



Centro Hospitalar Tâmega e Sousa, EPE
Serviço de Patologia Clínica

**Universidade do Porto
Faculdade de Farmácia**



Patrícia Isabel Martins Gonçalves dos Santos

**Avaliação da incidência de Gamopatias Monoclonais nos
doentes da área do Centro Hospitalar Tâmega e Sousa,
EPE.**

Dissertação de Mestrado em Análises Clínicas

**Trabalho realizado sob a orientação da
Dra. Anabela Silva e da Dra. Marília Nunes**

Junho 2009

É autorizada a reprodução integral desta dissertação apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

Agradecimentos

À Dra Marília Nunes, patologista do serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Tâmega e Sousa, EPE, pela sua disponibilidade, apoio, conselhos e orientação.

À Dra Anabela Martins, professora da unidade curricular de Imunologia Clínica do Mestrado em Análises Clínicas, pela sua disponibilidade e colaboração.

À Dra Isaura Terra, Directora do Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Tâmega e Sousa, EPE, por ter permitido a realização deste estudo recorrendo à recolha dos dados do serviço.

Ao Dr. Ricardo Carneiro, patologista do serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Tâmega e Sousa, EPE, pela ajuda na recolha de dados.

Ao meu marido e grande amigo, Alberto Sousa, por todo o apoio e incentivo para que o trabalho anda-se para a frente e por toda a paciência em me ouvir e em me encorajar. E por toda a ajuda na configuração do trabalho e no tratamento estatístico dos dados.

Ao meu grande amigo, João Santos, pela sua experiência que se revelou de grande importância para a realização deste trabalho. Pela sua amizade e paciência para me ouvir e para rever o trabalho, dando sempre um contributo muito positivo para o melhoramento do mesmo.

À Ana Almeida por ter sido uma grande ajuda na recolha de material bibliográfico e pela sua disponibilidade em ajudar.

Resumo

Introdução: As Gamapatias Monoclonais constituem um grupo de doenças caracterizadas pela proliferação de um só clone de Linfócitos B, que produz imunoglobulinas monoclonais ou um fragmento da Imunoglobulina. Estas patologias podem constituir situações benignas ou malignas. Os indivíduos com picos monoclonais de imunoglobulinas ou dos seus fragmentos, mesmo que benignos, têm um risco mais elevado de desenvolverem Mieloma Múltiplo.

Objectivo: O presente estudo epidemiológico teve como objectivo avaliar a incidência das Gamapatias Monoclonais na população da área do Centro Hospitalar Tâmega e Sousa (CHTS), EPE.

Material e Métodos: O estudo envolveu os doentes, entre Janeiro de 2004 até Dezembro de 2008, com resultado de electroforese das proteínas no soro, realizado no Serviço de Patologia Clínica do CHTS, EPE.

Resultados: Foram incluídos no estudo 2806 indivíduos, 1544 do sexo masculino e 1262 do sexo feminino, com uma média de idades de 49 anos. Do total de indivíduos, 81 (2,9%) apresentavam picos monoclonais, 46 (56,8%) do sexo masculino e 35 (43,2%) do sexo feminino, com uma idade média de 70 anos. Nos 81 indivíduos, verificou-se que a incidência das cadeias pesadas era de 70,4% (n=57) para IgG, seguidas por 22,2% (n=18) para IgA e por último 7,4% (n=6) para IgM. No que diz respeito às cadeias leves, a incidência das cadeias k foi de 56,8% (n=46), e das cadeias γ foi de 43,2% (n=35).

Conclusões: A incidência das gamapatias monoclonais na população foi de 2,9% (n=81). As gamapatias monoclonais revelaram uma maior prevalência nos homens (56,8%, n=46) que nas mulheres (43,2%, n=35), apresentando um o ratio masculino/feminino de cerca de 3:2. A idade média dos indivíduos com gamapatias monoclonais foi de 70 anos, sendo a incidência superior na população entre os 71 e os 80 anos. O tipo de cadeia pesada com maior incidência foi a IgG (70,4%, n=57), seguida da IgA (22,2%, n=18) e por último a IgM (7,4%, n=6). O tipo de cadeia leve com maior incidência foi a k (56,8%, n=46), a cadeia γ tem uma incidência de apenas 43,2%.

Palavras-chave: Gamapatias monoclonais, Mieloma Múltiplo, Pico monoclonal, Incidência.

Summary

Introduction: The Monoclonal gammopathies are a group of disorders characterize by the proliferation only of one clone of Linfocites B, which produces a monoclonal immunoglobulin or a fragment of a immunoglobulin. These disorders could constitute a benign or a malign pathology. The patients with monoclonal spikes of immunoglobulin, even benign, presents a higher risk of develop a Multiple Mieloma.

Objective: The aim of the epidemiologic study was to evaluate the incidence of Monoclonal Gammopathies in the population of the area of Centro Hospitalar Tâmega e Sousa, EPE.

Material e Methods: The study involves the patients, between January of 2004 and December of 2008, who have results of protein electrophoresis in the serum in the Service of Clinical Pathology of CHTS, EPE.

Results: It included 2806 patients, 1544 male and 1262 female, with an average of 49 years old. Of the all population, 81 (2,9%) have monoclonal spikes, 46 (56,8%) male and 35 (43,2%) female, with an average of 70 years old. In the population of 81 patients, it was observed the incidence of heavy chain were 70,4% (n=57) for IgG, followed by 22,2% (n=18) for IgA and last 7,4% (n=6) for IgM. In concern of the light chain, the incidence of the k chains were of 56,8% (n=46) and of γ chains were 43,2% (n=35).

Conclusion: The incidence of monoclonal gammopathies in the population were 2,9% (n=81). The monoclonal gammopathy reveals to be more prevalent in man (56,8%, n=46) than in woman (43,2%, n=35), with a ratio male/female 3:2. The average age of the population with monoclonal gammopathies was 70 years old, and the incidence of the pathology is greater in the population with ages between 71 and 80 years old. The type of heavy chain with greater incidence were IgG (70,4%, n=57), followed by IgA (22,2%, n=18) and in last by IgM (7,4%, n=6). The type of light chain with greater incidence was k chain (56,8%, n=46), the γ chain have a incidence of only 43,2% (n=35).

Keywords: Monoclonal gammopathies, Multiple Mieloma, Monoclonal spike, Incidence.

INDICE	
AGRADECIMENTOS	IV
RESUMO	V
SUMMARY	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE TABELAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	XI
INTRODUÇÃO	12
1. MATURAÇÃO DOS LINFÓCITOS – LINHA LINFÓIDE	13
2. PRODUÇÃO E CONSTITUIÇÃO DAS IMUNOGLOBULINAS	14
3. ESTADIAMENTO DE GAMAPATIAS MONOCLONAIS	15
3.1. GAMAPATIA MONOCLONAL DE SIGNIFICADO INDETERMINADO	16
3.2. MIELOMA MÚLTIPLO ASSINTOMÁTICO (MMA)	17
3.3. MIELOMA MÚLTIPLO (MM)	17
4. FISIOPATOLOGIA	19
5. EPIDEMIOLOGIA	20
6. PROGNÓSTICO	22
7. DIAGNÓSTICO	22
7.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO	22
7.2. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	23
7.2.1. ELECTROFORESE DAS PROTEÍNAS	24
7.2.2. IMUNOFIXAÇÃO OU ELECTROIMUNOFIXAÇÃO CAPILAR POR SUBTRACÇÃO	25
	VII

7.2.3. DOSEAMENTO DAS IMUNOGLOBULINAS	26
8. TRATAMENTO	28
MATERIAL E MÉTODOS	30
1. POPULAÇÃO EM ESTUDO	31
2. COLHEITA E SEPARAÇÃO DA AMOSTRA	31
3. ELECTROFORESE SÉRICA DAS PROTEÍNAS	31
4. ELECTROIMUNOFIXAÇÃO CAPILAR POR SUBTRACÇÃO	31
5. CONTROLO DE QUALIDADE	32
6. ANÁLISE DE DADOS	32
RESULTADOS	33
1. CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DA POPULAÇÃO EM ESTUDO	34
2. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS NA ELECTROFORESE SÉRICA E NA ELECTROIMUNOFIXAÇÃO	35
3. AVALIAÇÃO DE ANÁLISES LABORATORIAIS COMPLEMENTARES	38
DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	40
CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

Índice de figuras

Figura 1 – Esquema da estrutura de uma Imunoglobulina	14
Figura 2 – Radiografia de um crânio revelando uma lesão lítica típica no Mieloma Múltiplo	22
Figura 3 – Perfil normal de electroforese sérica em gel de agarose	24
Figura 4 – Imunofixação sérica de doentes portadores de Mieloma Múltiplo	26
Figura 5 - Caracterização da população estudada segundo o grupo etário	34
Figura 6 - Resultados da IFE	35
Figura 7 – Caracterização da população com picos monoclonais segundo o género	36
Figura 8 - Caracterização da população com picos monoclonais segundo o grupo etário	37
Figura 9 – Resultados da IFE para a população com picos monoclonais	38

Índice de tabelas

Tabela 1 – Sistemas de estadiamento do Mieloma Múltiplo	19
Tabela 2 – Condições clínicas associadas ao Mieloma Múltiplo e respectivas causas	20
Tabela 3 – Incidência das Gamapatias Monoclonais Nos E.U.A	21
Tabela 4 – Características da GMSI, MMA e do MM	28
Tabela 5 – Opções de tratamento do Mieloma Múltiplo	29
Tabela 6 – Caracterização da população estudada segundo o grupo etário	34
Tabela 7 – Resultados da IFE	35
Tabela 8 – Caracterização da população com picos monoclonais segundo o grupo etário	36
Tabela 9 – Resultados da IFE para a população com picos monoclonais	37
Tabela 10 – Resultados dos exames laboratoriais complementares dos indivíduos com picos monoclonais	39

Lista de abreviaturas e símbolos

Ig – Imunoglobulinas

L – Cadeias leves

H – Cadeias pesadas

Cl – Domínio constante das cadeias leves

Ch – Domínio constante das cadeias pesadas

VI – Domínio variável das cadeias leves

Vh – Domínio variável das cadeias pesadas

CDR - Regiões determinadoras de complementariedade

Fab – Fragmento de ligação ao antigénio

Fc – Fragmento da função efectora

GMSI - Gamapatia Monoclonal de significado indeterminado

MMA - Mieloma Múltiplo Assintomático

MM - Mieloma Múltiplo

Hb – Hemoglobina

Ca – Cálcio

VS – Velocidade de Sedimentação

β2m – β2 microglobulina

IFE – Electroimunofixação

CHTS – Centro Hospitalar Tâmega e Sousa

Introdução
Material e Métodos
Resultados
Discussão dos Resultados
Conclusões

As proteínas são macromoléculas biológicas que constituem o centro de acção nos processos biológicos, quer sob a forma de enzimas que catalisam reacções químicas, de hormonas que regulam as reacções químicas, de transportadores e armazenadores de substâncias biológicas importantes (ferro, oxigénio, glucose, lípidos), de imunoglobulinas (Ig) que fazem parte do sistema imunológico e desempenham funções essenciais na defesa do organismo.⁵¹

O sangue contém um grande número de proteínas com diferentes constituições moleculares, comumente designadas por proteínas plasmáticas. Entre as proteínas plasmáticas figuram as Ig que, como referido anteriormente são importantes na resposta imunológica por funcionarem como anticorpos. Normalmente, em situações de infecção são produzidas várias classes de Ig para debelar os diferentes tipos de infecção.

Na gamapatia monoclonal as Ig ou os seus fragmentos são produzidas por um único clone de células (linfócito B - plasmócitos). Em circunstâncias normais, a maturação dos plasmócitos produtores de anticorpos é estimulada através da exposição ao antigénio para o qual Ig de superfície é dirigida. Contudo, nas patologias que envolvem os plasmócitos, o controlo sobre este processo é perdido podendo ser desencadeada uma gamapatia monoclonal.

As gamopatias monoclonais constituem um grupo de doenças caracterizadas pela proliferação de um único clone de linfócitos B (plasmócitos), o qual produz Ig monoclonal ou um fragmento de Ig. Estas patologias podem reflectir um processo patológico ou serem benignas. Uma parte significativa das gamopatias monoclonais identificadas na electroforese sérica são gamopatias benignas, designadas gamopatias monoclonais de significado indeterminado.⁸ Contudo, existem algumas patologias dos plasmócitos que constituem formas progressivas de situações malignas.

1. Maturação dos linfócitos – Linha linfóide

Os linfócitos são produzidos nos órgãos linfóides primários (timo e medula óssea), migrando para os tecidos linfóides secundários via circulação.⁵²

Os linfócitos dividem-se em dois grandes grupos: linfócitos T e linfócitos B. Os linfócitos B desenvolvem-se na medula óssea a partir do conjunto de células estaminais pluripotentes em reacção a sinais das células do estroma (citoquinas solúveis, contacto célula-célula).⁵⁸ A sua maturação ocorre tanto na medula óssea como nos tecidos linfóides secundários, nos nódulos linfáticos e no baço. Após o desenvolvimento na medula óssea, as células B indiferenciadas migram para os tecidos linfóides periféricos,

onde iniciam a sua diferenciação. Cada uma das células B responde a um número limitado de antígenos, uma vez que os linfócitos B transportam Ig na sua membrana celular, as quais funcionam como receptores de antígenos. Depois de encontrarem o antígeno apropriado, algumas células B iniciam uma transformação blastogénica e depois de divisões sucessivas diferenciam-se em células produtoras de Ig (plasmócitos).⁶⁰ Ao se ligarem ao antígeno complementar os linfócitos activados proliferam e maturam em células efectoras. Esta selecção clonal pelo reconhecimento do antígeno resulta na expansão de um determinado clone.⁵²

2. Produção e constituição das imunoglobulinas

Os plasmócitos produzem e segregam grandes quantidades de Ig, mas nem todas são expressas na sua membrana. Os plasmócitos encontram-se normalmente na medula óssea e nos tecidos linfóides das mucosas.

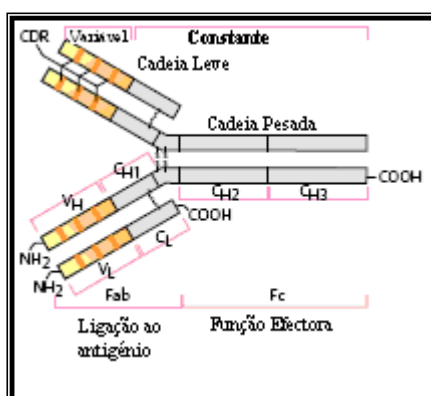


Figura 1 – Esquema da estrutura de uma Imunoglobulina. (Adaptado de Burmester G-R, Pezzutto A. Color Atlas of Immunology. Stuttgart New York: Thieme. 2003)

As Ig são estruturalmente compostas por subunidades designadas por cadeias pesadas e cadeias leves. Cada Ig é constituída por duas cadeias pesadas (H) idênticas e duas cadeias leves (L) idênticas. Existem dois tipos de cadeias leves, denominadas kappa (κ) e lambda (λ). E existem cinco tipos de cadeias pesadas (α , δ , ϵ , γ e μ) que permitem dividir as Ig em cinco classes distintas, sendo atribuída a cada classe uma letra específica (Ig **A**, Ig **D**, Ig **E**, Ig **G** e Ig **M** respectivamente). Em suma, as Ig são constituídas por duas cadeias polipeptídicas pesadas da mesma classe (IgG, IgA, IgD, IgE ou IgM) e duas cadeias polipeptídicas leves do mesmo tipo (*kappa* ou *lambda*).⁵⁷ As

cadeias leves consistem em dois domínios de tamanho aproximadamente igual: o domínio constante (Cl) que apresentam uma variação reduzida de uma Ig para outra, e o domínio variável (Vl) que apresenta uma sequência de aminoácidos com um grande grau de variabilidade.⁵⁸ As cadeias pesadas são constituídas por um domínio variável (Vh) e três domínios constantes (Ch), com excepção das IgE e das IgM que possuem quatro domínios constantes.⁵⁸ Os diferentes domínios de uma dada molécula de Ig contêm uma estrutura globular similar com ligações dissulfídicas.⁵⁸ Os domínios variáveis das cadeias pesadas e leves contêm regiões com sequências de aminoácidos extremamente variáveis (regiões hipervariáveis ou regiões determinadoras de complementariedade), que determinam a especificidade da ligação ao antígeno. A substituição de um único aminoácido nas regiões hipervariáveis (regiões CDR-complementary-determining region) é crucial para a ligação de um antígeno particular.⁵⁸ Os resíduos de cisteína formam pontes entre as cadeias individuais de uma molécula de Ig. A enzima, papeína, separa dois fragmentos idênticos, os que ligam aos antígenos (fragmento Fab), e os fragmentos que não ligam aos antígenos, conhecidos como fragmento Fc. Os fragmentos Fc possuem locais de ligação para o factor C1q do complemento.⁵⁷

A função efectora de uma determinada Ig é estabelecida pela região constante, que inclui a fixação ao complemento, a ligação aos vários tipos de células (por exemplo fagócitos e linfócitos) e a transferência transplacentar.⁵⁷

As Ig são proteínas e a sua sequência de aminoácidos pode ser imunogénica para diferentes indivíduos e para diferentes espécies, de modo que podem funcionar como antígenos. De facto, elas podem mesmo funcionar como antígenos do próprio indivíduo (auto-antígenos).⁵⁸ Assim, as Ig têm determinantes isotípicos, alotípicos e idiotípicos. Os determinantes isotípicos são responsáveis pelas diferenças entre as diferentes classes e subclasses de Ig e entre cadeias leves e pesadas. Os determinantes alotípicos consistem em variações na região constante das Ig do mesmo isotipo, possuindo duas variações alélicas nos genes encontrados entre diferentes indivíduos. Os determinantes idiotípicos são os determinantes individuais de cada molécula de Ig de acordo com a região hipervariável das Ig.⁵⁷

3. Estadiamento de gamopatias monoclonais

As manifestações clínicas das gamopatias monoclonais apresentam uma grande variabilidade, podendo ir de um indivíduo assintomático até a uma associação de vários sintomas e sinais a nível orgânico, ou seja pode apresentar-se como uma situação clínica

benigna ou maligna. Esta variabilidade torna imprescindível a caracterização das diversas formas clínicas, de modo a permitir: 1) um melhor diagnóstico diferencial; 2) o estadiamento da patologia; 3) a escolha e aplicação da terapêutica mais eficaz para cada caso; 4) a obtenção de informações sobre o prognóstico e 5) a monitorização da eficácia do tratamento adoptado.¹⁰

As gamopatias monoclonais podem ser divididas em três estadios, de acordo com o quadro clínico e o diagnóstico laboratorial: Gamapatia Monoclonal de Significado Indeterminado, Mieloma Múltiplo Assintomático e Mieloma Múltiplo.

3.1. Gamapatia Monoclonal de significado indeterminado

A gamapatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI) é uma patologia considerada benigna devido ao seu comportamento biológico geralmente indolente. Contudo, uma baixa mas significativa percentagem de pacientes com GMSI desenvolvem uma doença maligna das células B (Mieloma). A GMSI pode resultar de um defeito primário de um clone de células B, ou da propagação de um clone destas células em resposta a uma estimulação antigénica crónica. Esta forma de gamapatia monoclonal é a mais comum, estando presente em aproximadamente 3% da população com idade superior a 50 anos. A prevalência aumenta com o avançar da idade (1,7 % em indivíduos com idade entre 50 e 59 anos, e acima dos 5% em indivíduos com idade igual ou superior a 70 anos).¹⁰

A taxa de progressão da GMSI para Mieloma Múltiplo (MM) é de 1% a 1,5 % por ano, com probabilidade de progressão em 10 anos de follow-up de 12% a 17% e em 20 anos de 25% a 34%, o que leva a que seja necessário fazer um seguimento destes indivíduos indefinidamente.^{10, 31}

Alguns dos picos monoclonais das GSMI resolvem-se de forma espontânea.¹⁰ A GMSI é definida por dois conceitos chave: 1) presença de uma Ig monoclonal no soro; 2) ausência de uma evidência clínica de malignidade progressiva de células B ou plasmócitos.¹⁰

3.2. Mieloma Múltiplo Assintomático (MMA)

O MMA é uma desordem proliferativa dos plasmócitos com elevado risco de progressão para MM sintomático, ou activo.¹⁰ O MMA tem uma taxa de progressão para MM de 10% por ano, representando cerca de 15% dos casos de MM recentemente diagnosticados.^{10,33} Esta condição predomina nos indivíduos do sexo masculino e na raça negra, com idade média de 65 anos. Verifica-se que a maioria dos doentes evolui para o MM em 2 a 4 anos, ocorrendo uma aceleração da progressão nos doentes com infiltração plasmocitária da medula óssea (>10%).¹⁰

3.3. Mieloma Múltiplo (MM)

O MM define-se como uma desordem caracterizada pela proliferação de plasmócitos monoclonais, os quais produzem Ig monoclonal ou um fragmento de Ig monoclonal, com presença de destruição óssea, falência renal, anemia e hipercalcémia. Esta patologia é frequentemente precedida por GMSI ou por MMA, que progride para uma neoplasia maligna (mieloma).¹⁰

A pré-existência de uma patologia dos plasmócitos, uma GMSI ou um MMA estão presentes em, pelo menos, um terço dos doentes com MM.³³ Virtualmente todos os casos de MM são precedidos por GMSI ou MMA, em 90% dos doentes com MM foi detectada uma gamapatia monoclonal precedente.^{31, 33}

Os mecanismos precisos pelos quais uma GMSI ou um MMA progridem para MM não são claros. Anomalias genéticas secundárias e alterações no microambiente da medula óssea, tais como angiogénese, supressão da imunidade mediada por células e alterações em várias citocinas parecem desempenhar um papel preponderante no desencadear de MM.³⁹

Os factores associados com a elevada progressão de GMSI ou MMA para MM incluem a concentração a Ig monoclonal, a percentagem de plasmócitos na medula óssea e gamapatia monoclonal não-IgG.

O MM é a doença maligna dos plasmócitos da medula óssea mais incurável, sendo uma neoplasia hematológica maligna muito semelhante à leucemia. Os plasmócitos malignos acumulam-se na medula óssea e raramente entram na circulação sanguínea, como ocorre na leucemia. As principais características clínicas do mieloma resultam dessa acumulação de células na medula:

- Comprometimento da função da medula óssea normal, o que se reflecte em “anemia”;
- Invasão e destruição do osso adjacente à medula;
- Produção e libertação da proteína monoclonal pelas células do mieloma para a corrente sanguínea;
- Redução da função imunológica normal, reflectida por níveis reduzidos de Ig normais e aumento da susceptibilidade a infecções.⁴

Ocasionalmente, os plasmócitos migram para fora da medula óssea e infiltram-se em múltiplos órgãos e provocam sintomas relacionados com os órgãos atingidos. A produção excessiva das Ig monoclonal pode provocar falência renal devido à proteinúria de Bence Jones ou hiperviscosidade devida à quantidade excessiva da Ig no sangue.²¹

As células do mieloma podem também crescer sobre a forma de tumores localizados, os plasmocitomas. Os plasmocitomas podem ser únicos ou múltiplos e podem ficar confinados à medula óssea e osso (intramedular) ou desenvolver-se fora do osso em tecidos moles (extramedular). No MM existem vários plasmocitomas intra e extra medulares.⁴

Dentro do MM, a patologia está dividida em estadios. Para fazer o estadiamento do MM é recomendado o uso dos dois tipos de sistemas de estadiamento existentes, o Sistema de estadiamento de Durie–Salmon e o Sistema de estadiamento Internacional.¹²

O Sistema de Durie–Salmon é utilizado em todo o mundo, contudo numerosos grupos propuseram novos sistemas de estadiamento mais exactos e mais simples mas nenhum foi aceite universalmente. Em 2005 foi desenvolvido um novo sistema pelo Grupo de Trabalho Internacional do Mieloma da Fundação Internacional do Mieloma. Este novo sistema baseia-se no doseamento sérico da microglobulina (β_2m) e da albumina, o que resultou numa classificação mais simples, mais consistente e mais reprodutível. O quadro mostra os dois sistemas de estadiamento em paralelo, em que cada sistema apresenta três estadios, mas o Sistema de Durie – Salmon para além dos estadios apresenta duas subclassificações, A e B. Em que, A corresponde a uma função renal relativamente normal (creatinina sérica <2 mg/dL) e B corresponde a uma função renal alterada (creatinina sérica >2 mg/dL).^{4, 7,9}

Tabela 1 – Sistemas de estadiamento do Mieloma Múltiplo

Estadio	Sistema de estadiamento de Durie–Salmon	Sistema de estadiamento Internacional.
	Critérios	Critérios
I	Pequena massa de células: Hemoglobina < 10 g/dL; Cálcio N ou < 5,25 mEq/dL; Raio X ósseo Normal ou Plasmocitoma solitário; Níveis baixos de componente M.	$\beta 2m < 3,5$ mg/dL; Albumina ≥ 3.5 mg/dL.
II	Massa de células intermédia: Não encaixa nem no estágio I nem no III.	$\beta 2m < 3,5$ mg/dL e albumina < 3,5 mg/dL ou $\beta 2m 3,5 - 5,5$ mg/dL independentemente da albumina.
III	Elevada Massa Celular: Hemoglobina < 8,5 g/dL; Cálcio N ou > 6,0 mEq/dL; Lesões ósseas líticas avançadas; Níveis elevados de produção de componente M.	$\beta 2m > 5,5$ mg/dL.

Sistema de estadiamento de Durie-Salmon Versus Sistema de estadiamento Internacional. (Adaptado de Durie B. Concise Review of the Disease and Treatment Options: Multiple Myeloma Cancer of the Bone Marrow. International Myeloma Foundation. 2007).

4. Fisiopatologia

A GMSI e o MMA são situações clínicas assintomáticas, só reconhecidas através de diagnóstico laboratorial. No MM o crescimento descontrolado dos plasmócitos tem várias consequências, que incluem: destruição óssea; falência da medula óssea; aumento do volume plasmático e da viscosidade; supressão da produção de Ig normais e

insuficiência renal. A sintomatologia mais comum no MM é dor óssea e fracturas.^{4, 5} A Tabela 2 resume as condições clínicas mais comuns nos MM e as respectivas causas dessas condições.

Tabela 2 – Condições clínicas associadas ao Mieloma Múltiplo e respectivas causas

Condições clínicas comuns associadas ao Mieloma Múltiplo	
Condições Clínicas	Causas mais comuns
Dor óssea severa	Fracturas ósseas patológicas.
Fadiga	Anemia (Normocrómica Normocítica).
Náusea, confusão, sede e poliúria	Hipercalcémia.
Náusea e fadiga	Falência Renal.
Infecções recorrentes	Depressão das imunoglobulinas não monoclonais, neutropenia.

(Adaptado de Keren D, Alexanian R., Goeken J, Gorevic P, Kyle R, Tomar R. Guidelines for Clinical and Laboratory Evaluation of Patients with Monoclonal Gammopathies. Arch Pathol Lab Med. 1999. 123: 106-107.)

5. Epidemiologia

A detecção das gamopatias monoclonais é importante devido ao facto destas poderem progredir para formas descontroladas de produção de plasmócitos e/ou linfócitos B. Assim sendo, é de extrema relevância a identificação das características de cada doença e os critérios de diagnóstico, de forma a determinar factores de risco e, conseqüentemente, estabelecer um prognóstico que permita determinar quais os indivíduos com gamapatia monoclonal em risco de evoluírem para desordens neoplásicas e quais os que permanecerão estáveis. As GMSI afectam maioritariamente as pessoas mais idosas, sendo mais comuns nos indivíduos com mais de 70 anos. Esta patologia atinge 2 % das pessoas com 50 anos ou mais velhas, 3% dos indivíduos com mais de 70 anos e cerca de 6% dos indivíduos entre os 80 e 89 anos de idade.¹⁵ Os indivíduos com GMSI e MMA em que a proteína monoclonal é IgM ou IgA apresentam um risco superior de progressão para MM, do que os indivíduos em que a proteína em causa é IgG.¹⁵

As gamopatias monoclonais são mais prevalentes nos homens que nas mulheres, sendo o ratio masculino/feminino de 3:2.¹⁴ As gamopatias são mais prevalentes nos indivíduos de raça negra.⁵⁴

Os factores etiológicos para as gamopatias monoclonais ainda não foram completamente estudados. Não existem factores de risco preditivos consistentes para além do sexo, idade e raça.²⁵ Factores físicos, ambientais e químicos (como fertilizantes, óleos minerais, pesticidas e radiações) têm sido implicados no desenvolvimento de GMSI e MM.⁴⁰ A exposição a radiações é um possível factor de predisposição para as GMSI.²⁵ Para além do efeito da radiação no risco de GMSI, estudos epidemiológicos recentes fornecem evidências claras da disparidade racial na prevalência da GMSI, e da agregação familiar do MM/GMSI, ambos sugerindo uma etiologia genética na susceptibilidade para as gamopatias monoclonais.²⁵ A incidência destas patologias tem vindo a aumentar nas últimas décadas, o que pode ser explicado pela realização de check-ups mais aprofundados a indivíduos saudáveis, pelo aparecimento de melhores técnicas de diagnóstico, bem como pelo aumento da esperança média de vida da população.

A incidência anual das gamopatias monoclonais nos Estados Unidos da América (E.U.A.) está apresentada na Tabela 3. No MM a incidência do tipo de Ig envolvida varia, sendo o tipo mais frequente IgG (53%), seguida IgA (21%), cadeia leve (16%), IgD (2%), biclonal (2%), IgM (0,5%) e por fim IgE (<0,01%).^{10,4}

Tabela 3 – Incidência das Gamopatias Monoclonais Nos E.U.A

Incidência aproximada das Gamopatias Monoclonais mais comuns nos E.U.A	
Patologia	Nº de casos por ano
Mieloma Múltiplo	3 000
Gamapatia monoclonal de significado indeterminado	> 1 000 000

(Adaptado de Keren D, Alexanian R., Goeken J, Gorevic P, Kyle R, Tomar R. Guidelines for Clinical and Laboratory Evaluation of Patients with Monoclonal Gammopathies. Arch Pathol Lab Med. 1999. 123: 106-107.)

Em 2004 foram diagnosticados cerca de 15,270 casos de mieloma e morreram 11,070 pessoas com a doença. A incidência do MM aumenta com o aumento idade, sendo a idade média do diagnóstico aos 68 anos e raramente afecta pessoas com menos de 40 anos.⁵³

6. Prognóstico

A progressão de GMSI e MMA para MM está relacionado com a proporção de plasmócitos na medula óssea e com o nível de proteína monoclonal na altura do diagnóstico.³ Os doentes com GMSI e MMA anteriores têm um risco mais elevado de desenvolverem MM.¹⁵ Dos doentes com gamopatias monoclonais assintomáticas benignas 19% desenvolvem doenças hematológicas neoplásicas num período de 10 anos. Estes dados salientam uma vez mais a importância da identificação destas situações clínicas e de estabelecer critérios de diagnóstico de modo a prever quais destas gamopatias monoclonais irão ficar estáveis e quais evoluirão para formas neoplásicas descontroladas.¹⁷ A esperança média de vida, dos doentes com MM é de aproximadamente, três anos, contudo alguns doentes podem sobreviver até dez anos, estando a esperança de vida associada ao estadio da doença. O prognóstico das gamopatias monoclonais é pior nos doentes do sexo masculino do que no sexo feminino.¹⁴

7. Diagnóstico

O diagnóstico das gamopatias monoclonais é multidisciplinar, necessitando quer de um diagnóstico clínico quer de um diagnóstico laboratorial para se poder estabelecer o estadiamento da patologia. Deste modo o diagnóstico das gamopatias monoclonais assenta: 1) na deteção e quantificação da proteína monoclonal; 2) num exame de medula óssea para verificação da presença ou ausência de infiltração medular por plasmócitos e 3) pesquisa de lesão a nível orgânico (hipercalcémia, anemia, insuficiência renal e lesões ósseas).

7.1. Diagnóstico clínico

A avaliação clínica dos doentes com mieloma inclui um exame clínico cuidadoso pesquisando fragilidade óssea e massas tumorais. Radiografias ao tórax e ósseas podem revelar lesões líticas e osteopenia difusa.⁵³

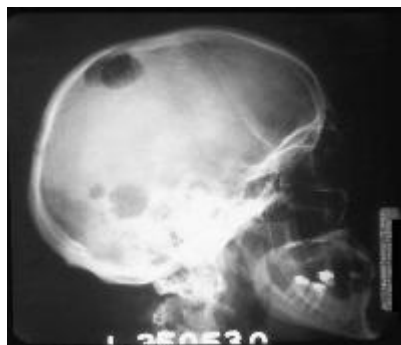


Figura 2 – Radiografia de um crânio revelando uma lesão lítica típica no Mieloma Múltiplo. Adaptado de Grethlein S, Thomas L. Multiple Myeloma. Medscape CME: Emedicine Specialties from WebMD. 2008 Outubro.

As queixas mais comuns estão relacionadas com a anemia, dor óssea (70% dos doentes têm dores ósseas no início da doença) e infecção. A dor óssea é mais comum nas costas e costelas, mas pode apresentar-se sob a forma de fracturas patológicas, especialmente da cabeça do fémur. Os doentes podem igualmente apresentar falência renal, compressão da medula óssea, ou síndrome de hiperviscosidade (hemorragia das mucosas, perturbações visuais, náuseas, tonturas).^{15,48} O exame clínico dos doentes revela palidez, equimoses (provocadas pela trombocitopenia), fragilidade óssea e massas nos tecidos moles. Os doentes podem apresentar sinais neurológicos relacionados com a compressão da medula óssea que se revelam sob a forma de dores nas costas, fraqueza, tonturas e dormência das extremidades.^{54,48}

7.2. Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial começa pela confirmação da presença de uma proteína monoclonal, o que é essencial para distinguir as gamopatias monoclonais das gamopatias policlonais. Esta distinção é importante, uma vez que as gamopatias monoclonais constituem patologias neoplásicas ou potencialmente neoplásicas enquanto que as policlonais são consequência de processos infecciosos e/ou inflamatórios. A presença de uma proteína monoclonal é detecta na electroforese das proteínas de amostras de soro e/ou urina como uma banda de migração. Tanto o soro como a urina devem ser analisados na pesquisa da proteína monoclonal.²

A variedade de imunoglobulinas move-se de forma heterogénea num campo eléctrico e pode formar um pico na região gama (mais frequente), beta ou alfa da

separação electroforética das proteínas do soro. A região da gama globulina do padrão electroforético está normalmente aumentada no soro de doentes com tumores dos plasmócitos. Existe um pico acentuado nesta região que se designa por componente M. Menos comumente, o componente M pode surgir na região da β_2 ou α_2 globulina.⁵³

O diagnóstico laboratorial continua a ser realizado pela caracterização das cadeias pesadas e leves da Ig em questão por Imunofixação. A electroforese é considerada um método de triagem para a presença do componente monoclonal, enquanto a imunofixação tem sido considerada actualmente o método de referência para a confirmação da sua presença e para a caracterização das cadeias leves e pesadas.²

7.2.1. Electroforese das proteínas

As proteínas são macromoléculas, constituídas por aminoácidos com ligações covalentes entre si. Dependendo da carga eléctrica, resultante das ligações covalentes ou iónicas aos seus subgrupos estruturais, as proteínas podem ser polares ou não polares a determinado pH. A separação electroforética das proteínas séricas é uma técnica universal para a detecção das gamapatias monoclonais e complemento no diagnóstico de estados patofisiológicos associados com variação na quantidade de proteínas. Na rotina laboratorial, a electroforese das proteínas pode ser realizada por intermédio de duas metodologias distintas: electroforese em gel de agarose ou electroforese capilar.

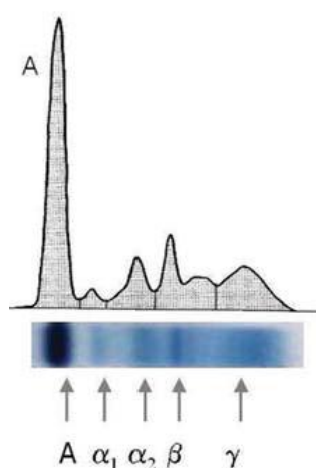


Figura 3 – Perfil normal de electroforese sérica em gel de agarose. (Adaptado de Bottini P. Testes Laboratoriais para a avaliação do componente monoclonal. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007; 29(1): 23-26.)

Na electroforese em gel de agarose as proteínas são separadas de acordo com as suas respectivas cargas eléctricas e peso molecular, fazendo uso das forças electroforéticas e electroendosmóticas. A separação é tornada visível pelo uso de um corante com afinidade para as proteínas.²

Na electroforese capilar a separação electroforética é feita em meio líquido, e é baseada nas diferenças da relação carga/massa das várias proteínas, através da dissociação dos grupos ácidos no soluto a pH constante. Esta técnica é mais sensível que a electroforese em gel de agarose (meio sólido).^{2, 8} A electroforese capilar separa os componentes das proteínas plasmáticas em fracções comparáveis às determinadas pela electroforese das proteínas séricas em gel de agarose. Nesta técnica a separação das proteínas ocorre num capilar de sílica fundida, e utiliza dois princípios na separação das proteínas. O primeiro, a pH alcalino, é criado um fluxo electroendosmótico. O fluxo electroendosmótico é o movimento da totalidade dos iões carregados do tampão que se movimentam para o cátodo ou ânodo consoante a sua carga eléctrica. O segundo, a migração electroforética das proteínas individuais é baseada no seu ponto isoeléctrico, estrutura terciária, e na diferença da razão entre as suas cargas e massas em condições de voltagem, composição electrolítica e pH específicas. A pH alcalino, como o utilizado, a maioria das proteínas são carregadas negativamente, consequentemente quando se aplica uma voltagem, o fluxo electroendosmótico excede a mobilidade electroforética das proteínas resultando no movimento das proteínas para o cátodo.

7.2.2. Imunofixação ou Electroimunofixação capilar por subtracção

O principal objectivo da imunofixação é definir o tipo de proteína anormal presente na amostra, identificando as cadeias leves e pesadas envolvidas. Este método combina as técnicas de electroforese e de imunoprecipitação. A separação das proteínas séricas por electroforese é feita no meio sólido com anti-soros (contra IgA, IgG, IgM, cadeia leve κ e λ). As proteínas não precipitadas são lavadas e o imunoprecipitado é de seguida corado. A presença da proteína monoclonal é caracterizada na imunofixação pela presença de uma banda bem definida associada com uma classe de cadeia pesada (IgA, IgG ou IgM) e uma banda da mesma mobilidade que reage com a cadeia leve κ ou λ . Este método tem grande aplicação na identificação de Ig monoclonais presentes em pequenas quantidades, as quais são difíceis de detectar por outros métodos.²

Na electroimunofixação capilar por subtracção a amostra é inicialmente exposta a antisoros específicos para cadeias pesadas e leves e posteriormente a caracterização do

pico monoclonal é feita por electroforese, em meio liquido, e pelo desaparecimento de picos específicos.

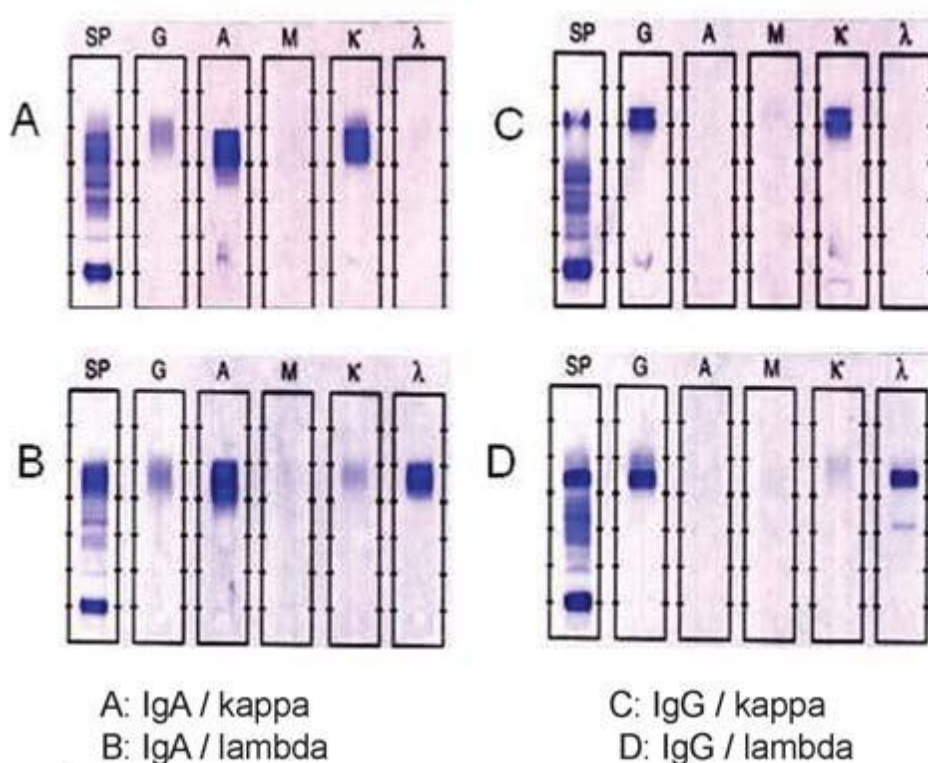


Figura 4 – Imunofixação sérica de doentes portadores de Mieloma Múltiplo. (Adaptado Bottini P. Testes Laboratoriais para a avaliação do componente monodonal. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007; 29(1): 23-26).

7.2.3. Doseamento das Imunoglobulinas

O doseamento das Ig faz-se por Imunoensaio Turbidimétrico ou Nefelométrico. Este doseamento é importante para ajudar, no caso de MM, o acesso à massa tumoral e a determinar se a doença está a progredir.⁸

Em suma, o objectivo do diagnóstico laboratorial é demonstrar a presença de uma proteína monoclonal, fazer a caracterização da mesma e quantificar essa proteína no soro e/ou urina, através do estudo do perfil proteico, da quantificação das cadeias leves, bem como da avaliação da proteinúria.²

Para além destas análises imunoquímicas é também importante no diagnóstico laboratorial:

- A observação de esfregaços de medula óssea, para se determinar a percentagem de plasmócitos;
- A realização do hemograma, para avaliar os parâmetros hematimétricos;
- A determinação da velocidade de sedimentação, que se apresenta geralmente aumentada;
- O doseamento sérico da creatinina, da ureia, do ácido úrico e do cálcio, cujos níveis estão normalmente elevados.⁵³

O diagnóstico da GMSI assenta em três critérios:

- 1) Proteína Monoclonal sérica e/ou urinária em baixa concentração (IgG sérica < 3g/dL; IgA sérica < 2g/dL);
- 2) Percentagem de plasmócitos na Medula óssea < 10%;
- 3) Cálcio, hemoglobina e creatinina sérica normais.¹⁶

Estes três critérios têm de ser encontrados na ausência de lesões ósseas, ausência clínica e laboratorial de doença de depósito de cadeias leves ou de patologias linfoproliferativas.¹⁶

O diagnóstico do MM assintomático assenta também em três critérios:

- 1) Proteína monoclonal presente (sérica \geq 3g/dL ou urinária);
- 2) Presença de plasmócitos monoclonais na MO \geq 10% e/ou na biopsia de tecidos;
- 3) Ausência de critérios para GMSI, MM.¹⁶

O diagnóstico de MM assenta:

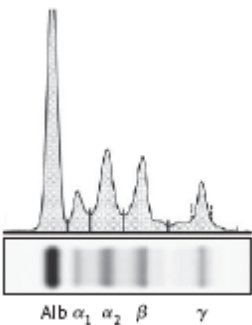
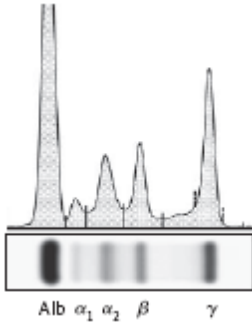
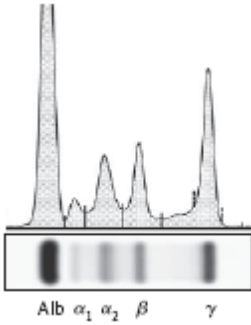
- 1) Proteína monoclonal presente (sérica >3 g/dL ou urinária);
- 2) Hipercalcémia;
- 3) Presença de plasmócitos monoclonais na MO (>10%) e/ou na biopsia de tecidos;
- 4) Presença de lesões orgânicas provocadas pela proliferação de plasmócitos.¹⁶

8. Tratamento

Nestas patologias o tratamento é dirigido para problemas clínicos específicos e tem como objectivo o controlo da doença.

O tratamento específico do mieloma é recomendado quando o MM é sintomático, como consequência de um aumento da proteína monoclonal e/ou surgimento ou iminência de problemas clínicos. Os problemas que requerem o início do tratamento incluem destruição óssea, insuficiência renal, contagens hematológicas progressivamente mais baixas (por exemplo anemia, neutropenia), elevação do cálcio sérico, lesão neurológica ou outra lesão significativa de tecido ou órgão. Assim, os doentes com GMSI e com MM assintomático devem ser somente vigiados de perto em vez de serem tratados. O seguimento destes doentes deve ser feito indefinidamente, pois o risco de progressão de doença não desaparece após a situação ter permanecido estável durante alguns anos. Uma monitorização sensata destes doentes deve consistir em análises laboratoriais anuais que incluam electroforese das proteínas, determinação da hemoglobina, do cálcio e da creatinina sérica. Contudo, os pacientes que apresentem concentrações mais elevadas de proteína monoclonal ou que apresentem novos sintomas devem ser monitorizados mais de perto.¹⁶

Tabela 4 – Características da GMSI, MMA e do MM

	GMSI	MMA	MM
			
Medula óssea	Plasmócitos < 10%	Plasmócitos ≥ 10%	Plasmócitos ≥ 10%
Quadro clínico	Assintomático Sem lesão orgânica	Assintomático Sem lesão orgânica	Sintomático Lesão orgânica presente
Terapêutica	Observação	Observação	Requer tratamento

Adaptado de Kyle R, Remstein E, Therneau T, Dispenzieri A, Kurtin P, Hodnefield J, et al. Clinical Course and Prognosis of Smoldering (Assymptomatic) Multiple Myeloma. The New England Journal of Medicine. 2007. 356: 2582-2590.

Existem várias opções de tratamento, a escolha de qual utilizar pode estar relacionada com a idade, a condição médica geral, a escolha pessoal e outros factores. O quadro que se segue apresenta um resumo dos tratamentos, segundo a *International Myeloma Foundation* (2007) que podem ser utilizados para controlar o MM. Durante décadas a base da terapêutica foi a quimioterapia por via oral com melphalan e prednisona. Esta terapêutica, em elevadas doses, com transplante autólogo de células estaminais provou prolongar a tempo de vida em comparação com a quimioterapia convencional e foi incorporado por rotina como estratégia de tratamento. Mais recentemente, talidomida, bertzomib e lenalidomida emergiram como agentes efectivos no tratamento do MM e alteraram substancialmente o modo como a doença é tratada.³⁹

Tabela 5 – Opções de tratamento do Mieloma Múltiplo

OPÇÕES DE TRATAMENTO DO MM
<ol style="list-style-type: none"> 1. Quimioterapia 2. Terapia com elevadas doses com transplante 3. Radiação 4. Terapia de manutenção (por exemplo interferão alfa, prednisona) 5. Terapia de suporte: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Eritropoietina; ▪ Analgésicos; ▪ Bifosfonatos; ▪ Antibióticos; ▪ Exercício; ▪ Factores de crescimento; ▪ Ortose/colete; ▪ Tratamentos de emergência (por exemplo: diálise, plasmaferese, cirurgia) 6. Controlo da doença refractária ou resistente aos fármacos 7. Tratamentos novos emergentes: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Talidomida e análogos Revlimid®/Actimid®; ▪ VELCADE® (inibidor de Proteassoma); ▪ Doxil® (adriamicina lipossomal); ▪ Trisenox® (trióxido de arsénico); <p style="text-align: center;">Transplante Mini-alogénico (não mieloblático).</p>

Adaptado de Durie B. Concise Review of the Disease and Treatment Options: Multiple Myeloma Cancer of the Bone Marrow. International Myeloma Foundation. 2007.

Introdução

Material e Métodos

Resultados

Discussão dos Resultados

Conclusões

Referências Bibliográficas

1. População em estudo

A população envolvida no estudo compreendeu os doentes que realizaram electroforese de proteínas no soro, no Serviço de Patologia Clínica do CHTS, EPE, entre Janeiro de 2004 e Dezembro de 2008. Esta população compreende doentes de Amarante, Penafiel, Paredes, Baião, Lousada, Felgueiras, Paços de Ferreira, Castelo de Paiva e Marco de Canaveses.

2. Colheita e Separação da amostra

A todos os doentes foi efectuada colheita de sangue, por punção venosa utilizando sistema de vácuo. As amostras foram colhidas para um tubo com gel e activador da coagulação (Vacutainer®). Após a retracção do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 3509 rcf durante 5 minutos, obtendo-se assim a amostra de soro com a qual se trabalhou.

3. Electroforese sérica das proteínas

Para a separação electroforética das proteínas utilizou-se o analisador automático PARAGON CZE 2000 da Beckman Coulter. Este equipamento executa a separação altamente eficiente dos componentes das proteínas séricas por electroforese capilar.

4. Electroimunofixação capilar por subtracção

Nos doentes com suspeita de picos monoclonais realizaram-se nas amostras de soro electroimunofixações capilares por subtracção (IFE) utilizando o analisador automático PARAGON CZE 2000 da Beckman Coulter.

A electroimunofixação capilar por subtracção é caracterizada por fazer reagir o soro do doente com anticorpos ligados a suportes sólidos de sefarose antes de se realizar a electroforese capilar da amostra. Assim, ao adaptar-se a imunofixação à electroforese capilar, os componentes monoclonais são imunofixados aos suportes sólidos de sefarose antes da electroforese do soro. As alterações qualitativas resultantes no padrão electroforético permitem a identificação do componente monoclonal, que é caracterizada pela especificidade dos anticorpos que causaram o desaparecimento do

pico do componente monoclonal. A imunosubtração é uma técnica para a remoção de uma classe ou tipo específicos de Ig de uma amostra de soro, utilizando-se para isso um suporte sólido o qual está acoplado a um ligando para uma Ig específica. Na imunosubtração da electroforese capilar, as amostras de soro diluídas são expostas a cinco suportes sólidos diferentes cada um contendo um ligando específico para Ig. Três desses suportes são específicos para as cadeias pesadas (IgG, IgA, IgM) e cada um dos outros específicos para as cadeias leves kapa e lambda. Não se utilizaram anti-soros para a caracterização das cadeias IgD e IgE. Depois da exposição ao suporte sólido faz-se a electroforese da amostra. As Ig específicas ou os fragmentos de Ig específicos são identificados no analisador automático pela ausência do respectivo pico relativamente ao padrão electroforético da electroforese capilar realizada novamente.

5. Controlo de Qualidade

O controlo de qualidade da electroforese capilar foi efectuado uma vez por semana utilizando-se alternadamente três níveis de soros de controlo multiparamétricos.

O controlo de qualidade da electroimunofixação capilar por subtração foi efectuado uma vez por mês utilizando-se para tal um soro de controlo específico.

6. Análise de dados

Os dados dos doentes foram retirados da aplicação informática do Serviço de Patologia Clínica do CHTS, EPE (CLINIDATA, da Maxdata). Estes dados foram compilados numa base de dados no programa informático *Microsoft Excel Office 2003*, programa igualmente utilizado na análise estatística dos dados.

Introdução

Material e Métodos

Resultados

Discussão dos Resultados

Conclusões

Referências Bibliográficas

1. Caracterização sociodemográfica da população em estudo

A população envolvida no estudo compreendeu todos os doentes que realizaram electroforese das proteínas do soro no Serviço de Patologia Clínica do CHTS, EPE. Foram incluídos no estudo 2806 indivíduos, 1544 (55,0%) do sexo masculino e 1262 (45%) do sexo feminino, com uma média de idades de 49 anos (mínimo de 1 mês, máximo 96 anos). A distribuição dos doentes por grupos etários demonstrou que a maioria estava incluída nos grupos etários dos 41 aos 80 anos (n=1738, 61,9%), não existindo diferenças significativas nos quatro grupos etários incluídos neste intervalo, como se pode verificar na tabela 6 e na figura 5.

Tabela 6 – Caracterização da população estudada segundo o grupo etário

Grupo etário	n	%
0 - 10	253	9,0
11 - 20	79	2,8
21 - 30	208	7,4
31 - 40	308	11,0
41 - 50	411	14,6
51 - 60	412	14,7
61 - 70	435	15,5
71 - 80	480	17,1
81 - 90	204	7,3
91 - 100	16	0,6
Total	2806	100

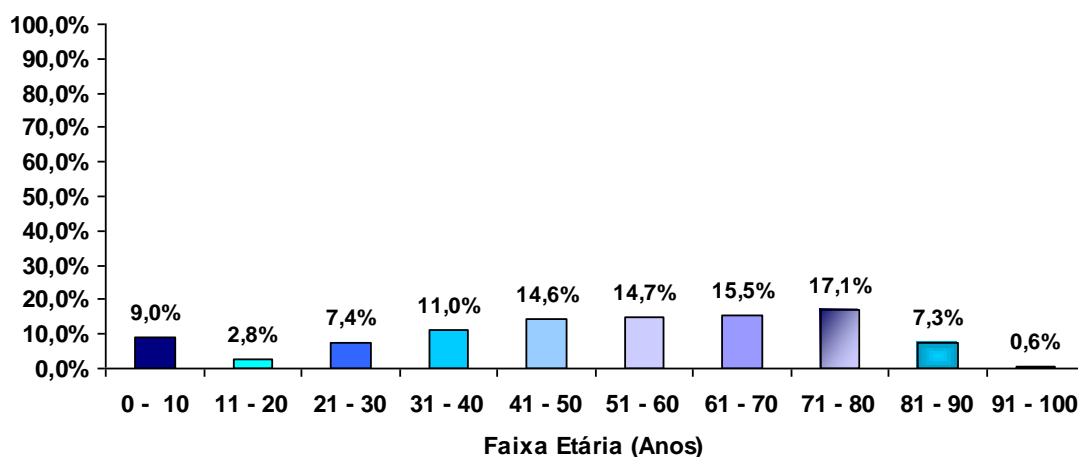


Figura 5 - Caracterização da população estudada segundo o grupo etário.

2. Avaliação dos resultados obtidos na electroforese sérica e na electroimunofixação

Aos 2806 indivíduos, que constituíram a população do estudo, foi efectuada a colheita de uma amostra de soro utilizada na realização da electroforese capilar. Nessas amostras as que apresentavam perfil electroforético com suspeita de pico monoclonal, foi feita a electroimunofixação capilar por subtracção para excluir ou caracterizar o pico monoclonal. Como se pode observar na tabela 7 e na figura 6, dos 2806 indivíduos, 2,9% (n=81) apresentaram IFE com bandas monoclonais.

Tabela 7 – Resultados da IFE.

EC/IFE	n	%
Presença de picos monoclonais	81	2,9
Ausência de picos monoclonais	2725	97,1



Figura 6 - Resultados da IFE.

Dos 81 indivíduos com picos monoclonais, 46 (56,8%) eram do sexo masculino e 35 (43,2%) eram do sexo feminino, como se pode observar na figura 7.

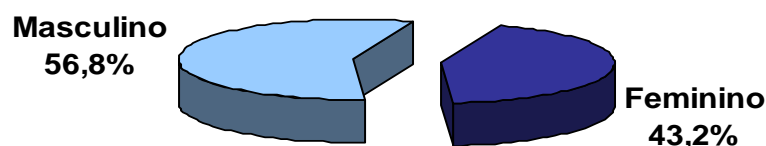


Figura 7 – Caracterização da população com picos monoclonais segundo o género.

A média etária dos 81 indivíduos era de 70 anos (mínimo 21 anos, máximo 89 anos) e distribuição dos indivíduos por grupos etários demonstrou que a maioria estava incluída no grupo etário dos 71 aos 80 anos (n=35, 43,2%), como se pode verificar na tabela 8 e na figura 8.

Tabela 8 – Caracterização da população com picos monoclonais segundo o grupo etário.

Grupo etário	n	%
21 - 30	2	2,5
31 - 40	1	1,2
41 - 50	6	7,4
51 - 60	9	11,1
61 - 70	13	16,0
71 - 80	35	43,2
81 - 90	15	18,5
Total	81	

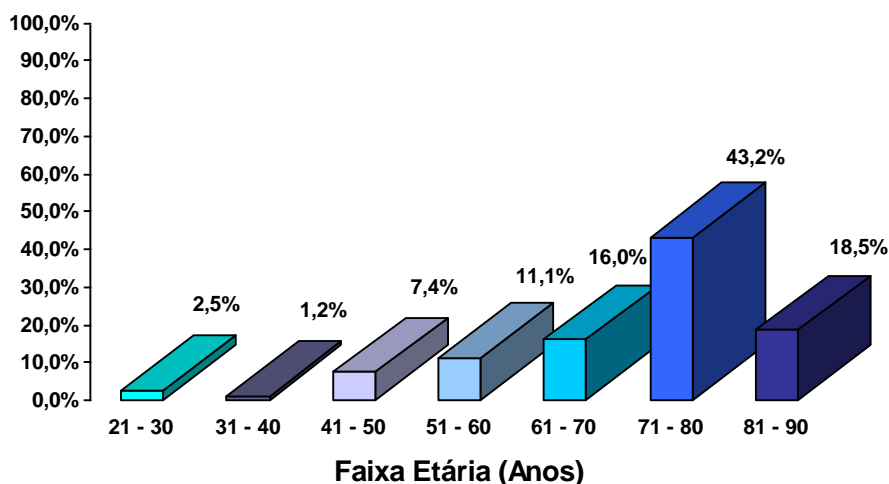


Figura 8 - Caracterização da população com picos monoclonais segundo o grupo etário.

Neste grupo de indivíduos, verificou-se a incidência de cada um dos diferentes tipos de cadeias. Como se pode verificar pela observação da tabela 9 e da figura 9, em relação às cadeias pesadas o tipo mais frequente foram as IgG (70,4%), seguidas pelas IgA (22,2%) e por último as IgM (7,4%). No que diz respeito às cadeias leves, a incidência das cadeias k foi de 56,8%, e das cadeias λ foi de 43,2%. Não foi feita a caracterização das cadeias pesadas IgD e IgE.

Tabela 9 – Resultados da IFE para a população com picos monoclonais

Tipo de Cadeias		n	%
Cadeias Leves	k	46	56,8
	λ	35	43,2
Cadeias Pesadas	IgA	18	22,2
	IgG	57	70,4
	IgM	6	7,4

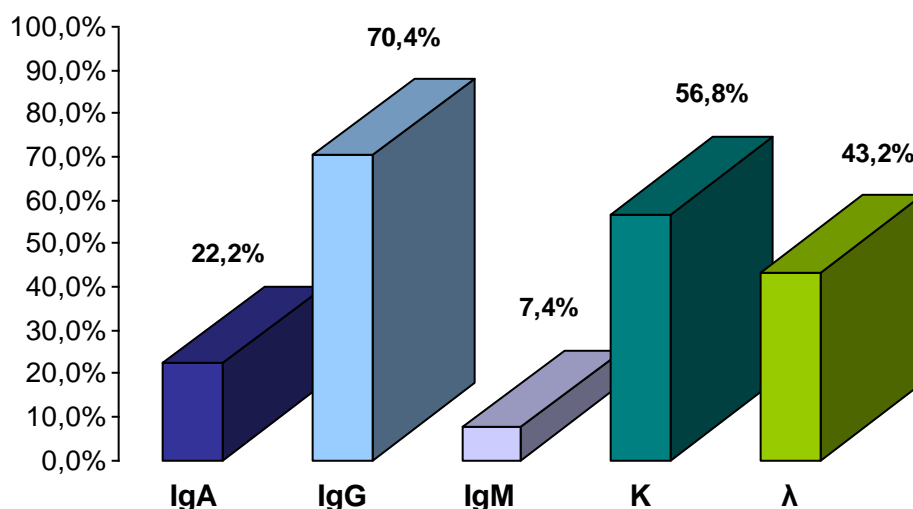


Figura 9 – Resultados da IFE para a população com picos monoclonais.

3. Avaliação de análises laboratoriais complementares

Dos 81 indivíduos com picos monoclonais foi feita a recolhas dos resultados das análises laboratoriais com interesse para o estudo dos três tipos de gamopatias monoclonais, GMSI, MMA e do MM sintomático. Como se pode verificar pela observação da tabela 10, compilaram-se os dados referentes aos valores das proteínas totais, velocidade de sedimentação (VS), cálcio sérico (Ca), hemoglobina (Hb), creatinina e albumina.

Como se pode observar na tabela 10, não foi possível recolher dados dos exames laboratoriais complementares de todos os indivíduos com picos monoclonais. Destes resultados verifica-se que para as proteínas totais 53,6% dos 73 indivíduos apresentavam valores dentro dos valores de referência, 35,6% apresentavam hiperproteinémia e somente 11,0% apresentavam hipoproteinémia.

Em relação à Hb, 53,5% dos 71 indivíduos apresentavam valores dentro do intervalo de referência, 45,1% apresentavam valores diminuídos (anemia) e um número muito reduzido (1,4%) apresentavam valores aumentados de Hb.

No que diz respeito à creatinina, 64,3% dos 70 indivíduos apresentavam valores dentro do intervalo de referência, 27,1% apresentavam valores entre 1,10 – 2,0 mg/dL e 8,6% apresentavam valores de creatinina superiores a 2,0 md/dL.

Para a albumina dos 48 indivíduos, 58,3% apresentavam hipoalbuminemia, e 41,7% apresentavam valores dentro do intervalo de referência.

Relativamente ao cálcio sérico, dos 35 indivíduos 80% apresentavam valores de cálcio dentro do intervalo de referência, 14,3% exibiam hipocalcemia e somente 5,7% manifestavam hipercalcemia.

Na VS, a quase totalidade dos 34 indivíduos (91,2%) apresentavam valores aumentados, apenas 8,8% apresentavam valores dentro do intervalo de referência.

Tabela 10 – Resultados dos exames laboratoriais complementares dos indivíduos com picos monoclonais.

Parâmetros	Valores de Referência	Resultados		
		Intervalo	n	%
Proteínas Totais	6,1 - 7,9 g/dL	< 6,1 g/dL	8	11,0
		6,1- 7,9 g/dL	39	53,4
		> 7,9 g/dL	26	35,6
		Total	73	
Velocidade de sedimentação	0 – 15 mm/h	0 – 15 mm/h	3	8,8
		>15 mm/h	31	91,2
		Total	34	
Cálcio	4,3 - 5,1 mEq/L	< 4,3 mEq/L	5	14,3
		4,3 - 5,1 mEq/L	28	80,0
		> 5,1 mEq/L	2	5,7
		Total	35	
Hemoglobina	12,0 - 16,3 g/dL	<12,0 g/dL	32	45,1
		12,0 – 16,3 g/dL	38	53,5
		> 16,3 g/dL	1	1,4
		Total	71	
Creatinina	< 1,10 mg/dL	≤ 1,10 mg/dL	45	64,3
		> 1,10 mg/dL	19	27,1
		>2,0 mg/dL	6	8,6
		Total	70	
Albumina	3,8 - 5,1 g/dL	≤3,5 g/dL	28	58,3
		3,5 - 5,1 g/dL	20	41,7
		>5,1 g/dL	0	0
		Total	48	

Introdução

Material e Métodos

Resultados

Discussão dos Resultados

Conclusões

Referências Bibliográficas

O estudo envolveu 2806 indivíduos, dos quais 55,0% (n=1544) eram do sexo masculino e 45% (n=1262) do sexo feminino. A população tinha uma idade média de 49 anos, estando a maioria (n=1738, 61,9%) na faixa etária dos 41 aos 80 anos. Na faixa etária dos 0 aos 10 anos não seria de esperar que o número de indivíduos fosse tão grande (n=253, 9%), pois não é frequente a incidência de gamopatias monoclonais nesta faixa etária.

Dos 2806 indivíduos envolvidos no estudo, 81 apresentavam electroforeses com suspeita de picos monoclonais. Os prováveis picos foram confirmados e caracterizados pela electroimunofixação capilar por subtracção.

Os 81 indivíduos apresentavam uma idade média de 70 anos, 56,8% (n= 46) eram do sexo masculino e 43,2% (n= 35) eram do sexo feminino. A maioria dos indivíduos com picos monoclonais encontrava-se na faixa etária dos 71 – 80 anos (43,2%, n= 35). A incidência dos picos monoclonais na população foi de 2,9% (n=81). A incidência dos dois tipos de cadeias leves não foi muito díspar, no entanto as cadeias k (56,8%, n= 46) foram o tipo mais frequente.

As incidências dos diferentes tipos de cadeias pesadas foram muito diferentes. As cadeias do tipo IgG foram as mais frequentes apresentando uma incidência de 70,4% (n=57). As cadeias IgA apresentaram uma incidência muito inferior com somente 22,2% (n=18), cerca de 1/3 da percentagem das IgG. Em último as menos frequentes foram as cadeias do tipo IgM com uma incidência de 7,4% (n= 6). De notar que a electroimunofixação utilizada não permite a detecção e caracterização das IgD, das IgE e das cadeias leves livres.

Os valores dos exames laboratoriais complementares foram recolhidos tendo em atenção que o MM envolve alterações a nível orgânico, algumas das quais passíveis de se diagnosticarem com auxílio laboratorial. Como se verificou na literatura o MM geralmente caracteriza-se pelo aparecimento de “anemia” daí a recolha de dados da Hb, de hipercalcemia que justifica a recolha dos valores de cálcio sérico, de um aumento da viscosidade sanguínea o que leva a um conseqüente aumento da velocidade de sedimentação, de alterações da função renal o que levou à recolha dos valores de creatinina. A determinação das proteínas totais e da albumina são importantes na avaliação do perfil proteico dos indivíduos. Assim, 5,7% (n=2) dos indivíduos apresentavam hipercalcemia, 8,6% (n=6) exibem uma creatinina > 2,0 mg/dL, 45,1% (n=32) apresentam Hb < 10,0 g/dL, 35,6% (n=26) revelam hiperproteinemia, 58,3% (n=28) tinham hipoalbuminemia, e 91,2% (n=31) apresentavam um aumento da VS.

Introdução
Material e Métodos
Resultados
Discussão dos Resultados
Conclusão
Referências Bibliográficas

A electroforese, como teste de rastreio, e a electroimunofixação, como teste diagnóstico, permitem uma detecção precoce dos picos monoclonais e, conseqüentemente, das gamapatias monoclonais, antes mesmo do aparecimento dos sintomas.

O presente estudo pretendeu estudar as gamapatias monoclonais na área do CHTS, EPE. Determinar a incidência das mesmas e de cada um dos tipos de cadeias envolvidas nessas gamapatias.

A incidência na população foi de 2,9% (n=81). As gamapatias monoclonais revelaram-se mais prevalentes nos homens (56,8%, n=46) que nas mulheres (43,2%, n=35), apresentando um ratio masculino/feminino de cerca de 3:2, como referido na literatura. As gamapatias monoclonais são mais frequentes na população dos 71 aos 80 anos (43,2%, n=35), e a sua incidência vai aumentando com a idade como se verificou na distribuição dos doentes por faixas etárias, só havendo um decréscimo na faixa dos 81 aos 90 anos, talvez por o número de indivíduos analisados nesta faixa etária ser inferior, o que poderá ser explicado pelo facto da esperança média de vida em Portugal ser de 78 anos (dados do Instituto Nacional de Saúde relativos ao triénio 2004-2006). Este aumento da incidência com a idade está descrito na literatura. No estudo verificou-se que a idade média dos indivíduos com picos monoclonais foi de 70 anos, o que não se afasta muito da idade média referida na literatura que é de 68 anos.

A incidência do tipo de cadeia envolvida varia, sendo o tipo mais frequente de cadeias pesadas as IgG (70,4%, n=57), de seguida as IgA (22,2%, n=18) e por último as IgM (7,4%, n=6). A ordem de frequência apresentada é coincidente com o descrito na literatura, contudo as percentagens divergem um pouco tendo a IgG uma maior incidência que o descrito, pois a literatura refere uma percentagem de 53%. A IgA apresenta valores muito próximos aos apresentados na literatura, mas IgM apresenta uma incidência bastante superior ao referido na literatura (0,5%).

De notar que na literatura se prediz que as gamapatias monoclonais raramente afectam pessoas com menos de 40 anos, o que igualmente se observa neste estudo pois os indivíduos com picos monoclonais com idades inferiores a 40 anos são somente três constituindo 3,7% (n=3) da população.

Em relação aos resultados dos exames complementares não se pode chegar a grandes conclusões pois não se consultaram os dados clínicos dos doentes, não podendo por isso saber quais e quantos apresentam sintomas característicos. Nem foi possível obter os valores dos vários parâmetros analíticos para todos os indivíduos em causa. Contudo, tendo em atenção as características das gamapatias em geral e do MM em particular, verificou-se que dos doentes com picos monoclonais dos quais se conseguiram os resultados dos diferentes parâmetros analíticos, apenas 5,7% (n=2)

apresentavam hipercalcemia, somente 8,6% (n=6) apresentavam creatinina > 2,0 mg/dL, 45,1% (n=32) manifestavam anemia (Hb <10,0 g/dL), 35,6% (n=26) revelavam hiperproteinemia, 58,3% (n=28) tinham hipoalbuminemia, e 91,2% (n=31) apresentavam um aumento da VS. Assim os resultados parecem revelar que a maioria dos indivíduos apresentava gamopatias monoclonais benignas (GMSI e MMA), pois a percentagem de indivíduos com os parâmetros analíticos alterados sugerindo MM foi baixa. Dos parâmetros determinados somente a VS revela uma elevada percentagem de indivíduos com valores alterados, o que não é muito significativo devido ao facto deste parâmetro ser muito inespecífico nas suas variações.

Este estudo foi muito enriquecedor e interessante em termos laboratoriais, contudo parece revelar-se importante um estudo mais aprofundado deste tema das gamopatias monoclonais. A correlação com o quadro clínico dos doentes seria enriquecedora e constituiria uma mais-valia para o estadiamento deste tipo de patologia, para um melhor diagnóstico e tratamento.

Introdução
Material e Métodos
Resultados
Discussão dos Resultados
Conclusões
Referências Bibliográficas

1. Kyle . Sequence of Testing for Monoclonal Gammopathies: Serum and Urine Assays. Arch Pathol LabMed 1999; 123: 114-118.
2. Bottini P. Testes Laboratoriais para a avaliação do componente monoclonal. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007; 29(1): 23-26.
3. Mayer G. Microbiology and Immunology on-line - Immunology. University of South Caroline – School of Medicine. Capítulo 4 – The Structure and function of Immunoglobulins; Capítulo 5: Classes of Immunoglobulins: Isotypes and Allotypes; Capítulo 6: The Genetics of Idiotypes.
4. Durie B. Concise Review of the Disease and Treatment Options: Multiple Myeloma Cancer of the Bone Marrow. International Myeloma Foundation. 2007.
5. Kyle R, Gertz M, Witzig T, Lust J, Lacy M, Dispenzieri A, et al. Review of 1027 Patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma. Mayo Clinic Proceedings 2003; 78: 21-33.
6. Hungria V, Maiolino Â. Mieloma Múltiplo: Progressos e Desafios. Rev. Bras. Hemoter. 2007. 29(1): 1-2.
7. Martinez, Garcia A. Factores Prognósticos no Mieloma Múltiplo. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007. 29(1): 27-30.
8. Attaelmannan M, Levinson S. Understanding and Identifying Monoclonal Gammopathies. Beckman Conference: Clinical Chemistry. 2000. 46: 8 (B): 1230-1238.
9. Greipp P, San Miguel J, Durie B, Crowley J, Barlogie B, Bladé J, et al. International Staging System for Multiple Myeloma. Journal of Clinical Oncology. 2005 Maio. 23(15): 3412- 3420.
10. Faria R, Paula e Silva R. Gamopatas Monoclonais – Critérios Diagnósticos e Diagnósticos Diferenciais. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007. 29(1): 17-22.
11. Keren D, Alexanian R., Goeken J, Gorevic P, Kyle R, Tomar R. Guidelines for Clinical and Laboratory Evaluation of Patients with Monoclonal Gammopathies. Arch Pathol Lab Med. 1999. 123: 106-107.
12. Durie B, Harousseau J-L, San Miguel J, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, et al. International Uniform Response Criteria for Multiple Myeloma. Leukemia. 2006. 20: 1467-1473.
12. Kyle R, Rajkumar R. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assesment of multiple myeloma. Leukemia. 2009 Janeiro. 23(1): 3 - 9.
13. Kyle R, Remstein E, Therneau T, Dispenzieri A, Kurtin P, Hodnefield J, et al. Clinical Course and Prognosis of Smoldering (Assymptomatic) Multiple Myeloma. The New England Journal of Medicine. 2007. 356: 2582-2590.
14. Fanning S., Hussein M, Juturi J. Monoclonal Gammopathy of Uncertain Origin: Follow-up. Medscape CME: Emedicine Specialties from WebMD. 2006 Junho.

15. Kyle R. A., Therneau T. M., Rajkumar R. V., Offord Janice, Larson Dirk R., Plevak Mathew F., et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *The New England Journal of Medicine*. 2002 Fevereiro. 346 (8): 564-569.
16. Kyle R, Therneau T, Rajkumar R, Offord J., Larson D, Plevak M, et al. Prevalence of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *The New England Journal of Medicine*. 2006. 354: 1362-1369.
17. Baldini L, Guffanti A, Cesana B, Colombi M, Chiorboli O, Damilano I, Maiolo A. Role of Different Hematologic Variables in Defining the Risk of Malignant Transformation in Monoclonal Gammopathy. *Blood – American Society of Hematology*. 1996 Fevereiro. 87 (3): 912-918.
18. Anderson K. Multiple Myeloma: How far have we come. *Mayo Clinic Proceedings*. 2003 Janeiro. 78(1): 15-17.
19. Greipp P, Kyle R. Clinical, Morphological, and Cell Kinetics Differences Among Multiple Myeloma, Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance, and Smoldering Multiple Myeloma. *Blood – American Society of Hematology*. 1983 Julho. 62 (1): 166-171.
20. Alexanian R. Blood Volume in Monoclonal Gammopathy. *Blood – American Society of Hematology*. 1977 Fevereiro. 49 (2): 301-307.
21. Bast B, Boom S, Ballieux R. Characterization of the Colony-Forming Cell in Monoclonal Gammopathy. *Blood – American Society of Hematology*. 1982 Setembro. 60 (3): 608-612.
22. Kyle R, Finkelstein S, Elveback L, Kurland L. Incidence of Monoclonal Proteins in a Minnesota Community With a Cluster of Multiple Myeloma. *Blood – American Society of Hematology*. 1972 Novembro. 40 (5): 719-724.
23. Kyle R, Rajkumar R, Therneau T, Melton III L, Bradwell A, Clark R, et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood – American Society of Hematology*. 2005 Agosto. 106 (3): 812-817.
24. Dianzini U, Pileri A, Boccadoro M, Palumbo A, Pioppo P, Bianchi A, et al. Activated Idiotype-Reactive Cells in Suppressor/Cytotoxic Subpopulations of Monoclonal Gammopathy: Correlation With Diagnosis and Disease Status. *Blood – American Society of Hematology*. 1988 Setembro. 72 (3): 1064-1068.
25. Iwanaga M, Tagawa M, Tsukasaki K, Matsuo T, Yokota K, Miyasaki Y, et al. Relationship between monoclonal gammopathy of undetermined significance and radiation exposure in Nagasaki atomic bomb survivors. *Blood – American Society of Hematology*. 2009 Fevereiro. 113 (8): 1639-1650.

26. Zhan F, Barlogie B, Arzoumanian V, Huang Y, Williams D, Hollmig K, et al. Gene-expression signature of benign monoclonal gammopathy evident in multiple myeloma is linked to good prognosis. *Blood – American Society of Hematology*. 2007 Fevereiro. 109 (4): 1692-1700.
27. Avet-Louiseau H, Li J, Morineau N, Falcon T, Brigaudeau C, Harousseau J, et al. Monosomy 13 is Associated With the Transition of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance to Multiple Myeloma. *Blood – American Society of Hematology*. 1999 Outubro. 94 (8): 2583-2589.
28. Kyle R, Rajkumar R, Therneau T, Remstein E, Offord J, Larson D, et al. Long-term follow-up of IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood – American Society of Hematology*. 2003 Novembro. 102 (10): 3759-3764.
29. Bataille R, Chappard D, Basle M. Quantifiable excess of bone resorption in monoclonal gammopathy is an early symptom of malignancy: a prospective study of 87 bone biopsies. *Blood – American Society of Hematology*. 1996 Junho. 87 (11): 4762-4769.
30. Pérez-Persona E, Vidriales M, Mateo G, Garcia-Sanz R, Mateos M, Coca A, et al. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood – American Society of Hematology*. 2007 Outubro. 110 (7): 2586-2592.
31. Bladé J., Rosinõl L., Cibeira M. Are all Myelomas preceded by MGUS?. *Blood – American Society of Hematology*. 2009 Maio. 113 (22): 5370.
32. Landgren O, Kyle R, Pfeiffer R, Katzmann J, Caporaso N, Hayes R, et al. MGUS consistently precedes multiple mieloma: a prospective study. *Blood – American Society of Hematology*. 2009 Maio. 113 (22): 5412-5417.
33. Weiss B, Abadie J, Verma P, Howard R, Kuehl W. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood – American Society of Hematology*. 2009 Maio. 113 (22): 5418-5422.
34. Wang An-Chuan, Wang I, Fudenberg H. Immunoglobulin Structure and Genetics. *The Journal of Biological Chemistry*. 1977 Outubro. 252 (20): 7192-7199.
35. Rosinõl L, Cibeira M, Montoto S, Rozman M, Esteve J, Filella X, Bladé J. MGUS: Predictors of Malignant Transformation and Recognition of na Envolving Type Characterized by a Progressive Increase in M Protein Size. *Mayo Clin Proc.*. 2007 Maio. 82 (4): 428-434.
36. Fanning S, Hussein M, Juturi J. Monoclonal Gammopathies of Uncertain Origin. . *Medscape CME: Emedicine Specialties from WebMD*. 2006 Junho.

37. Rajkumar S, Dispenzieri A, Kyle R. MGUS, Waldenström Macroglobulinemia, AL Amyloidosis, and Related Plasma Cells Disorders. *Mayo Clin Proc.* 2006 Maio. 81 (5): 693-703.
38. Bladé J. On the “Significance” on MGUS. *Mayo Clin Proc.* 2004 Julho. 79 (7): 855-856.
39. Rajkumar S, Kyle R. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2005 Outubro. 80 (10): 1371-1382.
40. Munshil M. MGUS: Genetic Vs Environmental Etiologies. *Mayo Clin Proc.* 2007 Dezembro. 82 (12): 1457-1458.
41. Katzmann J, Landgren O, Hsing A, Pfeiffer R, Kyle R, Yeboah E, et al. Prevalence of MGUS Among Men in Ghana. *Mayo Clin Proc.* 2007 Dezembro. 82 (2): 1468-1473.
42. Kyle R, Durie B, Belch A, Bensinger W, Bladé J, Boccadoro M, et al. Myeloma management guidelines: a consensus report from Scientific Advisors of the International Myeloma Foundation. *The Hematology Journal.* 2003. 4: 379-398.
43. Hutchison C, Plant T, Drayson M, Cockwell P, Kountouri M, Basnayake K, et al. Serum free light chain measurement aids the diagnosis of myeloma in patients with severe renal failure. *BMC Nephrology.* 2008 Setembro. 9 (11).
44. Oyajobi B. Multiple Myeloma/ Hypercalcemia. *BMC Arthritis Research and Therapy.* 2007 Junho. 9 (1).
45. Sonmez M, Akagun T, Topbas M, Cobanoglu U, Sonmez B, Yilmaz M, et al. Effect of pathologic fractures on survival in multiple myeloma patients: a case control study. *BMC Journal of Experimental & Clinical Cancer Research.* 2008 Junho. 27 (11).
46. Kyle R. Clinical aspects of multiple myeloma and related disorders including amyloidosis. *Pathologie-Biologie (Paris).* 1999 Fevereiro. 47 (2): 148-157.
47. Barclay L. Management of Multiple Myeloma Review. *Medscape CME: Medical News from WebMD.* 2006 Junho.
48. Grethlein S, Thomas L. Multiple Myeloma. *Medscape CME: Emedicine Specialties from WebMD.* 2008 Outubro.
49. Fonseca R, Greipp P, Anderson K, Bartologie B, Berenson J, Durie B, Kyle R. Multiple Myeloma Update: New Advances in Biology and Treatment. . *Medscape CME from WebMD.* 2000 Março.
50. Bensinger W, Ghobrial I, Smith M. Sequencing Choice in the Treatment of Multiple Myeloma. . *Medscape CME from WebMD.* 2009 Maio.
51. Voet D, Voet JG. *Biochemistry.* 2nd Edition. John Willey and Sons, Inc; 1995.
52. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology.* 2nd Edition. Edinburg London and Melbourne: Churchill Livingstone; 1989.

53. Kasper DL, Braunwald E, Fauci A, Hauser F, Longo D, Jameson JL. Harrison's: Principles of Internal Medicine. 16th Edition. McGraw-Hill: Medical Publishing Division; 2004.
54. McPhee SJ, Papadakis MA. Current Medical Diagnosis and Treatment. 48th Edition. McGraw-Hill: LANGE. 2009.
55. Godsby R, Kindt T, Kuby J, Osborne B. Immunology. 5th Edition. W.H. Freeman & Company. 2003.
56. Williams W, Beutler E, Erslev A, Lichtman M. Hematology. 4th Edition – International Edition. McGraw-Hill. 1999.
57. Burmester G-R, Pezzutto A. Color Atlas of Immunology. Stuttgart New York: Thieme. 2003.
58. Paul W. Fundamental Immunology. 5th Edition, Lippincott Williams & Wilkins Publishers. 2003.
59. Virella G. Medical Immunology. 6th Edition, New York London: informa healthcare. 2007.
60. Stites D, Terr A, Parslow T. Medical Immunology. 9th Edition. Appleton & Lange. 1997.
61. Lederman L. ASCO 2007 Highlights for Physicians. International Myeloma Foundation. 2007.
62. Pasqualetti P, Collacciani A, Casale R. Risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance: a case-referent study. Am J Hematol. 1996, 52:217-20.
63. Lynch HT, Ferrara K, Barlogie B, et al. Familial myeloma. N Engl J Med. 2008;359:152-157.
64. Landgren O, Sigurdur Y, Lynn R, Neil E, Blimark C, Wahlin A. Risk of plasma-cell and lymphoproliferative disorders among 14,621 first-degree relatives of 4,458 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance in Sweden. Blood – American Society of Hematology. 2009 Janeiro. 113 (22): 5418-5422.