

UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



**Análise retrospectiva do achado de pico monoclonal em
proteinogramas de rotina.**

Impacto no diagnóstico de gamopatias monoclonais.



Carla Sofia Fernandes

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Medicina

Covilhã, Junho de 2010

UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



**Análise retrospectiva do achado de pico monoclonal em
proteíogramas de rotina.
Impacto no diagnóstico de gamopatias monoclonais.**

Carla Sofia Fernandes

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Medicina, sob orientação da Prof.
Doutora Ana Macedo e co-orientação da Dra. Paula Gouveia

Covilhã, Junho de 2010

Dissertação submetida à Faculdade Ciências da Saúde para obtenção do grau de Mestre em Medicina.

Título: Análise retrospectiva do achado de pico monoclonal em electroforeses de rotina. Impacto no diagnóstico de gamapatias monoclonais.

Orientadora: Prof. Doutora Ana Macedo

Co-orientadora: Dra. Paula Gouveia

Por todo o apoio e carinho, dedico este trabalho,

Aos meus pais.

Agradecimentos

O meu especial obrigada:

- À Prof. Doutora Ana Macedo, pela sugestão do tema desta dissertação, por toda a disponibilidade e apoio, e pela transmissão de conhecimentos ao longo deste trabalho.
- À Dra. Paula Gouveia por toda a ajuda oferecida na interpretação das técnicas de electroforese e imunofixação, por todo o entusiasmo revelado nesta área e pelas sugestões fornecidas ao longo do trabalho para o seu aperfeiçoamento.
- Ao Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Cova da Beira pelos dados fornecidos para a elaboração do trabalho.
- Aos meus pais, por estarem sempre presentes apesar da distância física e por me apoiarem incondicionalmente em todos os momentos da minha vida.
- À minha família, em especial à minha prima Sílvia e Melody, por tudo aquilo que são e representam para mim.
- Aos meus amigos, por todo o apoio e carinho que sempre me manifestaram e pela ajuda valiosa nos momentos mais difíceis.

Resumo

Introdução: As gamopatias monoclonais constituem um grupo heterogéneo de patologias, caracterizado pela proliferação monoclonal de plasmócitos que produzem e secretam imunoglobulina ou fragmentos desta. Na maioria das vezes, trata-se de uma entidade benigna, usualmente referida como gamapatia monoclonal de significado indeterminado. Contudo, esta pode evoluir para uma situação mais grave como o mieloma múltiplo ou outras gamopatias malignas. A detecção de componente monoclonal através de electroforese e a identificação por imunofixação sérica e/ou urinária de rotina são fundamentais para o seu diagnóstico, dada a sua variabilidade de manifestações clínicas. O principal objectivo deste estudo é salientar a importância da componente laboratorial no diagnóstico das gamopatias monoclonais.

Métodos: Efectuou-se uma análise retrospectiva das electroforeses e imunofixações realizadas no Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Cova da Beira durante o ano de 2009.

Resultados: Neste estudo, foram incluídos 3407 indivíduos, 1983 (58,2%) do sexo feminino e 1424 (41,8%) do sexo masculino, com uma idade média de 65 anos. Durante o ano de 2009, a incidência de picos monoclonais foi de 3,55%. Os serviços de Hematologia e de Medicina Interna foram os que detectaram o maior número de picos monoclonais. Do total de indivíduos com componente monoclonal, 74 (61,2%) eram do sexo masculino e 47 (38,8%) do sexo feminino, apresentando uma idade média de 72 anos. A incidência das cadeias pesadas foi de 59,5% para IgG, 22,4% para IgM e por último 15,6% para IgA. Em relação às cadeias leves, a incidência de kappa foi de 62% e

de lambda 38%. Em 5 indivíduos foram detectados picos biclonais, tendo-se obtido uma incidência de 4,13%.

Conclusão: A electroforese de proteínas pode ser considerada um bom método de triagem para detecção precoce de gamapatias monoclonais e a imunofixação para confirmação diagnóstica e para a caracterização das gamapatias monoclonais.

Palavras-chave: Componente monoclonal; electroforese de proteínas; imunofixação; gamapatias monoclonais.

Abstract

Introduction: Monoclonal gammopathies comprise of a heterogeneous group of pathologies, characterized by the monoclonal proliferation of plasmocytes, which produce and secrete immunoglobulins or fragments of these. In the majority of cases, this is a benign entity known as monoclonal gammopathy of undetermined significance. However, it is possible that these gammopathies may lead to the development of more serious conditions, mainly multiple myeloma and other malignant gammopathies. Critical to the diagnosis of these immunoglobulinopathies is the routine detection of the monoclonal component by means of electrophoresis and serous/urinary immunofixation, as they may present with a wide variety of clinical manifestations. The main objective of this study is to emphasize the importance of laboratorial screening in the diagnosis of monoclonal gammopathies.

Methods: A retrospective study was carried out, consisting in the analysis of electrophoresis and immunofixations applied to patients of the Clinical Pathology Department of the Cova da Beira Hospital Centre throughout the year 2009.

Results: This study comprised of 3407 participants, 1983 (58.2%) females and 1424 (41.8%) males, with an average age of 65 years. Throughout the year 2009, the incidence of monoclonal peaks registered at the Cova da Beira Hospital Centre was 3.55%. The departments which detected the largest number of monoclonal peaks were Hematology and Internal Medicine. Within the total number of individuals presenting with monoclonal components, 74 (61.2%) were male and 47 (38.8%) were female, with an average age of 72 years. The incidence of heavy chains was 59.5% for IgG, 22.4% for IgM and 15.6 % for IgA. With respect to the light chains, the incidence of kappa

chains was 62% and lambda chains 38%. Biclinal peaks were found in 5 individuals with a corresponding incidence of 4.13%.

Conclusion: The electrophoresis of proteins may be considered as a good screening method for the early detection of monoclonal gammopathies, and immunofixation can be employed for confirmation of the diagnosis and characterization of the monoclonal gammopathies.

Key-words: monoclonal component; protein electrophoresis; immunofixation; monoclonal gammopathies.

Índice geral:

Dedicatória	iii
Agradecimentos	iv
Resumo	v
Abstract.....	vii
Índice de figuras	x
Índice de tabelas	xi
Índice de gráficos.....	xii
Lista de Abreviaturas.....	xiii
1. Introdução.....	1
1.1. Gamapatias monoclonais.....	2
1.2. Electroforese de proteínas	5
1.3. Imunofixação.....	8
1.4. Importância clínica.....	10
2. Objectivo do estudo	11
3. Materiais e Métodos	13
3.1. Tipo de estudo	14
3.2. Amostra de estudo.....	14
3.3. Método experimental.....	14
3.4. Análise de dados.....	15
4. Resultados.....	18
4.1. Descrição da amostra	18
4.2. Caracterização dos componentes monoclonais	20
5. Discussão	26
6. Referências	30

Índice de figuras

Figura 1. Estrutura básica da imunoglobulina.	2
Figura 2. Perfil normal de electroforese sérica em gel de agarose	6
Figura 3. Principais proteínas encontradas em cada fracção electroforética.....	6
Figura 4. Gráfico ilustrativo de pico monoclonal.....	7
Figura 5. Gel de agarose correspondente a dois proteinogramas com migração diferente da fracção de gamaglobulinas.	7
Figura 6. Imunofixação sérica de pacientes com gamapatias monoclonais IgG kappa e IgA lambda.....	8
Figura 7. Imunofixação sérica evidenciando um pico biclonal: IgG kappa e IgA kappa.	10
Figura 8. Aparelho semi-automático Hydrasis Phadia ®.	14
Figura 9. Cobas 6000 Roche diagnóstico ®.	15

Índice de tabelas

Tabela 1. Associação de gamapatia monoclonal com outras patologias	4
Tabela 2. Critérios diagnósticos para GMSI e mieloma múltiplo	5
Tabela 3. Percentagem de tipos de Igs referenciados para mieloma múltiplo e outras gamopatias malignas.	9
Tabela 4. Tipos de Igs descritos nas GMSI.	9
Tabela 5. Intervalos de valores normais de referência para doseamento de Imunoglobulinas no Serviço de Patologia Clínica do CHCB.....	15
Tabela 6. Distribuição da amostra por grupos etários em percentagens.	19
Tabela 7. Tabela de frequências do achado de pico monoclonal em electroforeses de proteínas.....	20
Tabela 8. Percentagem de picos monoclonais identificados por serviço requisitante de electroforese de proteínas.	21
Tabela 9. Tabela de frequências da idade dos indivíduos com pico monoclonal.....	22
Tabela 10. Caracterização dos picos biclonais identificados na amostra quanto ao sexo e tipo de Ig.	24

Índice de gráficos

Gráfico 1. Caracterização geral da amostra segundo o género.....	18
Gráfico 2. Caracterização da amostra segundo género por grupos etários.....	19
Gráfico 3. Serviços requisitantes de electroforese de proteínas durante o ano de 2009.	20
Gráfico 4. Caracterização dos picos monoclonais segundo o género.....	22
Gráfico 5. Distribuição dos indivíduos com pico monoclonal segundo a idade e o género.	23
Gráfico 6. Caracterização dos picos monoclonais identificados por imunofixação.....	23
Gráfico 7. Caracterização dos picos monoclonais identificados relativamente ao tipo de cadeias leves presentes.	24
Gráfico 8. Caracterização dos picos monoclonais identificados quanto ao tipo de cadeias presentes.....	24

Lista de Abreviaturas

AL	Amiloidose
CHCB	Centro Hospitalar Cova da Beira
CMV	Citomegalovírus
EUA	Estados Unidos da América
GMSI	Gamapatia monoclonal de significado indeterminado
Hb	Hemoglobina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IC _{95%}	Intervalo de confiança de 95%
Ig	Imunoglobulina
k	Kappa
MM	Mieloma Múltiplo
MW	Macroglobulinemia de Waldenström
λ	Lambda

Introdução

1. Introdução

1.1. Gamopatias monoclonais

As gamopatias monoclonais, constituem um grupo de patologias caracterizado pela proliferação monoclonal de plasmócitos que produzem e secretam imunoglobulina (Ig) ou fragmentos de Ig, que pode ser detectada por electroforese e imunofixação sérica e/ou urinária (1). Cada imunoglobulina é composta por duas cadeias polipeptídicas pesadas da mesma classe e subclasse (IgG 1 a 4, IgA 1 e 2, IgD, IgE, IgM) e duas cadeias polipeptídicas leves do mesmo tipo, kappa e lambda (1-4). A estrutura básica das imunoglobulinas é ilustrada na figura 1.

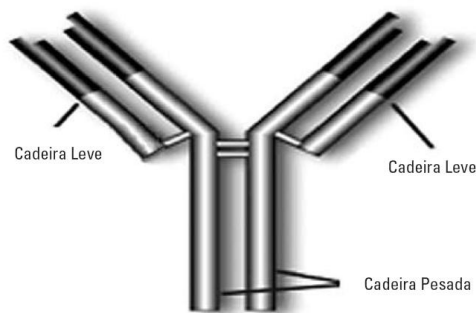


Figura 1. Estrutura básica da imunoglobulina (5).

Estas patologias podem reflectir um processo patológico maligno ou ser benignas. O mieloma múltiplo (MM), a amiloidose (AL), a macroglobulinemia de Waldenström (MW), o plasmocitoma e a doença das cadeias pesadas são as principais gamopatias monoclonais malignas. Na maioria das situações a expansão monoclonal de plasmócitos é considerada benigna, denominando-se gamapatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI) (6-8).

As manifestações clínicas destas patologias apresentam uma grande variabilidade, podendo ir de um indivíduo assintomático até uma associação de vários

sinais e sintomas inespecíficos com envolvimento de vários órgãos. Por esses motivos, as gamopatias monoclonais, principalmente as GMSI, são pouco diagnosticadas. Kyle *et al.* (9), demonstraram que apenas 22% dos pacientes com GMSI eram diagnosticadas clinicamente. Apesar de serem entidades assintomáticas, actualmente está demonstrado que apresentam um risco de progressão de 1% por ano para mieloma múltiplo, amiloidose, macroglobulinemia de Waldenström e outras gamopatias malignas (10).

Na literatura, são raros os estudos sobre incidência de picos monoclonais. No entanto, alguns estudos europeus mostram que a prevalência das gamopatias monoclonais é inferior na Europa e na Ásia, comparativamente ao observado nos EUA e em África (11-13). Recentemente, Tamini *et al.* (2) apresentaram um trabalho no qual foram analisados 6624 soros, tendo sido encontrada uma percentagem de 7% de monoclonalidade. Em 2009, um estudo português realizado por Santos (14) que incluía 2806 pacientes, obteve uma incidência de 2,9% de gamopatias monoclonais.

O aparecimento de um pico monoclonal no sangue e/ou urina é algo bastante comum na prática clínica diária. Kyle *et al.* (11), além de outros autores referem um aumento desta ocorrência relacionado com a idade (2, 11-15) e uma maior incidência no sexo masculino: 59% (2) e 56,8% (15). A identificação do componente monoclonal é essencial para o diagnóstico, o prognóstico, o tratamento e a avaliação da eficácia do tratamento das gamopatias monoclonais. Para além disso, também nos permite realizar diagnóstico diferencial com as gamopatias policlonais, o que é importante visto as primeiras estarem associadas a processos malignos ou potencialmente malignos enquanto as gamopatias policlonais estão mais frequentemente relacionadas a processos inflamatórios ou reactivos, que regridem espontaneamente (1, 11).

Vários estudos mostram que as gamopatias monoclonais podem estar associadas a diversas outras doenças (4, 8, 16). Na seguinte tabela, encontram-se as principais patologias associadas às gamopatias monoclonais (tabela 1).

Tabela 1. Associação de gamapatia monoclonal com outras patologias (4).

Hematológicas	Linfomas, leucemia linfóide crónica, doença de von willebrand adquirida, síndrome do anticorpo antifosfolipóide, anemia perniciosa, mielodisplasia, policitemia vera, doença de Gaucher e aplasia pura da série eritrocitária
Reumatológicas	Artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistémico e miosite
Neurológicas	Neuropatia sensoriomotora periférica, miastenia gravis e polirradiculoneuropatia crónica inflamatória desmielinizante
Dermatológicas	Líquen mixedematoso, pioderma gangrenoso, xantomatose plana e sarcoma de Kaposi
Imunossupressoras	HIV e pós transplante (associado a CMV)

CMV- citomegalovírus; HIV - vírus da imunodeficiência humana

A caracterização das gamopatias monoclonais não se baseia apenas na detecção do componente monoclonal. Para além da detecção, identificação e quantificação da proteína monoclonal produzida é importante a realização de outros estudos, como por exemplo: medulograma para avaliação do grau de infiltração plasmocitária e pesquisa de lesões orgânicas relacionadas (1, 4, 16). O carácter benigno/maligno é estabelecido após avaliação de um conjunto de critérios (1). Na tabela 2, encontram-se os critérios diagnósticos para GMSI e mieloma múltiplo, de acordo com o Grupo de Trabalho Internacional sobre Mieloma.

Tabela 2. Critérios diagnósticos para GMSI e mieloma múltiplo (1, 4).

GMSI	Mieloma Múltiplo
Proteína monoclonal sérica e/ou urinária de baixa concentração: IgG sérica <3 g/dl; IgA sérica <2g/dl; k ou λ urinária < 1g/24h; % plasmócitos na medula óssea < 10%;	Proteína monoclonal presente sérica e/ou urinária; % plasmócitos na medula óssea > 10% ou plasmocitoma;
Cálcio, hemoglobina e creatinina sérica normais; Ausência de lesões ósseas no Rx simples ou em outros métodos.	Cálcio sérico > 0,25mmol/l acima do limite normal ou >2,75 mmol/l; Insuficiência renal: creatinina >173 mmol/l; Anemia: Hb 2g/dl abaixo do limite normal ou Hb <10 g/dl; Lesões ósseas: osteólise ou osteoporose com fracturas compressivas; Outros: Hiperviscosidade sintomática, amiloidose e infecções bacterianas recorrentes (>2 episódios/ano).

k- kappa; λ- lambda; Hb- hemoglobina

1.2. Electroforese de proteínas

A electroforese de proteínas é o teste de rotina mais utilizado para investigação de anomalias proteicas presentes no sangue, reflexo de patologias hepáticas, metabólicas, renais, hematológicas, entre outras. Trata-se de um método laboratorial simples e acessível que permite separar as proteínas presentes no soro em 5 fracções principais de acordo com as suas cargas eléctricas e peso molecular (17).

As amostras de soro são aplicadas sobre um meio de suporte de gel de agarose e submetidas a um potencial eléctrico que provoca a migração das proteínas. A sua visualização ocorre após a aplicação de um corante sobre o gel, que permite a formação de bandas com a seguinte denominação: albumina, alfa-1-globulina, alfa-2-globulina, betaglobulina e gamaglobulina (figura 2).

Estas fracções são quantificadas por densitometria e originam o seguinte gráfico, que permite a sua identificação.

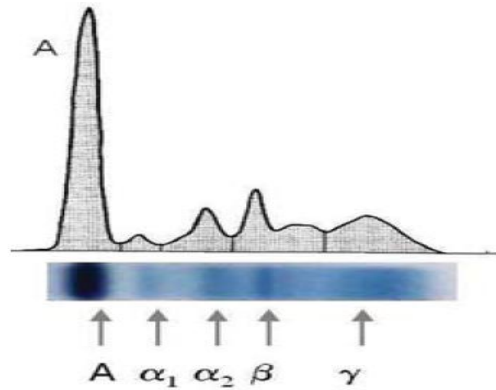


Figura 2. Perfil normal de electroforese sérica em gel de agarose (18).

A fracção gama é composta pelas cinco maiores classes de imunoglobulinas que, por ordem decrescente de concentração no plasma, são a IgG, a IgA, a IgM, a IgD e a IgE (figura 3).

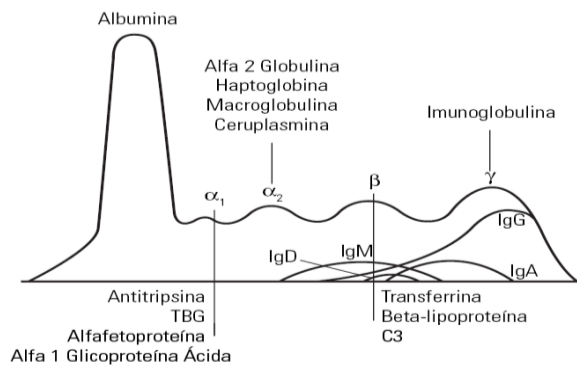


Figura 3. Principais proteínas encontradas em cada fracção electroforética (5).

Actualmente, são utilizados dois tipos de metodologia de electroforese: a electroforese convencional por zona e a electroforese capilar. Neste estudo foi efectuada a electroforese convencional por zona porque é a utilizada habitualmente no Serviço de Patologia Clínica do CHCB.

O aumento da proteína monoclonal pode ser visualizado, na maior parte das situações como um pico na fracção gama, como se pode ver na figura 4.

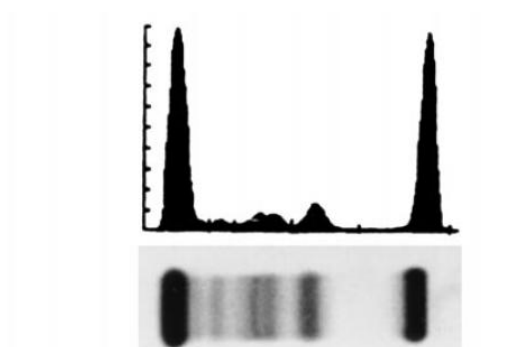


Figura 4. Gráfico ilustrativo de pico monoclonal (18).

Em algumas situações, o pico monoclonal pode estar presente noutras fracções, como por exemplo na fracção beta, como ilustrado na figura 5.



Figura 5. Gel de agarose correspondente a dois proteinogramas com migração diferente da fracção de gamaglobulinas: 19- Banda monoclonal na fracção gama; 20- Banda monoclonal na fracção beta.

Contudo, nem sempre uma proteína monoclonal se observa na electroforese. O clone derivado da célula B alterada, necessita de se multiplicar até cerca de 1 bilião de células para produzir proteína monoclonal suficiente para ser visível na electroforese. A sensibilidade da electroforese na detecção da proteína monoclonal é de cerca de 0.2 g/dL (17).

1.3. Imunofixação

Após a detecção de um pico ou banda monoclonal numa electroforese de proteínas, deverá ser realizada uma imunofixação para confirmar a presença de proteína M e identificar o tipo de cadeias presentes (19, 20). Na presença de componente monoclonal é identificada uma banda bem definida associada a uma classe de cadeia pesada (IgM, IgG e IgA) e uma banda com o mesmo padrão de migração em relação às cadeias leves (kappa e lambda), como é possível observar na figura 6.

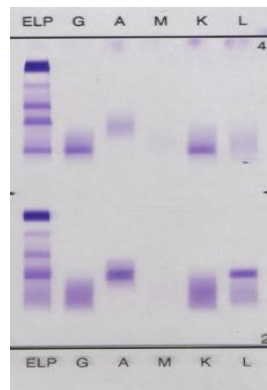


Figura 6. Imunofixação sérica de pacientes com gamopatias monoclonais IgG kappa e IgA lambda.

A imunofixação sérica e/ou urinária está portanto indicada sempre que seja detectado um pico monoclonal na electroforese e quando houver suspeita clínica de alguma gamapatia monoclonal maligna mesmo que o perfil electroforético seja aparentemente normal (20), pois como foi referido anteriormente se a proteína monoclonal for inferior a 0.2 g/dL pode não ser detectada na electroforese.

Segundo vários estudos realizados, a IgG é o tipo de cadeia pesada mais frequentemente encontrada nas gamopatias monoclonais (2, 11, 13-15). Em relação à IgM e à IgA, a sua incidência depende do tipo de gamapatia. No mieloma múltiplo e em outras gamopatias monoclonais malignas, Malacrida *et al.* (13) além de outros autores observaram que depois da IgG, a Ig mais frequente foi a IgA, seguida pelas cadeias

leves livres, e, na mesma proporção, pela IgM e pela IgD (13, 21, 22). Kyle *et al.* (11), além de muitos outros autores, que estudaram GMSI, identificaram a IgM como sendo mais frequente do que a IgA (2, 11, 14). Nas tabelas 2 e 3, encontram-se os resultados obtidos relativamente ao tipo de Ig, nos estudos mais referenciados para GMSI e mieloma múltiplo.

Tabela 3. Percentagem de tipos de Igs referenciados para mieloma múltiplo e outras gamopatias malignas.

Localização	Referência	Tamanho da amostra de estudo	Técnica laboratorial	IgG	IgA	Cadeias leves livres	IgD	IgM	Biclonal
Itália	Malacrida <i>et al.</i> (13)	102.000	Acetato de celulose	60%	25%	11%	1%	1%	1%
EUA	Lin P. (21)	Desconhecida	Desconhecida	53%	22%	20%	1,5%	0,5%	
Islândia	Steingrimsdotir H <i>et al.</i> (22)	31.000	Gel de agarose e imunofixação	58,8%	32,5%			8,5%	

Tabela 4. Tipos de Igs descritos nas GMSI.

Localização	Referência	Tamanho da amostra	Técnica laboratorial	Cadeias pesadas			Cadeias leves		Biclonal
				IgG	IgM	IgA	Kappa	Lambda	
EUA	Kyle <i>et al.</i> (11)	21.463	Gel de agarose	68,9%	17,2%	10,8%	62%	37,9%	3%
França	Didier Le Carrer (15)	2200	Desconhecida	46%	38%	9%	67%	33%	3%

Em raras ocasiões, a electroforese produz dois picos simultaneamente, como se observa na figura 7, sugerindo a existência de duas imuglobulinas monoclonais, ao que se dá o nome de pico biclonal (11, 13, 15). Apesar da raridade dos casos reportados, alguns estudos referem que a presença de bandas biclonais sugere mau prognóstico e uma possível associação com uma patologia maligna (23, 24).

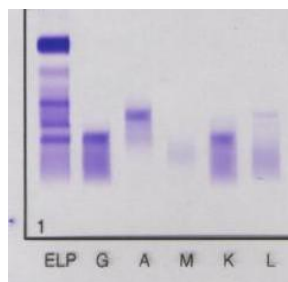


Figura 7. Imunofixação sérica evidenciando um pico biclonal: IgG kappa e IgA kappa.

1.4. Importância clínica

O tema deste trabalho surgiu da importância de alertar os profissionais de saúde para o diagnóstico precoce de gamopatias monoclonais através da detecção de picos monoclonais em electroforeses de rotina. São vários os estudos que mostram que a maioria dos pacientes com mieloma múltiplo e outras gamopatias malignas, quando são diagnosticados já se encontram em fases avançadas da doença, com repercussão importante na sua sobrevivência (4). Dada a variabilidade de manifestações clínicas deste grupo de patologias, a electroforese de proteínas tem um papel essencial como ferramenta auxiliar na confirmação do diagnóstico de gamopatias monoclonais.

Objectivo do estudo

2. Objectivo do estudo

O presente trabalho teve como principais objectivos:

- Avaliar a importância do achado de pico monoclonal em proteinogramas de rotina como contributo para a suspeita de diagnóstico de gamopatias monoclonais;
- Conhecer o valor da realização de imunofixação sérica perante a suspeita de proteína monoclonal em análises de rotina.

Materiais e Métodos

3. Materiais e Métodos

3.1. Tipo de estudo

O presente estudo pode ser classificado como retrospectivo, em virtude de terem sido analisados dados relativos ao período entre Janeiro de 2009 e Dezembro de 2009.

3.2. Amostra de estudo

A amostra deste estudo compreende as electroforeses de proteínas realizadas no Serviço de Patologia Clínica durante o ano de 2009, a indivíduos com idade ≥ 40 anos.

3.3. Método experimental

As amostras de soro dos pacientes foram submetidas a electroforese de proteínas de alta sensibilidade em gel de agarose através do aparelho semi-automático Hydrasis Phadia ® (figura 8). As proteínas separadas foram coradas pelo negro de amido e quantificadas por densitometria.

A identificação dos picos monoclonais foi efectuada por imunofixação através da utilização do mesmo equipamento. O corante utilizado foi o violeta ácido.



Figura 8. Aparelho semi-automático Hydrasis Phadia ®.

(Fonte: http://notfalllabor.de/Firmen/40-0-0-0-50-0-0-_.html)

O doseamento das Imunoglobulinas foi realizado por turbidimetria no Cobas 6000 Roche diagnóstico ® (figura 9). Na tabela 4 estão representados os valores normais de referência no Serviço de Patologia Clínica no CHCB.



Figura 9. Cobas 6000 Roche diagnóstico ®.

(Fonte: <https://www.cobas-roche.co.uk/site/cobas6000.aspx>)

Tabela 5. Intervalos de valores normais de referência para doseamento de Imunoglobulinas no Serviço de Patologia Clínica do CHCB

IGs	Valores Normais (mg/dl)
IgA	70-400
IgG	700-1600
IgM	40-230
Cadeias livres	
Kappa	138-375
Lambda	93-242

3.4. Análise de dados

A recolha dos dados foi efectuada através da aplicação informática do Serviço de Patologia Clínica do CHCB, sendo estes compilados numa base de dados no programa informático *Microsoft Excel Office 2007*.

Foi efectuada uma análise documental descritiva utilizando o *Microsoft Office Excel 2007* e o programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 17.0.

Resultados

4. Resultados

4.1. Descrição da amostra

Durante o período a que se refere o nosso estudo (Janeiro a Dezembro de 2009), realizaram-se 5016 electroforeses de proteínas no Serviço de Patologia Clínica do CHCB. Foram retirados da análise estatística os dados referentes a proteinogramas efectuados a indivíduos com menos de 40 anos e os repetidos a um mesmo indivíduo, pelo que os resultados apresentados correspondem apenas a 3407 soros.

A distribuição por sexos da amostra foi de: 1983 (58,2%) mulheres e 1424 (41,8%) homens (gráfico 1).

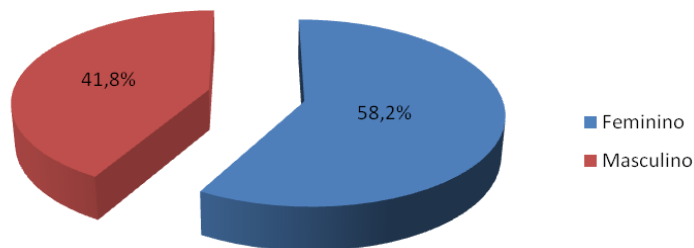


Gráfico 1. Caracterização geral da amostra segundo o género.

Os indivíduos objecto deste estudo apresentavam idades compreendidas entre os 40 e os 96 anos. A média de idade foi de $65 \pm 13,047$ anos.

Na tabela 5 e no gráfico 2, encontram-se os resultados da caracterização da amostra por género e grupo etário.

Tabela 6. Distribuição da amostra por grupos etários em percentagens.

Grupos etários	Percentagem	Percentagem cumulativa
40-49	14,9	14,9
50-59	21,8	36,7
60-69	22,1	58,8
70-79	26,3	85,1
80-89	13,7	98,8
90-99	1,2	100,0
Total	100,0	

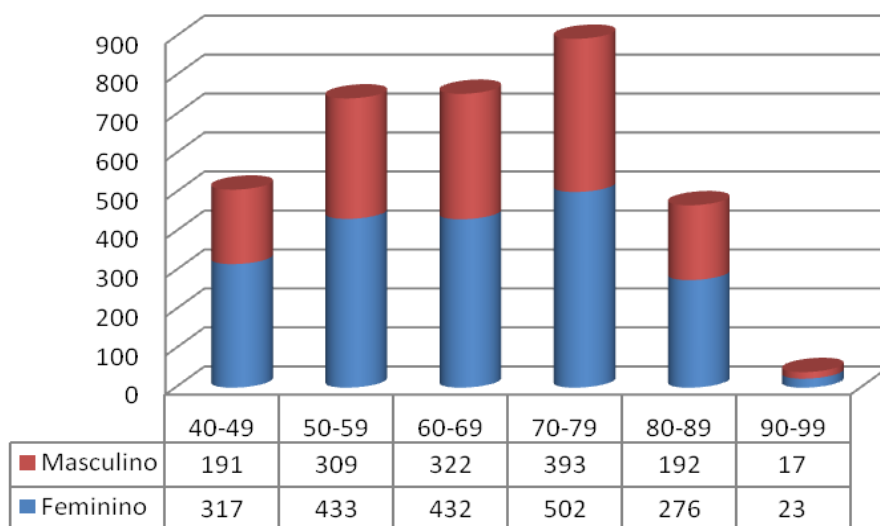


Gráfico 2. Caracterização da amostra segundo género por grupos etários.

Relativamente aos serviços que requisitaram electroforeses, observou-se, como se pode ver no gráfico 3, que o serviço com o maior número de requisições foi Medicina Interna (39,9%), seguido por Pneumologia (11,2%) e pelo Centro de Saúde (10,9%).

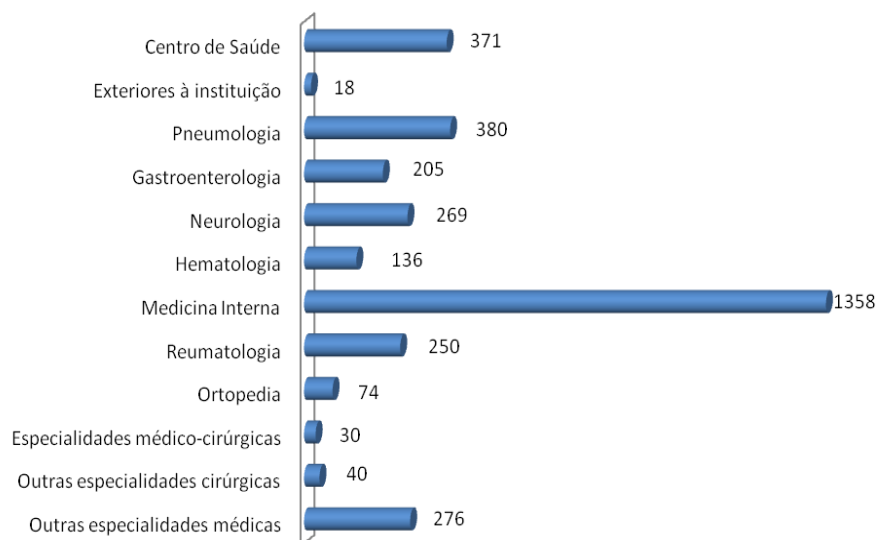


Gráfico 3. Serviços requisitantes de electroforese de proteínas durante o ano de 2009.

4.2. Caracterização dos componentes monoclonais

Dos 3407 soros submetidos a electroforese de proteínas foram identificados 174 picos monoclonais (5,1%) e 5 oligoclonais (0,1%). Em 8 casos a interpretação da electroforese foi inconclusiva, tendo sido sugerida reavaliação (tabela 6).

Tabela 7. Tabela de frequências do achado de pico monoclonal em electroforeses de proteínas.

	Perfil oligoclonal	Pico monoclonal	Possível pico monoclonal	Sem pico monoclonal	Total
Frequência	5	174	8	3220	3407
Percentagem	0,1	5,1	0,2	94,5	100,0
Percentagem Cumulativa	0,1	5,3	5,5	100,0	

Dos 174 doentes com pico monoclonal, 53 já tinham sido anteriormente identificados. Portanto, a incidência de picos monoclonais no ano 2009 no Serviço de Patologia Clínica do CHCB foi de 3,55%, IC_{95%} [2,97% - 4,23%].

Na tabela 7, encontram-se representados os serviços que requisitaram electroforeses com base no número de picos monoclonais identificados.

Tabela 8. Percentagem de picos monoclonais identificados por serviço requisitante de electroforese de proteínas.

Serviço requisitante	Nº de picos monoclonais identificados	Nº total de electroforeses Pedidas	Percentagem de picos monoclonais(%)
Centro de Saúde	1	371	0,27
Medicina Interna	56	1358	4,12
Hematologia	18	136	13,24
Pneumologia	7	380	1,84
Neurologia	7	269	2,6
Reumatologia	7	250	2,8
Gastrenterologia	6	205	2,93
Outras especialidades médicas	11	276	3,99
Ortopedia	3	74	4,05
Outras especialidades cirúrgicas	2	30	6,67

Os serviços com maior rendimento na identificação de picos monoclonais foram o serviço de Hematologia (13,2%), Medicina Interna (4,2%), Ortopedia (4,1%) e Gastrenterologia (2,9%). Os pedidos realizados pelo Centro de Saúde e pela Pneumologia foram os que apresentaram uma menor percentagem de picos monoclonais.

Do total de indivíduos com componente monoclonal, 74 (61,2%) eram do sexo masculino e 47 (38,8%) do sexo feminino (gráfico 4).

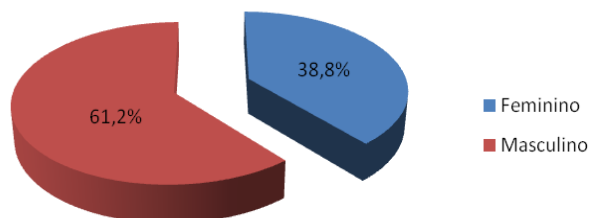


Gráfico 4. Caracterização dos picos monoclonais segundo o género.

A idade média destes indivíduos foi de $72 \pm 12,296$ anos. A distribuição dos indivíduos por grupos etários mostra um aumento da detecção de picos monoclonais com a idade, como se pode ver no gráfico 5 e na tabela 8. Mais de metade dos indivíduos apresentavam idade superior a 74 anos.

Tabela 9. Tabela de frequências da idade dos indivíduos com pico monoclonal.

Idade	Frequência	Porcentagem	Porcentagem cumulativa
40-49	7	5,8	5,8
50-59	16	13,2	19,0
60-69	23	19,0	38,0
70-79	33	27,3	65,3
80-89	40	33,1	98,3
90-99	2	1,7	100,0
Total	121	100,0	

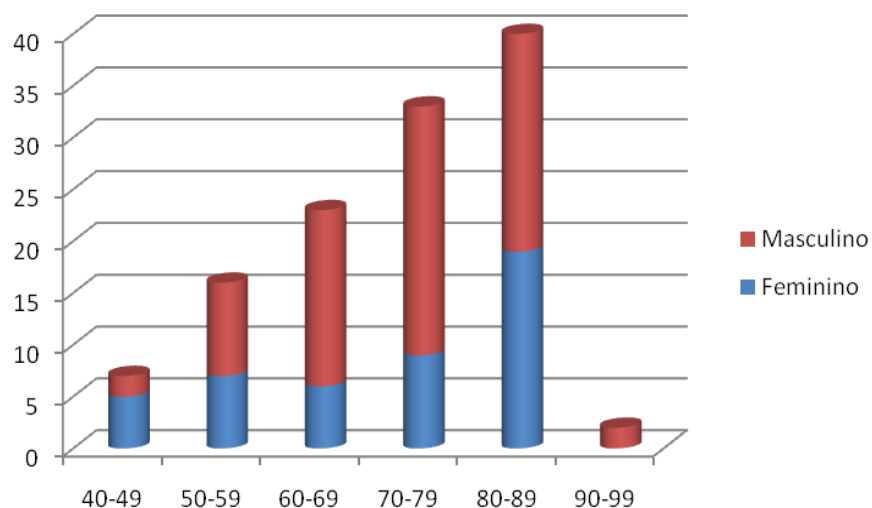


Gráfico 5. Distribuição dos indivíduos com pico monoclonal segundo a idade e o género.

Depois de realizada imunofixação, identificou-se a incidência de cada um dos diferentes tipos de cadeia. Como se pode verificar pela observação do gráfico 6 e 8, em relação às cadeias pesadas o tipo mais frequente foi a IgG (59,5%), IC_{95%} [50,6-68,4%], seguida pela IgM (22,4%), IC_{95%} [14,8-30%] e pela IgA (15,6%), IC_{95%} [9-22,2%]. A expressão de cadeias leves livres isoladamente correspondeu apenas a 2,6% do total da amostra sendo todos os casos lambda (Gráfico 6 e 8).

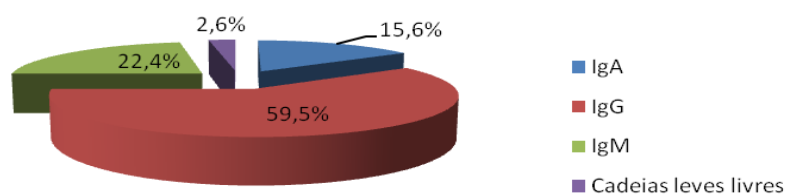


Gráfico 6. Caracterização dos picos monoclonais identificados por imunofixação.

Em relação às cadeias leves, a incidência kappa foi de 62%, IC_{95%} [53,2-70,8%] e de lambda 38%, IC_{95%} [29,2-46,8%], como se pode ver no gráfico 7 e 8.

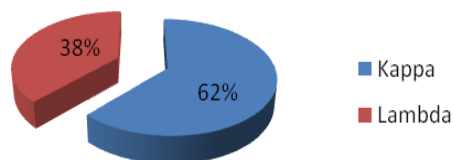


Gráfico 7. Caracterização dos picos monoclonais identificados relativamente ao tipo de cadeias leves presentes.

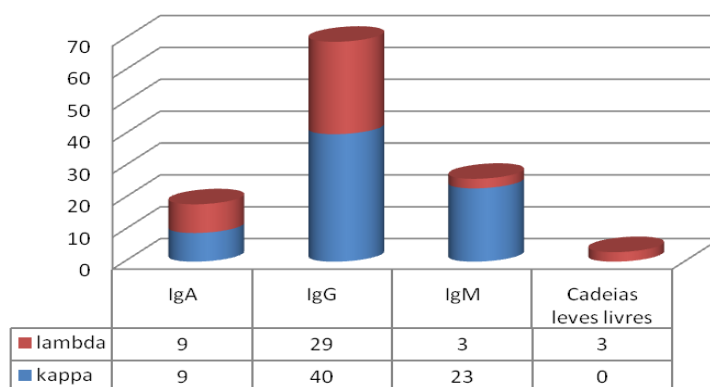


Gráfico 8. Caracterização dos picos monoclonais identificados quanto ao tipo de cadeias presentes.

Dos 121 picos monoclonais identificados, 5 apresentavam pico biclonal: 4 do sexo masculino e 1 do sexo feminino. A incidência de picos biclonais foi de 4,13%, IC_{95%} [2,33-5,93%]. As combinações das gamopatias biclonais foram distribuídas como se pode ver na tabela 9.

Tabela 10. Caracterização dos picos biclonais identificados na amostra quanto ao sexo e tipo de Ig.

Tipo de Ig	Sexo
IgM kappa; IgM lambda	Masculino
IgG lambda; cadeias leves livres lambda	Feminino
IgG lambda; IgM kappa	Masculino
IgG kappa; IgA lambda	Masculino
IgG kappa; IgM lambda	Masculino

Discussão

5. Discussão

O presente estudo teve como objectivo principal demonstrar a importância do achado de pico monoclonal em electroforeses de proteínas de rotina para o diagnóstico de gamopatias monoclonais. Determinou-se igualmente a incidência de picos monoclonais durante o ano de 2009 no Serviço de Patologia Clínica do CHCB e compararam-se os resultados encontrados relativamente ao sexo, idade e serviço de proveniência do pedido. Para além disso, foram caracterizados os picos monoclonais por imunofixação de forma a determinar a incidência dos diferentes tipos de imunoglobulinas.

A amostra do estudo foi constituída por indivíduos com mais de 40 anos que realizaram electroforeses e imunofixações no período de tempo do estudo. A idade foi escolhida com base em dados da literatura que referem que apenas 2% das gamopatias monoclonais ocorrem em indivíduos com idade inferior a 40 anos (4, 6).

No ano de 2009, a incidência de picos monoclonais detectados por electroforese de proteínas foi de 3,55%, IC_{95%} [2,97- 4,23%]. Os resultados obtidos coincidem com os dados descritos na literatura por Santos, em Portugal, (2,9%) (14), mas são ligeiramente inferiores aos encontrados por Tamini *et al.*, (7%) (2). Alguns estudos mostram que a prevalência de gamopatias monoclonais varia de acordo com factores ambientais e genéticos (11), o que pode explicar essas diferenças, tendo em conta que os estudos foram realizados em países diferentes, Portugal (14) e Arábia Saudita (2), respectivamente.

Neste estudo foi possível observar que a electroforese de proteínas é um teste de rotina solicitado por vários serviços hospitalares. Os serviços de Hematologia, Medicina

Interna, Ortopedia, Gastreterologia e Reumatologia foram os serviços que detectaram o maior número de picos monoclonais. Isto pode ser explicado pelo facto de a maioria das manifestações clínicas das gamopatias monoclonais fazer diagnóstico diferencial com patologias do âmbito destas especialidades, tendo esta associação já sido reportada por vários estudos (4, 8, 16).

No presente trabalho, observou-se um aumento da detecção de picos monoclonais com a idade, existindo apenas um decréscimo na faixa etária dos [90-99], talvez pelo número de indivíduos estudados ser menor. Estes resultados são coincidentes com os dados da literatura (2, 6, 7, 10-16). A média de idade destes indivíduos (72 anos) também está de acordo com alguns estudos publicados que referem uma média de 70 (6) e 72 anos (10) para o diagnóstico de gamopatias monoclonais.

Em relação ao sexo, observamos um predomínio do sexo masculino nos indivíduos com pico monoclonal, o que também se encontra de acordo com o descrito por vários estudos (2,11-16).

Quanto aos dados fornecidos pela imunofixação, relativamente às cadeias pesadas, mais de metade dos casos foram IgG (60%), coincidindo com os dados apresentados por Tamini *et al.* (2), Kyle *et al.* (11) e Santos *et al.* (14), respectivamente 60%, 70% e 70,4%. No nosso estudo, obteve-se uma incidência de IgM superior a IgA, o que está de acordo com os dados da literatura relativos às gamopatias monoclonais de significado indeterminado (11, 15). No mieloma múltiplo, Malacrida *et al.* (13) e Steingrimsdottir H *et al.* (22) referem que a IgA é mais frequente que a IgM. Relativamente às cadeias leves, os nossos resultados também são coincidentes com os descritos na literatura (11, 15). Mais de metade das cadeias leves são Ig kappa (72%), tal como foi observado por Kyle *et al.* (11) e Tamini *et al.* (2).

A incidência de bandas biclonais foi de 4,13%, IC_{95%} [2,33-5,93%]. Estes resultados estão em concordância com os dados descritos por Malacrida *et al.* (13), Kyle *et al.* (11, 24) e Tamini *et al.* (2). Alguns estudos sugerem que o aparecimento de picos biclonais está associado a um mau prognóstico (23, 24). No entanto, devido à raridade dos casos reportados a sua importância ainda é controversa. Torna-se, portanto, necessária a realização de estudos que permitam avaliar se a presença de picos biclonais estão relacionados com o desenvolvimento de gamopatias malignas ou se estes representam apenas achados laboratoriais.

Para o diagnóstico das gamopatias monoclonais é essencial para além da análise laboratorial, que é efectuada habitualmente por electroforese/imunofixação sérica e/ou urinária, é fundamental, também, o diagnóstico clínico. No nosso estudo, apenas foi valorizada a componente laboratorial na caracterização das gamopatias monoclonais além dos dados de identificação do doente (sexo e idade) e do serviço de proveniência destes. Seria muito valioso, de futuro, complementar estes resultados com outros parâmetros clínicos da doença a fim de poder avaliar a importância prognóstica destes achados nos proteinogramas de rotina.

Tendo em conta que a incidência das gamopatias monoclonais aumenta com a idade, conforme se encontra descrito na literatura, e, actualmente se observa um envelhecimento da população seria também interessante realizar um estudo prospectivo comparando a incidência de componente monoclonal ao longo dos anos com os resultados já conhecidos, o que nos forneceria dados importantes sobre a evolução da incidência das gamopatias monoclonais.

Para além disso, seria também importante o seguimento ao longo dos anos dos doentes com gamopatias monoclonais de significado indeterminado de forma a

monitorizar a possível evolução para gamopatias malignas. A identificação de características ou de critérios de diagnóstico capazes de prever uma evolução maligna seria de extrema importância.

Em resumo, embora os nossos resultados não apontem novidades em relação ao descrito na literatura por outros países, é extremamente importante a realização de estudos deste tipo para conhecer a realidade da nossa região. Apesar das limitações do estudo é possível concluir que a electroforese de proteínas é um bom método de triagem para o diagnóstico precoce de gamopatias monoclonais e a imunofixação apresenta um elevado valor diagnóstico, permitindo confirmar a presença de componente monoclonal e a identificação do tipo de imunoglobulina presente.

Referências

Referências

1. 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. *Br J Haematol* 2003;121:749-57.
2. Tamimi W, Alaskar A, Alassiri M, Alsaeed W, Alarifi SA, Alenzi FQ et al. Monoclonal gammopathy in a tertiary referral hospital. *Clin Biochem* 2010;43:709-13.
3. Attaelmannan M, Levinson SS. Understanding and identifying monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 2000;46:1230-8.
4. Faria RMD, Silva ROP. Gamapatias monoclonais – critérios diagnósticos e diagnósticos diferenciais. *Rev Bras Med* 2007;29(1):17-22.
5. Silva ROP, Lopes AF, Faria RMD. Electroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica. *Rev Assoc Med Minas Gerais* 2008;18(2):116-22.
6. Madan S, Greipp PR. The incidental monoclonal protein: Current approach to management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Blood Rev* 2009;257-65.
7. Kyle RA, Rajkumar SV. Epidemiology of the plasma-cell disorders. *Best Prac Res Clin Haematol* 2007;20(4):637-64.
8. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Best Prac Res Clin Haematol* 2005;18(4):689-707.
9. Kyle RA, Kumar S. The significance of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica* 2009;94(12):1641-44.
10. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak MF et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2002;346:546-9.
11. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak MF et al. Prevalence of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *N Eng J Med* 2006;354:1362-9.

12. Saleun JP, Vicariot M, Deroff P, Morin JF. Monoclonal gammopathies in the adult population of Finistère, France. *J Clin Pathol* 1982;35:63-8.
13. Malacrida V, Francesco D, Baufi G, Porta FA, Riches PG. Laboratory investigation of monoclonal gammopathy during 10 years of screening in general hospital. *J Clin Pathol* 1987;40:793-7.
14. Santos PIMG. Avaliação da incidência de gamapatias monoclonais nos doentes da área Centro Hospitalar Tâmega e Sousa, EPE. Tese de Mestrado. Universidade do Porto Faculdade de Farmácia 2009.
15. Didier Le Carrer. Electrophoresis immunofixation of serum protein, illustrated interpretations. 2nd ed. Laboratoires Sebia 1994;13-99.
16. Garrido MJM, Ponce CG, Guirado-Risueño M, Sevilla CM, Mena AC. Diagnóstico diferencial de las gammopatías monoclonales. *An Med Interna* 2006;23(11):546-51.
17. Attaelmannan M, Levinson SS. Understanding and identifying monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 2000;46:1230-8.
18. Bottini PV. Testes Laboratoriais para avaliação do componente monoclonal. *Rev Bras Med* 2007;29(1):23-6.
19. Alexanian R, Weber D, Liu F. Differential Diagnosis of Monoclonal Gammopathies. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123(2):108-13.
20. Keren DF, Alexanian R, Goeken JA, Gorevic PD, Kyle RA, Tomar RH. Guidelines for Clinical and Laboratory Evaluation of Patients With Monoclonal Gamopathies. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123(2):106-7.
21. Lin P. Plasma cell neoplasms. *Diagn histopathol* 2009;15(3):134-41.
22. Steingrimsdottir H, Haraldsdottir V, Olafsson I, Gudnason V, Ogmundsdottir HM. Monoclonal gammopathy: natural history studied with a retrospective approach. *Haematologica* 2007;92:1131-34.
23. Cohen Y, Ben-Bassat I. Biclonal gammopathies: clinical and theoretical aspects. *Harefuah* 1993;124(7):393-5

24. Kyle RA, Robinson RA, Katzmann JA. The clinical aspects of biclonal gammopathies. Review of 57 cases. *Am J Med* 1981;71(6):999-1008
25. Sirohi B, Powles R. Epidemiology and outcomes research for MGUS, myeloma and amyloidosis. *Euro J Cancer* 2006;42:1671-83.
26. Kyle RA. Sequence of Testing for Monoclonal Gammopathies. Serum and Urine Assays. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:114-8.
27. Landgren O, Weiss BM. Patterns of monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma in various ethnic/racial groups: support for genetic factors in pathogenesis. *Leukemia* 2009;23:1691-7.
28. Andreone P, Zignego AL, Cursaro C, Gramenzi A, Gherlinzoni F, Fiorino S et al. Prevalence of monoclonal gammopathies in patients with hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med* 1998;129:294-8.
29. Jemal A, Murray T, Samuels A, Ghafoor A, Ward E, Thun MJ. Cancer statistics, 2003. *CA Cancer J Clin* 2003;53:5-26.
30. Keren DF. Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:126-32.
31. Kyle RA, Finkelstein S, Elveback LR, Kurland LT. Incidence of monoclonal proteins in a Minnesota Community with a cluster of multiple myeloma. *Blood* 1972;40(5):719-24.
32. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics* 2001.p.142-56.