. **Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma.** Leukemia, 23, 3–9, 2009.

KYLE, R.A.; THERNEAU, T.M.; RAJKUMAR, S.V.; OFFORD, J.R.; LARSON, D.R.; PLEVAK, M.F.; MELTON, L.J. **A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance.** N Engl J Med., 346(8), 564-569, 2002.

LAHUERTA, J.J.; MARTINEZ-LOPEZ, J.N.; SERNA, J.; BLADÉ, J.; GRANDE, C.; ALEGRE, A.N.; VAZQUEZ, L.; GARCÍA-LARAÑA, J.; SUREDA, A.; RUBIA, J.; CONDE, E.; MARTINEZ, R.; PEREZ-EQUIZA, K.; MORALEDA, J.M.; LEÓN, A.; BESALDUCH, J.; CABRERA, R.; MIGUEL, J.D.G.; MORALES, A.; GARCÍA-RUÍZ, J.C.; DIAZ-MEDIAVILLA, J.N.; SAN-MIGUEL, J. **Remission status defined by immunofixation vs. electrophoresis after autologous transplantation has a major impact on the outcome of multiple myeloma patients.** British Journal of Haematology, 109, 438 - 446, 2000.

LAPALUS, E.; CHEVAILLER, A. **Diagnostic biologique d'une immunoglobuline monoclonale.** Revue Française des Laboratoires, 327, 67-74, 2000.

LUDWIG, H.; SONNEVELD, P. **Disease control in patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma: what is the optimal duration of therapy?** Leukemia Research, 36(1), 27–34, 2012.

MAGRANGEAS, F.; AVET-LOISEAU, H.; GOURAUD, W.; LODÉ, L.; DECAUX, O.; GODMER, P.; GARDERET, L.; VOILLAT, L.; FACON, T.; STOPPA, A.M.; MARIT, G.; HULIN, C.; CASASSUS, P.; TIAB, M.; VOOG, E.; RANDRIAMALALA, E.; ANDERSON, K.C.; MOREAU, P.; MUNSHI, N.C.; MINVIELLE, S. **Minor clone provides a reservoir for relapse in multiple myeloma.** Leukemia, 27(2), 473-81, 2013.

MANGAN, P. **Recognizing multiple myeloma.** Nurse Practitioners., 30, 14-27, 2005.

MARSHALL, M.O. **Comparison of immunofixation and immunoelectrophoresis methods in the identification of monoclonal immunoglobulins in serum.** Clinica Chimica Acta, 104, 1-9, 1980.

MORGAN, G.J.; DAVIES, F.E.; LINET, M. **Myeloma aetiology and epidemiology.** Biomed Pharmacother, 56, 223–234, 2002.

PARKIN, D.M.; BRAY, F.; FERLAY, J.; PISANI, P. **Global cancer statistics, 2002.** CA Cancer J Clin, 55, 74-108, 2005.

PASZEKOVA, H.; KRYUKOV, F.; KUBICZKOVA, L.; HAJEK, R.; SEVCIKOVA, S. **High-Risk Multiple Myeloma: Different Definitions, Different Outcomes?** Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, 14 (1), 24-30, 2014.

PAULA E SILVA, R.O.; BRANDÃO, K.M.A.; PINTO, P.V.M.; FARIA, R.M.D.; CLEMENTINO, N.C.D.; SILVA, C.M.F.; LOPES, A.F. **Mieloma múltiplo: características clínicas e laboratoriais ao diagnóstico e estudo prognóstico.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter., 31(2), 63-68, 2009.

POTDEVIN, F.; RONCATO, M.; DRUPT, F.; PARIS, M.; LECLERC, M. **Contribution of immunofixation on agarose gel in the characterization of serum monoclonal immunoglobulins.** Ann. Immunol. (Inst. Pasteur), 134(13), 105-123, 1983.

RAJKUMAR, S.V. **Multiple myeloma.** Curr Probl Cancer., 33(1), 7-64, 2009.

RAJKUMAR, S.V. **Treatment of multiple myeloma.** Nat Rev Clin Oncol, 8, 479-91, 2011.

REICHERT, C.M.; EVERETT, D.F.; NADLER, P.I.; PAPADOPOULOS, N.M. **High-resolution zone electrophoresis, combined with immunofixation in the detection of an occult myeloma paraprotein.** Clin Chem, 28, 2312-2313, 1982.

SAN MIGUEL, J.F.; GUTIÉRREZ, N.C.; MATEO, G.; ORFAO, A. **Conventional diagnostics in multiple myeloma.** European Journal of Cancer, 42, 1510-1519, 2006.

SAN MIGUEL, J.F.; PAIVA, B.; GUTIÉRREZ, N.C. **New Tools for Diagnosis and Monitoring of Multiple Myeloma.** Am Soc Clin Oncol Educ Book, e313-e318, 2013.

SARASQUETE, M.E.; GARCÍA-SANZ, R.; GONZÁLEZ, D.; MARTÍNEZ, J.; MATEO, G.; MARTÍNEZ, P.; RIBERA, J.M.; HERNÁNDEZ, J.M.; LAHUERTA, J.J.; ORFÃO, A.; GONZÁLEZ, M.; SAN MIGUEL, J.F. **Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma: a comparison between allelic-specific oligonucleotide real-time quantitative polymerase chain reaction and flow cytometry.** Haematologica/the hematology journal, 90 (10), 1365–1372, 2005.

STEVENSON, J.D.; WALL, C.; PATEL, A.; LIM, J. **Multiple myeloma: a review.** Orthopaedics and Trauma, 28 (3), 187–193, 2014.

THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP. **Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group.** British Journal of Haematology, 121, 749–757, 2003.

VON SUCRO, L.; MORAES, J.C.; SILVA, L.; GEHLEN, G.W.; ELDIN, J.F.S.; AMARAL, G.A.; SANTANA, M.A.P. **Mieloma múltiplo: diagnóstico e tratamento.** Rev Med Minas Gerais, 19(1), 58-62, 2009.

VRETHEM, M.; LARSSON, B.; VON SCHENCK, H.; ERNERUDH, J. **Immunofixation superior to plasma agarose electrophoresis in detecting small M-components in patients with polyneuropathy.** Journal of the Neurological Sciences, 120, 93-98, 1993.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA DISSERTAÇÃO

ABDALLA, I.A.; TABARRA, I.A. **Nonsecretory multiple myeloma**. South Med J., 95(7), 761-764, 2002.

ADAMI, J.; NYREN, O.; BERGSTROM, R.; EKBOM, A.; ENGHOLM, G.; ENGLUND, A.; GLIMELIUS, B. **Smoking and the risk of leukemia, lymphoma, and multiple myeloma (Sweden)**. Cancer Causes Control, 9, 49–56, 1998.

AHN, J.; JUNG, S.; YANG, D.; BAE, S.; KIM, Y.; KIM, H.; LEE, J. **Patterns of Relapse or Progression After Bortezomib-Based Salvage Therapy in Patients With Relapsed/Refractory Multiple Myeloma**. Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, 14(5), 389-394, 2014.

ALTIERI, A.; CHEN, B.; BERMEJO, J.L.; CASTRO, F.; HEMMINKIA, K. **Familial risks and temporal incidence trends of multiple myeloma**. European Journal of Cancer 42, 1661-1670, 2006.

ANDERSON, K.C. **Oncogenomics to Target Myeloma in the Bone Marrow Microenvironment**. Clin Cancer Res, 17, 1225-1233, 2011.

ANGTUACO, E.J.; FASSAS, A.B.; WALKER, R.; SETHI, R.; BARLOGIE, B. **Multiple myeloma: clinical review and diagnostic imaging**. Radiology, 231(1), 11-23, 2004.

BARBER, F.D. **Multiple Myeloma: Early Recognition by Primary Care Nurse Practitioners**. The Journal for Nurse Practitioners, 2(10), 665-672, 2006.

BENDER, L.M.; COTTEN, S.W.; FEDORIW, Y.; WILLIS, M.S.; MCCUDDEN, C.R. **Evaluation of digital images for identification and characterization of monoclonal immunoglobulins by immunofixation**. Clinical Biochemistry, 46, 255–258, 2013.

BERGSAGEL, P.L.; KUEHL, W.M.; ZHAN, F.; SAWYER, J.; BARLOGIE, B.; SHAUGHNESSY, J. **Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma**. Blood, 106, 296–303, 2005.

BIANCHI, G.; GHOBRIAL, I.M. **Does My Patient with a Serum Monoclonal Spike have Multiple Myeloma?** Hematol Oncol Clin N Am, 26, 383–393, 2012.

BOTTINI, P.V. **Testes laboratoriais para avaliação do componente monoclonal.** Rev. bras. hematol. hemoter., 29(1), 23-26, 2007.

BOTTINI PV, SAN MARTIN SMG, RIBEIRO ALVES MAVF, GARLIPP CR. **Tubular proteinuria: value of urinary kappa and lambda concentrations.** Clin Chem., 45(S6), A45, 1999.

BOYLE, P.; FERLAY, J. **Cancer incidence and mortality in Europe, 2004.** Ann Oncol, 16, 481–488, 2005.

BRIOLI, A.; MELCHOR, L.; CAVO, M.; MORGAN, G.J. **The impact of intra-clonal heterogeneity on the treatment of multiple myeloma.** British Journal of Haematology, 165, 441–454, 2014.

BROWN, L.M.; GIBSON, R.; BURMEISTER, L.F.; SCHUMAN, L.M.; EVERETT, G.D.; BLAIR, A. **Alcohol consumption and risk of leukemia, non-Hodgkin's lymphoma, and multiple myeloma.** Leuk Res, 16, 979–984, 1992.

BROWN, L.M.; LINET, M.S.; GREENBERG, R.S.; SILVERMAN, D.T.; HAYES, R.B.; SWANSON, G.M.; SCHWARTZ, A.G.; SCHOENBERG, J.B.; POTTERN, L.M.; FRAUMENI, J.F. JR. **Multiple myeloma and family history of cancer among blacks and whites in the US.** Cancer, 85(11), 2385-2390, 1999.

CHATENOUD, L.; TAVANI, A., LA VECCHIA, C.; JACOBS, D.R.; NEGRI, E.; LEVI, F.; FRANCESCHI, S. **Whole grain food intake and cancer risk.** Int J Cancer, 77, 24–8, 1998.

CHAUFFAILLE, M.L.L.F.; RIBEIRO, A.; YAMAMOTO, M.; RODRIGUES, M.M.; ALMEIDA, M.S.S.; RIBAS, C.; CALHEIROS, L.A.; COLLEONI, G.W.B. **Elevada incidência de anormalidades cromossômicas numéricas detectadas por FISH multacentromérico em pacientes com mieloma múltiplo.** J Bras Patol Med Lab, 43(1), 17-23, 2007.

CORREA, A.; JACKSON, L.; MOHAN, A.; PERRY, H.; HELZLSOUER, K. **Use of hair dyes, hematopoietic neoplasms, and lymphomas: a literature review. II. Lymphomas and multiple myeloma.** Cancer Invest, 18, 467–479, 2000.

DECAUX, O.; BESNARD, S.; BEAUMONT, M.P.; COLLET, N.; SEBILLOT, M.; GROSOBOIS, B.; GUENET, L. **Serial sample analysis of 15 multiple myeloma patients using heavy/light chain specific immunoglobulin ratios (Hevylite™).** Contribution to

the evaluation of response to treatment. *Haematologica*; 96, Suppl 1, s43 (abstract 039), 2011.

DIMOPOULOS, M.; KYLE, R.; FERMAND, J.P.; RAJKUMAR, S.V.; SAN MIGUEL, J.; CHANAN-KHAN, A.; LUDWIG, H.; JOSHUA, D.; MEHTA, J.; GERTZ, M.; AVET-LOISEAU, H.; BEKSAÇ, M.; ANDERSON, K.C.; MOREAU, P.; SINGHAL, S.; GOLDSCHMIDT, H.; BOCCADORO, M.; KUMAR, S.; GIRALT, S.; MUNSHI, N.C.; JAGANNATH, S. **Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3.** *Blood*, 117(18), 4701-4705, 2011.

DISPENZIERI, A.; KYLE, R.; MERLINI, G.; MIGUEL, J.S.; LUDWIG, H.; HAJEK, R.; PALUMBO, A.; JAGANNATH, S.; BLADE, J.; LONIAL, S.; DIMOPOULOS, M.; COMENZO, R.; EINSELE, H.; BARLOGIE, B.; ANDERSON, K.; GERTZ, M.; HAROUSSEAU, J.L.; ATTAL, M.; TOSI, P.; SONNEVELD, P.; BOCCADORO, M.; MORGAN, G.; RICHARDSON, P.; SEZER, O.; MATEOS, M.V.; CAVO, M.; JOSHUA, D.; TURESSON, I.; CHEN, W.; SHIMIZU, K.; POWLES, R.; RAJKUMAR, S.V.; DURIE, B.G.M (International Myeloma Working Group). **International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders.** *Leukemia*, 23, 215 – 224, 2009.

DURIE, B.G.M. **Concise Review of the Disease and Treatment Options: Multiple Myeloma Cancer of the Bone Marrow.** International Myeloma Foundation, 2012.

EDWARDS, C.M.; ZHUANG, J.; MUNDY, G.R. **The pathogenesis of the bone disease of multiple myeloma.** *Bone*, 42(6), 1007-1013, 2008.

FARIA, R.M.D.; SILVA, R.O.P. **Gamopatias monoclonais – critérios diagnósticos e diagnósticos diferenciais.** *Rev. bras. hematol. Hemoter.*, 29(1), 17-22, 2007.

FONSECA, R.; BAILEY, R.J.; AHMANN, G.J.; RAJKUMAR, S.V.; HOYER, J.D.; LUST, J.A.; KYLE, R.A.; GERTZ, M.A.; GREIPP, P.R.; DEWALD, G.W. **Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance.** *Blood*, 100, 1417–1424, 2002.

FRÉBET, E.; ABRAHAM, J.; GENEVIÈVE, F.; LEPELLEY, P.; DALIPHARD, S.; BARDET, V.; AMSELLEM, S.; GUY, J.; MULLIER, F.; DURRIEU, F.; VENON, M.D.; LELEU, X.; JACCARD, A.; FAUCHER, J.L.; BÉNÉ, M.C.; FEUILLARD, J. (GEIL - Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies Study Group). **A GEIL Flow Cytometry Consensus Proposal for Quantification of Plasma Cells: Application to Differential Diagnosis Between MGUS and Myeloma.** *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)*, 80B, 176–185, 2011.

FUNARI, M.F.A.; GUERRA, J.C.C.; FERREIRA, E.; PASTERNAK, J.; BOROVNIK, C.L.; KANAYAMA, R.H.; NOZAWA, S.T.; MENDES, C.E.A; BRITO, A.C.M.; FAULHABER, M.H.W.; BACAL, N.S. **Mieloma Múltiplo: 50 casos diagnosticados por citometria de fluxo.** Rev. bras. hematol. hemoter., 27(1), 31-36, 2005.

GHRAIRI, N.; BOUAKKEZ, H.; DAHMOUNI, A.; NAHDI, I.; MECHMECHE, L.; BOUGHNIM, L.; YALAOUI, S. **Difficultés au cours de l'immunofixation sérique.** Immuno-analyse et biologie spécialisée, 24 (2), 100-103, 2009.

GORGUN, G. **Predicting Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma: Allelic-Specific Oligonucleotide Real-Time Quantitative PCR or Multi Parametric Flow Cytometry.** J. Genet. Syndr. Gene. Ther., 3(1), 1-2, 2012.

GREIPP, P.R.; SAN MIGUEL, J.; DURIE, B.G.M.; CROWLEY, J.J.; BARLOGIE, B.; BLADÉ, J.; BOCCADORO, M.; CHILD, J.A.; AVET-LOISEAU, H.; KYLE, R.A.; LAHUERTA, J.J.; LUDWIG, H.; MORGAN, G.; POWLES, R.; SHIMIZU, K.; SHUSTIK, C.; SONNEVELD, P.; TOSI, P.; TURESSON, I.; WESTIN, J. **International Staging System for Multiple Myeloma.** Journal of Clinical Oncology, 23(15), 2005.

HEMMINKI, K.; LI, X.; CZENE, K. **Familial risk of cancer: data for clinical counseling and cancer genetics.** Int J Cancer, 108(1), 109-114, 2004.

HIDESHIMA, T.; BERGSAGEL, P.L.; KUEHL, W.M.; ANDERSON, K.C. **Advances in biology of multiple myeloma: clinical applications.** Blood, 104(3), 607-618, 2004.

HIGGINS, M.J.; FONSECA, R. **Genetics of multiple myeloma.** Best Pract Res Clin Haematol., 18(4), 525-536, 2005.

HUNGRIA, V.T.; MAIOLINO, A.; MARTINEZ, G.; COLLEONI G.W.; COELHO, E.O.; ROCHA, L.; NUNES, R.; BITTENCOURT, R.; OLIVEIRA, L.C.; FARIA, R.M.; PASQUINI, R.; MAGALHÃES, S.M.; SOUZA, C.A.; PINTO NETO, J.V.; BARRETO, L.; ANDRADE, E.; PORTELLA, S.; BOLEJACK, V.; DURIE, B.G. **International Myeloma Working Group Latin America. Confirmation of the utility of the International Staging System and identification of a unique pattern of disease in Brazilian patients with multiple myeloma.** Haematologica, 93(5), 791-792, 2008.

HUNGRIA, V.T.M. **Tratamento do Mieloma Múltiplo recidivado.** Rev. bras. hematol. hemoter., 29(1), 48-53, 2007.

HUNGRIA V, MAIOLINO A, MARTINEZ G, *et al.* **Multiple Myeloma in Brazil: clinical and demographic feature and the utility of ISS in patients, mostly with advanced disease.** Haematologica, 91(suppl 1), 96, 2006.

HUNGRIA, V.T.M.; CRUSOE, E.Q.; QUERO, A.A.; SAMPAIO, M.; MAIOLINO, A.; BERNARDO, W.M. **Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma treatment: Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia e Terapia Celular Project guidelines: Associação Médica Brasileira – 2012.** Rev Bras Hematol Hemoter.; 35 (3), 201-217, 2013.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 124p, 2014.

JOHNSTON, J.M.; GRUFFERMAN, S.; BOURGUET, C.C.; DELZELLE, E.; DELONG, E.R.; COHEN, H.J. **Socioeconomic status and risk of multiple myeloma.** J Epidemiol Community Health, 39, 175–178, 1985.

KASTRITIS, E.; ZERVAS, K.; SYMEONIDIS, A.; TERPOS, E.; DELIMBASSI, S.; ANAGNOSTOPOULOS, N.; MICHALI, E.; ZOMAS, A.; KATODRITOU, E.; GIKA, D.; POULI, A.; CHRISTOULAS, D.; ROUSSOU, M.; KARTASIS, Z.; ECONOMOPOULOS, T.; DIMOPOULOS, M.A. **Improved survival of patients with multiple myeloma after the introduction of novel agents and the applicability of the International Staging System (ISS): an analysis of the Greek Myeloma Study Group (GMSG).** Leukemia 23, 1152–1157, 2009.

KATZMANN, J.A. **Screening Panels for Monoclonal Gammopathies: Time to Change.** Clin Biochem Rev, 30, 105-111, 2009.

KHORIATY, R.; HUSSEIN, M.A.; FAIMAN, B.; KELLY, M.; KALAYCIO, M.; BAZ, R. **Prediction of Response and Progression in Multiple Myeloma With Serum Free Light Chains Assay: Corroboration of the Serum Free Light Chain Response Definitions.** Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, 10(1), 10-13, 2010.

KLAUS, D.G.; CARVALHO, D.C.; BALDESSAR, M.Z. **Caso clássico de mieloma múltiplo: uma revisão.** Arquivos Catarinenses de Medicina, 38(4), 2009.

KRAJ, M. **Immunoglobulin Heavy Chain/Light Chain Pairs (Hlc, Hevylitetm) Assays for Diagnosing and Monitoring Monoclonal Gammopathies.** Adv Clin Exp Med, 23(1), 127–133, 2014.

KRAJ, M.; KRUK, B.; POGLÓD, R.; WARZOCHA, K. **Evaluation of IgG, IgA and IgM monoclonal and biclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual**

immunoglobulin κ/λ ratios – Hevylite assay versus immunofixation. Acta Haematol Pol, 42, 257–271, 2011.

KRAJ, M.; KRUK, B.; SZCZEPIŃSKI, A.; WARZOCHA, K. **Comparison of immunoglobulin free light chain (FLC), heavy chain/light chain (HLC) assays and immunofixation (IFE) in assessment of remission in multiple myeloma.** Acta Haematologica Polonica, 43, 122-131, 2012.

KUMAR, S.; DISPENZIERI, A.; LARSON, D.; COLB, C.; KYLE, R.; GERTZ, M.; RAJKUMAR, S.V. **Normalization of the serum free light chain ratio is associated with superior overall survival among myeloma patients achieving immunofixation negative state: results support incorporation of serum free light chain ratio in stringent CR definition.** Blood (ASH Annual Meeting Abstracts); 112: 1692, 2008.

KUMAR, S.K.; THERNEAU, T.M.; GERTZ, M.A.; LACY, M.Q.; DISPENZIERI, A.; RAJKUMAR, S.V.; FONSECA, R.; WITZIG, T.E.; LUST, J.A.; LARSON, D.R.; KYLE, R.A.; GREIPP, P.R. **Clinical Course of Patients With Relapsed Multiple Myeloma.** Mayo Clin Proc., 79(7), 867-874, 2004.

KYLE, R.A.; RAJKUMAR, S.V. **Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma.** Leukemia, 23, 3–9, 2009.

KYLE, R.A.; THERNEAU, T.M.; RAJKUMAR, S.V.; OFFORD, J.R.; LARSON, D.R.; PLEVAK, M.F.; MELTON, L.J. **A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance.** N Engl J Med., 346(8), 564-569, 2002.

LAHUERTA, J.J.; MARTINEZ-LOPEZ, J.N.; SERNA, J.; BLADÉ, J.; GRANDE, C.; ALEGRE, A.N.; VAZQUEZ, L.; GARCÍA-LARAÑA, J.; SUREDA, A.; RUBIA, J.; CONDE, E.; MARTINEZ, R.; PEREZ-EQUIZA, K.; MORALEDA, J.M.; LEÓN, A.; BESALDUCH, J.; CABRERA, R.; MIGUEL, J.D.G.; MORALES, A.; GARCÍA-RUÍZ, J.C.; DIAZ-MEDIAVILLA, J.N.; SAN-MIGUEL, J. **Remission status defined by immunofixation vs. electrophoresis after autologous transplantation has a major impact on the outcome of multiple myeloma patients.** British Journal of Haematology, 109, 438 - 446, 2000.

LAPALUS, E.; CHEVAILLER, A. **Diagnostic biologique d'une immunoglobuline monoclonale.** Revue Française des Laboratoires, 327, 67-74, 2000.

LEITE, L.A.C.; ALMEIDA, M.S.; KIMURA, E.S.; BIGONHA, J.G.; COLLEONI, G.W.B.; CHAUFFAILLE, M.L.L.F.; YAMAMOTO, M. **Caracterização imunofenotípica das células plasmáticas em pacientes portadores de mieloma múltiplo.** J. Bras. Patol. Med. Lab., 46(4), 301-307, 2010.

LEUNG, N.; BEHRENS, J. **Current Approach to Diagnosis and Management of Acute Renal Failure in Myeloma Patients.** *Advances in Chronic Kidney Disease*, 19(5), 297-302, 2012.

LEUNG-HAGESTEIJN, C.; ERDMANN, N.; CHEUNG, G.; KEATS, J.J.; STEWART, A.K.; REECE, D.E.; CHUNG, K.C.; TIEDEMANN, R.E. **Xbp1s-Negative Tumor B Cells and Pre-Plasmablasts Mediate Therapeutic Proteasome Inhibitor Resistance in Multiple Myeloma.** *Cancer Cell*, 24, 289–304, 2013.

LUDWIG, H.; SONNEVELD, P. **Disease control in patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma: what is the optimal duration of therapy?** *Leukemia Research*, 36(1), 27–34, 2012.

MAGRANGEAS, F.; AVET-LOISEAU, H.; GOURAUD, W.; LODÉ, L.; DECAUX, O.; GODMER, P.; GARDERET, L.; VOILLAT, L.; FACON, T.; STOPPA, A.M.; MARIT, G.; HULIN, C.; CASASSUS, P.; TIAB, M.; VOOG, E.; RANDRIAMALALA, E.; ANDERSON, K.C.; MOREAU, P.; MUNSHI, N.C.; MINVIELLE, S. **Minor clone provides a reservoir for relapse in multiple myeloma.** *Leukemia*, 27(2), 473-81, 2013.

MAIOLINO, A.; MAGALHÃES, R.J.P. **Mieloma Múltiplo e insuficiência renal.** *Rev Bras Hemato Hemoter*, 29(1),86-91, 2007.

MANGAN, P. **Recognizing multiple myeloma.** *Nurse Practitioners.*, 30, 14-27, 2005.

MANIER, S.; LELEU, X. **Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG).** *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 26(3), 125-136, 2011.

MARTINEZ, G.A. **Fatores prognósticos no Mieloma Múltiplo.** *Rev. bras. hematol. hemoter.*, 29(1), 27-30, 2007.

MORGAN, G.J.; DAVIES, F.E.; LINET, M. **Myeloma aetiology and epidemiology.** *Biomed Pharmacother*, 56, 223–234, 2002.

MORGAN, G.J.; WALKER, B.A.; DAVIES, F.E. **The genetic architecture of multiple myeloma.** *Nature Reviews Cancer*, 12, 335–348, 2012.

MUNSHI, N.C.; ANDERSON, K.C. **Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma** Journal of Clinical Oncology, 31(20), 2523-2526, 2013.

NAU, K.C.; LEWIS, W.D. **Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment.** American Family Physician, 78(7), 853-859, 2008.

OLIVEIRA, A.L.; NUCCI, M. **Infecção em Mieloma Múltiplo.** Rev. bras. hematol. hemoter., 29(1), 77-85, 2007.

OLIVERO, B.; ROBILLARD, N.; WUILLEME, S.; AVET-LOISEAU, H.; ATTAL, M.; ROUSSEL, M.; DEJOIE, T. **Heavy/light chain assay, potential new tool in minimal residual disease assessment. A biological study from IFM 2008 trial.** Haematologica, 96, Suppl 1, s52 (abstract 079), 2011.

PARKIN, D.M.; BRAY, F.; FERLAY, J.; PISANI, P. **Global cancer statistics, 2002.** CA Cancer J Clin, 55, 74-108, 2005.

PASZEKOVA, H.; KRYUKOV, F.; KUBICZKOVA, L.; HAJEK, R.; SEVCIKOVA, S. **High-Risk Multiple Myeloma: Different Definitions, Different Outcomes?** Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, 14 (1), 24-30, 2014.

PAULA e SILVA, R.O.; LOPES, A.F.; FARIA, R.M.D. **Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica.** Revista Médica de Minas Gerais, 18(2), 116-122, 2008.

POTTERN, L.M.; GART, J.J.; NAM, J.M.; DUNSTON, G.; WILSON, J.; GREENBERG, R.; SCHOENBERG, J.; SWANSON, G.M.; LIFF, J.; SCHWARTZ, A.G.; FRAUMENI, J.F. JR.; HOOVER, R.N. **HLA and multiple myeloma among black and white men: evidence of a genetic association.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.,1(3), 177-182, 1992.

RAJKUMAR, S.V. **MGUS and smoldering multiple myeloma: Update on pathogenesis, natural history, and management.** Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program, 340-345, 2005.

RAJKUMAR, S.V. **Multiple myeloma.** Curr Probl Cancer., 33(1), 7-64, 2009.

RAJKUMAR, S.V. **Treatment of multiple myeloma.** Nat Rev Clin Oncol, 8, 479-91, 2011.

RAJKUMAR, S.V.; KYLE, R.A. **Multiple myeloma: diagnosis and treatment.** Mayo Clinic Proc., 80(10), 1371-1382, 2005.

REECE, D.E. **Management of multiple myeloma: The changing landscape.** Blood Reviews, 21, 301-314, 2007.

RÖLLIG, C.; ILLME, T. **The efficacy of arsenic trioxide for the treatment of relapsed and refractory multiple myeloma: A systematic review.** Cancer Treatment Reviews, 35, 425-430, 2009.

SAN MIGUEL, J.F.; GARCÍA-SANZ, R. **Prognostic features of multiple myeloma.** Best Practice & Research Clinical Haematology, 18(4), 569-583, 2005.

SAN MIGUEL, J.F.; GUTIÉRREZ, N.C.; MATEO, G.; ORFAO, A. **Conventional diagnostics in multiple myeloma.** European Journal of Cancer, 42, 1510-1519, 2006.

SAN MIGUEL, J.F.; PAIVA, B.; GUTIÉRREZ, N.C. **New Tools for Diagnosis and Monitoring of Multiple Myeloma.** Am Soc Clin Oncol Educ Book, e313-e318, 2013.

SARASQUETE, M.E.; GARCÍA-SANZ, R.; GONZÁLEZ, D.; MARTÍNEZ, J.; MATEO, G.; MARTÍNEZ, P.; RIBERA, J.M.; HERNÁNDEZ, J.M.; LAHUERTA, J.J.; ORFÃO, A.; GONZÁLEZ, M.; SAN MIGUEL, J.F. **Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma: a comparison between allelic-specific oligonucleotide real-time quantitative polymerase chain reaction and flow cytometry.** Haematologica/the hematology journal, 90 (10), 1365–1372, 2005.

SAWYER, J.R. **The prognostic significance of cytogenetics and molecular profiling in multiple myeloma.** Cancer Genetics, 204, 3-12, 2011.

SILVA, R.O.P.; LOPES, A.F.; FARIA, R.M.D. **Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica.** Revista Médica de Minas Gerais, 18(2), 116-122, 2008.

SMITH, A.; WISLOFF, F.; SAMSON, D.; on behalf of the UK Myeloma Forum, Nordic Myeloma Study Group and British Committee for Standards in Haematology. **Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma 2005.** British Journal of Haematology, 132, 410–451, 2005.

STEVENSON, J.D.; WALL, C.; PATEL, A.; LIM, J. **Multiple myeloma: a review.** Orthopaedics and Trauma, 28 (3), 187–193, 2014.

THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP. **Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group.** British Journal of Haematology, 121, 749–757, 2003.

TUCHMAN, S.A.; LONIAL, S. **High-Risk Multiple Myeloma: Does it Still Exist?** Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, 11(1), 70-76, 2011.

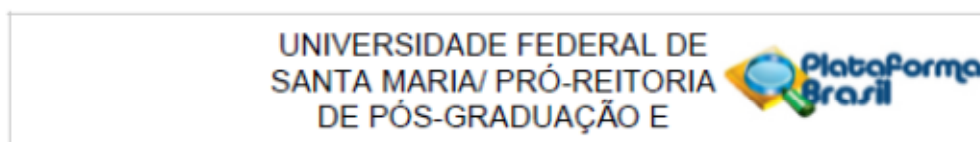
VAN DE DONK, N.W.C.J.; LOKHORST, H.M.; DIMOPOULOS, M.; CAVO, M.; MORGAN, G.; EINSELE, H.; KROPFF, M.; SCHEY, S.; AVET-LOISEAU, H.; LUDWIG, H.; GOLDSCHMIDT, H.; SONNEVELD, P.; JOHNSEN, H.E.; BLADÉ, J.; SAN-MIGUEL, J.F.; PALUMBO, A. **Treatment of relapsed and refractory multiple myeloma in the era of novel agents.** Cancer Treatment Reviews, 37, 266–283, 2011.

VON SUCRO, L.; MORAES, J.C.; SILVA, L.; GEHLEN, G.W.; ELDIN, J.F.S.; AMARAL, G.A.; SANTANA, M.A.P. **Mieloma múltiplo: diagnóstico e tratamento.** Rev Med Minas Gerais, 19(1), 58-62, 2009.

VRETHEM, M.; LARSSON, B.; VON SCHENCK, H.; ERNERUDH, J. **Immunofixation superior to plasma agarose electrophoresis in detecting small M-components in patients with polyneuropathy.** Journal of the Neurological Sciences, 120, 93-98, 1993.

ANEXOS

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IDENTIFICAÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS MONOCLONAIS NO MONITORAMENTO DE PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO

Pesquisador: José Edson Paz da Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 21135313.8.0000.5346

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Maria/ Pró-Reitoria de Pós-Graduação e

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 504.091

Data da Relatoria: 19/12/2013

Apresentação do Projeto:

O mieloma múltiplo (MM) é um tumor hematológico maligno e progressivo, caracterizado pela proliferação desregulada de um clone de células plasmáticas no interior da medula óssea, que segregam um excesso de imunoglobulinas monoclonais íntegras e/ou fragmentos destas, chamadas proteína-M, proteína do mieloma ou paraproteínas. É invariavelmente precedido por uma fase pré-maligna, gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI). As manifestações clínicas surgem em decorrência da infiltração nos órgãos, principalmente nos ossos, de plasmócitos neoplásicos com grande produção de imunoglobulinas monoclonais e da supressão da imunidade humoral normal. Como consequência, observa-se anemia grave, lesão óssea, hipercalcemia, insuficiência renal e infecção recorrente. Para o tratamento do MM, a quimioterapia é o tratamento de primeira linha, seguida, se possível, pelo transplante autólogo de células-tronco. Apesar dos progressos no tratamento do MM, com aumento da sobrevida livre de progressão observada principalmente em pacientes abaixo de 65 anos, a maioria dos pacientes recidivará. O padrão das recidivas

Endereço: Av. Roraima, 1000 - Prédio da Reitoria 2º andar
 Bairro: Cidade Universitária - Camobi CEP: 97.105-900
 UF: RS Município: SANTA MARIA

Telefone: (55)3220-9362

E-mail: cep.ufsm@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA MARIA/ PRÓ-REITORIA
DE PÓS-GRADUAÇÃO E



Continuação do Parecer: 504.091

é muito heterogêneo, podendo evoluir com comportamento indolente ou agressivo. Enquanto alguns pacientes apresentam recidivas precoces com pior prognóstico e provavelmente responderão mal ao tratamento, outros apresentam recidivas após um longo período (plateau) e uma melhor resposta terapêutica. O presente trabalho tem por objetivo monitorar pacientes com diagnóstico de MM no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) através da técnica de imunofixação, com o intuito de facilitar o clínico (hematologista) no acompanhamento do MM, principalmente nas recidivas. Essa técnica diferencia as diferentes classes de imunoglobulinas (IgG, IgA, IgM) e as cadeias leves livres kappa (K) e lambda (L) monoclonais no soro e na urina, podendo ajudar, desta forma, no diagnóstico precoce e no tratamento do MM, iniciando logo a terapia de suporte e mantendo a qualidade de vida do paciente pelo maior tempo possível. Assim, será realizado um estudo retrospectivo de pacientes acompanhados desde 2012 e prospectivo dos paciente que vierem a ser acompanhados até dezembro 2013. Para uma correlação dos resultados da IMUNOFIXAÇÃO com outros parâmetros laboratoriais serão utilizados resultados de hemograma, dosagens séricas de cálcio, creatinina, proteínas totais, desidrogenase láctica, albumina, imunoglobulinas, eletroforese e β_2 microglobulina. Em amostras urinárias serão analisadas as concentrações de proteína, creatinina, microalbumina. Já em amostras de urina 24 horas será realizada a eletroforese.

Objetivo da Pesquisa:

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a importância da identificação dos anticorpos monoclonais no soro e na urina de pacientes com suspeita de MM e correlacionar com outros parâmetros clínicos e laboratoriais que poderão ser relevantes para estabelecer novos horizontes ao diagnóstico e prognóstico da doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

adequados para o tipo de projeto

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O presente trabalho tem por objetivo verificar a importância da identificação dos anticorpos

Endereço: Av. Roraima, 1000 - Prédio da Reitoria 2º andar
 Bairro: Cidade Universitária - Camobi CEP: 97.105-900
 UF: RS Município: SANTA MARIA
 Telefone: (55)3220-9362 E-mail: cep.ufsm@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA MARIA/ PRÓ-REITORIA
DE PÓS-GRADUAÇÃO E



Continuação do Parecer: 504.091

monoclonais (IgG, IgA, IgM) e das cadeias leves livres (K e L) na evolução do Mieloma Múltiplo (MM), distinguindo as diferentes classes de imunoglobulinas e as cadeias leves livres monoclonais no soro e na urina. Para isso, serão coletadas as amostras de sangue venoso e de urina de 50 pacientes internados e/ou ambulatoriais que estejam fazendo acompanhamento no setor de hemato-oncologia do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), que já possuem diagnóstico comprovado de MM.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

foi apresentado uma autorização do CTMO/HUSM e não da DEPE do hospital.

Recomendações:

recomendamos que o pesquisador responsável apresente seu projeto a DEPE do husm para conseguir autorização da unidade do HUSM responsável pelo controle de projetos que acontecem dentro do HUSM.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto apresentou uma autorização do local onde será realizado a coleta dos dados, mas este comite recomenda fortemente a solicitação da autorização da DEPE do HUSM.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SANTA MARIA, 21 de Dezembro de 2013

Assinador por:

Félix Alexandre Antunes Soares
(Coordenador)

Endereço: Av. Roraima, 1000 - Prédio da Reitoria 2º andar
 Bairro: Cidade Universitária - Camobi CEP: 97.105-900
 UF: RS Município: SANTA MARIA
 Telefone: (55)3220-9362 E-mail: cep.ufsm@gmail.com

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO

Termo de consentimento livre e esclarecido

Título do projeto:

“IMUNOFIXAÇÃO NO MONITORAMENTO DE PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO EM TRATAMENTO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA”

Pesquisador responsável: Prof. Dr. José Edson Paz da Silva.

Instituição: Universidade Federal de Santa Maria – Centro de Ciências da Saúde.

Pesquisadores participantes: Marta Helena Carlesso Aita, Prof. Dr. José Edson Paz da Silva, Dr. Luiz Claudio Arantes, Leidiane de Lucca e Cibele Ferreira Teixeira.

Telefone para contato: Marta (55) 99902177 ou (55) 32225592 ou lab manhã (55) 32208729 e Edson (55) 32208346 e Luiz Claudio (55) 99734084.

Local da coleta dos dados: _____

Nome do paciente: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Responsável legal: _____

Objetivo do estudo/Riscos/Procedimentos/ Benefícios/Sigilo:

Você está sendo convidado(a) a participar como voluntário de uma pesquisa, tendo o direito de desistir a qualquer momento sem punição.

Objetivo: A pesquisa buscará informações sobre os aspectos clínicos e laboratoriais de pacientes portadores de Mieloma Múltiplo (MM) e o monitoramento na evolução da doença.

Procedimento e riscos: os exames laboratoriais realizados por você no HUSM serão avaliados pelos pesquisadores responsáveis por meio dos registros no Serviço de Hematologia e Oncologia. Para o estudo, será analisado o material biológico excedente (sangue) e da amostra urinária coletado de você por ocasião da investigação para o diagnóstico e acompanhamento da doença. As amostras coletadas por profissionais capacitados fazem parte da rotina para o diagnóstico, monitoramento e tratamento do Mieloma Múltiplo no Serviço de Hematologia e Oncologia do HUSM, havendo o risco inerente ao procedimento de coleta do material, como desconforto pela picada da agulha, podendo o local ficar dolorido ou arroxado, porém com retorno ao normal em poucos dias, sem prejuízo para a saúde. O tempo de duração previsto para a sua participação na pesquisa será durante esta análise.

Benefícios: os resultados do estudo não trarão benefícios diretos, porém sua contribuição é importante e consiste apenas para ajudar novos estudos sobre a evolução e tratamento da doença. O projeto não lhe trará custos financeiros, não haverá recompensa pela sua participação e não ocorrerá penalidade caso você não aceite participar da pesquisa.

Confidencialidade: sua identidade e dados pessoais não serão revelados, nem divulgados sem a sua autorização. Apenas os pesquisadores terão acesso às informações pessoais e aos resultados dos exames, os quais serão utilizados em conjunto com os dados de outros pacientes para a avaliação do estudo e em publicações científicas.

Eu _____ (paciente ou responsável), após ler/ouvir as informações sobre a pesquisa e esclarecer minhas dúvidas, concordo voluntariamente em participar desse estudo. Discuti com o pesquisador _____ sobre a minha decisão em participar dessa pesquisa, ficando claro para mim os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades, prejuízos ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido no meu tratamento neste serviço.

Santa Maria, ____ de _____ de 20 ____

Paciente ou responsável legal: _____ **RG:** _____

(Em casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual).

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o **Consentimento Livre e Esclarecido** deste sujeito da pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

Pesquisador responsável: _____

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato: Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM - Cidade Universitária - Bairro Camobi, Av. Roraima, nº1000 - CEP: 97.105.900 Santa Maria - RS. Telefone: (55) 3220-9362 - Fax: (55)3220-8009 Email: comiteeticapesquisa@smail.ufsm.br. Web: www.ufsm.br/cep