

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

MÉTODOS LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO DE MIELOMA MÚLTIPLO

Trabalho submetido por

Yolanda Zenzela

para a obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas

Outubro de 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

MÉTODOS LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO DE MIELOMA MÚLTIPLO

Trabalho submetido por
Yolanda Zenzela
para a obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas

Orientado pela **Prof^ª Doutora Maria Guilhermina Martins Moutinho** e
coorientado pela **Dra. Teresa Gago**

Outubro de 2025

Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar, à minha mãe, Margarida da Fonseca, que me deu a vida e me amou incondicionalmente. Apesar de não termos partilhado o mesmo teto ao longo da minha infância e juventude, a sua existência faz-me sentir com os pés bem assentes no chão e ajuda-me a caminhar com segurança.

À minha irmã, Joaquina Rufino, que me estendeu a mão numa fase crucial do meu crescimento, deixo a minha gratidão. O seu amor foi o meu maior conforto; a sua bondade, o meu lar acolhedor.

Ao meu marido, Dinis Zenzela, que me incentivou desde o início desta jornada, caminhando ao meu lado desde o final do ensino secundário. Agradeço profundamente o apoio financeiro à minha licenciatura, bem como o suporte emocional e psicológico que sempre me ofereceu. Hoje, mais uma vez, deste tudo para que eu pudesse alcançar este objetivo. Obrigada por apoiares cada etapa da minha formação e por estares sempre presente nos momentos mais difíceis. A tua paciência, dedicação e amor incondicional deram-me forças para seguir em frente e concretizar este sonho.

Aos meus filhos, Diomar Natanael e Dagmar Sofia, que são a minha fonte inesgotável de inspiração e energia, o meu mais sincero agradecimento. Os vossos abraços e sorrisos foram sempre o meu melhor remédio. Motivam-me todos os dias a lutar e a acreditar que cada passo dado é uma conquista que vale a pena.

À Professora Doutora Guilhermina Moutinho, minha tutora, agradeço por confiar em mim e por me fazer acreditar que sou capaz de superar qualquer desafio. A sua orientação e apoio foram essenciais para o meu percurso académico.

À Doutora Teresa Gago, minha coorientadora, que, mesmo com o pouco tempo de convivência, aceitou este desafio e me apoiou de forma generosa e disponível. Agradeço-lhe profundamente pela sua dedicação e pela mão amiga que me estendeu.

À Doutora Paula Caseiro, pelo acompanhamento próximo e dedicado ao longo de todo o processo de estágio e elaboração da monografia. A sua orientação, sempre atenciosa e paciente, contribuiu significativamente para o sucesso deste trabalho.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz, pela formação de excelência, pelo ambiente académico enriquecedor e pelas oportunidades de crescimento pessoal e profissional proporcionadas ao longo deste percurso.

A todos os que caminharam comigo, acreditaram em mim e contribuíram para esta conquista, a minha eterna gratidão. Este trabalho é também vosso. Muito obrigada por tudo!

Resumo

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia maligna das células plasmáticas, caracterizada pela proliferação clonal de células plasmática na medula óssea, que compromete a hematopoiese normal. A incidência é superior em indivíduos afro-americanos e do sexo masculino. O diagnóstico baseia-se numa avaliação clínica e laboratorial e requer a presença de, pelo menos, um evento definidor de mieloma (CRAB: hipercalcemia, insuficiência renal, anemia e lesões ósseas) associado a plasmocitose medular clonal superior a $\geq 10\%$. **Objetivo:** analisar e sistematizar, através de revisão bibliográficaos principais métodos laboratoriais utilizados no diagnóstico do MM, destacando a sua eficácia, precisão e aplicabilidade na prática clínica. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão bibliográfica com recurso a base de dados científicas (Pubmed, Medline, Cochrane Library). Foram selecionadas 79 referências científicas publicadas entre 2002 e 2025 sobre Mieloma múltiplo. **Conclusão:** O diagnóstico do MM requer uma abordagem multidisciplinar, integrando dados laboratoriais, clínicos e imagiológicos, essenciais para a definição do estadiamento, prognóstico e planeamento terapêutico. A vigilância regular é fundamental para detetar precocemente a progressão de gamopatas monoclonais de significância indeterminada (MGUS) para MM,

Palavras-chave: Métodos laboratoriais, Diagnóstico, Mieloma Múltiplo.

Abstract

Multiple myeloma (MM) is a malignant neoplasm of plasma cells, characterized by the clonal proliferation of plasma cells in the bone marrow, leading to impairment of normal hematopoiesis. Its incidence is higher among African American individuals and males. Diagnosis is based on clinical and laboratory evaluation and requires the presence of at least one myeloma-defining event (CRAB: hypercalcemia, renal insufficiency, anemia, and bone lesions) associated with clonal bone marrow plasmacytosis $\geq 10\%$. **Objective:** To analyze and systematize, through a literature review, the main laboratory methods used in the diagnosis of MM, highlighting their effectiveness, accuracy, and applicability in clinical practice. **Methodology:** A literature review was conducted using scientific databases (PubMed, Medline, and the Cochrane Library). A total of 79 scientific references published between 2002 and 2025 on multiple myeloma were selected. **Conclusion:** The diagnosis of MM requires a multidisciplinary approach, integrating laboratory, clinical, and imaging data, which are essential for disease staging, prognostic assessment, and therapeutic planning. Regular monitoring is crucial for the early detection of progression from monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) to MM.

Keywords: Laboratory methods; Diagnosis; Multiple Myeloma.

Índice

Resumo	1
Abstract.....	3
Índice de Figuras	7
Índice de Tabelas	9
Lista de abreviaturas	11
I. INTRODUÇÃO	15
II. DESENVOLVIMENTO.....	17
1. Fisiopatologia do Mieloma Múltiplo	17
1.1. Alterações Genéticas e Citogenética no Mieloma Múltiplo	18
1.1.1. Instabilidade Genómica e Disfunção Telomérica.....	18
1.1.2. Mutações em <i>TP53</i> e Alterações do <i>MYC</i>	20
2. Quadro Clínico e História Médica.....	25
3. Métodos Laboratoriais Utilizados para o Diagnóstico.	27
3.1. Hematologia.....	27
3.1.1. Hemograma (CBC + DIFF) e Parametrização Especial: RET e PLT-F. 27	
3.1.1.1. Análises de Histogramas e Scattergrams.....	30
3.1.2. Esfregaço de Sangue Periférico	32
3.1.2.1. Técnica e Corantes.....	32
3.1.2.2. Observação Microscópica.....	34
3.1.3. Medulograma e Morfologia dos Plasmócitos	35
3.1.3.1. Etapas da colheita do aspirado medular.	36
3.1.3.2. Interpretação do Medulograma no Mieloma Múltiplo.	37
3.1.4. Citometria de Fluxo e Imunofenotipagem.....	38
3.1.5. Biópsia da Medula Óssea	39
3.2. Imunologia.....	41
3.2.1. Eletroforese de Proteínas Séricas e Urinárias.....	41

3.2.2.	Imunofixação	42
3.2.3.	Dosagem de Cadeias Leves Livres	43
3.3.	Avaliação Bioquímica e Marcadores Prognósticos	44
3.3.1.	Função renal	44
3.3.2.	Cálcio Sérico e metabolismo ósseo	45
3.3.3.	Marcadores inflamatórios e hepáticos.	45
3.3.4.	Lactato Desidrogenase (LDH).....	46
3.4.	Técnicas Citogenéticas e Biologia Molecular	47
3.4.1.	Citogenética Convencional (Cariótipo).	47
3.4.2.	Hibridização in situ por Fluorescência (FISH).....	47
3.4.3.	Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).....	48
4.	Crítérios de diagnóstico.	49
4.1.	Gamopatia monoclonal de significância indeterminada (MGUS).	49
4.2.	Biópsia medular.	49
4.3.	Calcium elevation, Renal Insufficiency, Anemia, Bone lesions (CRAB).....	50
4.4.	Citogenética.	51
5.	Populações de Risco e fator predisponente	53
6.	Doença Residual Mínima.	55
6.1.	Métodos de Detecção da Doença Residual Mínima.....	55
7.	Monitorização do Mieloma Múltiplo e Controlo da Doença	57
III. CONCLUSÃO.....		59
IV. BIBLIOGRAFIA.....		61
V. ANEXOS		

Índice de Figuras

Figura 1. Representação esquemática do DNA telomérico e dos componentes do complexo shelterin.....	20
Figura 2. Modelo atual para fatores envolvidos na amplificação da transcrição por <i>MYC</i>	23
Figura 3. Exemplos de Histograma e Scattergram em um resultado de hemograma (SPC, CHUC)	32
Figura 4. Formação de aglomerados de hemácias semelhantes a moedas empilhadas (hemácia reuleaux)	34
Figura 5. Osso localizado na região da bacia.....	36

Índice de Tabelas

Tabela I. Perfil típico de plasmócitos em pacientes com MM.....	38
Tabela II. Resumo de padrão de infiltração medular.....	40
Tabela III. MGUS no Diagnóstico do MM.....	49
Tabela IV. Biópsia medular no Diagnóstico do MM.....	50
Tabela V. CRAB no Diagnóstico do MM	51
Tabela VI. Diagnóstico Citogenético do Mieloma Múltiplo.....	52

Lista de abreviaturas

BASO – Basófilos.

CBC – *Complete Blood Count*.

CCF – *Cancer cell fraction*

CFM – Citometria de fluxo multiparamétrica.

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra.

CID – Coagulação intravascular disseminada.

CLL – Cadeias leves livres.

CNV – *Copy Number Variation*

CRAB – *Calcium elevation, Renal Insufficiency, Anemia, Bone lesions*.

DIFF – Contagem Diferencial de Leucócitos.

DMR – Doença mínima residual.

DNA – Ácido desoxirribonucleico.

DRM – Doença residual mínima.

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético.

EO – Eosinófilos.

EP – Eletroforese de proteínas.

FISH – hibridização in situ de fluorescência.

FSC – *forward scatter*.

HCT – Hematócrito.

HFR – Reticulócito de alta fluorescência.

HGB – Hemoglobina.

HIV – Vírus de Imunodeficiência Humana.

IF – Imunofixação de proteínas

IG – Granulócitos imaturos.

IgD – Imunoglobulina delta (δ).

IgE – Imunoglobulina épsilon (ϵ).

IgG – Imunoglobulina gama (γ).

IL-6 – Interleucina – 6.

IgM – Imunoglobulina mu (μ , mi).

IMWG – Grupo internacional de trabalho sobre Mieloma.

IPF – índice de plaquetas imaturas.

IRF % – Fração de reticulócitos imaturos

Isótipo – Diferentes tipos específicos de imunoglobulina ou anticorpo.

ISS – Sistema de estadiamento internacional.

LCR – Líquido cefalorraquidiano.

LDH – Lactato desidrogenase.

LFR – Reticulócito de baixa fluorescência.

LYMPH – Linfócitos.

MCH – Conteúdo médio de hemoglobina.

MCHC – Concentração média de hemoglobina corpuscular.

MCV – Volume corpuscular médio.

MFR – Reticulócito de média fluorescência.

MG – Microglobulina.

MGG – *May-Grünwald-Giemsa*.

MGUS – Gamopatia monoclonal de significância indeterminada.

MLPA – Amplificação de sonda dependente de ligação múltipla

MM – Mieloma Múltiplo.

MO – Medula óssea.

MONO – Monócitos.

MPV – Volume plaquetário médio.

MYC – *Myelocytomatosis*.

NEUT – Neutrófilos.

NGS – Sequenciamento da próxima geração.

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase.

P-LCR – Proporção de plaquetas grandes.

PCT – Plaquetócrito.

PDW – Amplitude de distribuição das plaquetas.

PLT-F Plaqueta por Fluorescência.

Proteína M – Proteína Monoclonal.

RBC – Glóbulos vermelhos.

RET – Reticulócitos.

RET-He – Hemoglobina dos reticulócitos.

RNA – Ácido ribonucleico.

RDW – Amplitude de distribuição dos eritrócitos.

RDW-SD – Desvio padrão da amplitude de distribuição dos eritrócitos.

RDW-CV – Coeficiente de variação da amplitude de distribuição dos eritrócitos.

R-ISS – *Revised International Staging System*.

ROC – *Receiver Operating Characteristic*.

SIDA – Síndrome de Imunodeficiência Adquirida.

SG – Sobrevida Global.

SLP – Sobrevida Livre de Progressão.

SNP – *Single Nucleotide Polymorphism*.

SSC – *Side scatter*.

SPC – Serviço de Patologia Clínica.

TC – Tomografia Computorizada.

TP53 – Proteína de tumor com peso molecular 53.

PET-FDG – Tomografia por emissão de pósitrons com fluorodesoxiglicose.

TFGe – Taxa de Filtração Glomerular estimada.

TERRA – Telomeric Repeat-containing RNA

I. INTRODUÇÃO

O mieloma múltiplo (MM) é um cancro do sangue que afeta os plasmócitos, um subtipo de glóbulos brancos que se encontram na medula óssea. Estas células têm como principal função a produção de anticorpos, que ajudam o organismo a combater infeções. No entanto, nesta doença, os plasmócitos tornam-se malignos e começam a multiplicar-se de forma descontrolada, ocupando o espaço normal da medula óssea e produzindo grandes quantidades de uma proteína anormal que não desempenha qualquer função útil no sistema imunitário. O excesso de células tumorais e da proteína que produzem pode provocar diversas complicações, como anemia, lesões ósseas, insuficiência renal e maior suscetibilidade a infeções.

O MM representa aproximadamente 1 a 2% das doenças oncológicas e 17% das doenças hemato-oncológicas, sendo a segunda mais comum depois do linfoma. É relativamente mais frequente em indivíduos do sexo masculino e duas vezes mais comum em afro-americanos comparativamente aos caucasianos.

O diagnóstico do MM, baseia-se em exames laboratoriais que permitem identificar a presença das proteínas anómalas no sangue e na urina, bem como avaliar o grau de infiltração da medula óssea. A eletroforese, a imunofixação, a análise das cadeias leves livres e a biópsia óssea são alguns dos exames habitualmente utilizados. Estes métodos são frequentemente complementados por exames de imagem, como a ressonância magnética ou a tomografia computadorizada, que ajudam a detetar alterações ósseas provocadas pela doença.

Este trabalho teve como objetivo (i) fazer uma revisão dos critérios de diagnóstico do mieloma múltiplo, (ii) analisar os métodos laboratoriais e citogenéticos utilizados, (iii) discutir fatores de risco e predisposição genética e (iv) apresentar a relevância da monitorização da doença residual mínima para o prognóstico e acompanhamento terapêutico.

II. DESENVOLVIMENTO

1. Fisiopatologia do Mieloma Múltiplo

A formação de tumores ocorre quando células estaminais normais escapam ao controlo e à regulação fisiológica do crescimento celular, originando uma população distinta de células iniciadoras de tumores. As células estaminais imaturas são particularmente suscetíveis a mutações e a disfunções no ciclo celular. Estas alterações podem culminar na instabilidade genómica, favorecendo o crescimento descontrolado de células neoplásicas (Hertl, 2022).

O distúrbio dos plasmócitos inicia-se quando um único plasmócito sofre mutação e se multiplica de forma excessiva, gerando diversos clones que produzem, em grande quantidade, um único tipo de anticorpo — a imunoglobulina monoclonal, conhecida como proteína M. As proteínas monoclonais produzidas pelos plasmócitos no MM são maioritariamente do isotipo IgG (cerca de 55% dos casos), seguido do isotipo IgA (cerca de 20%). Uma proporção significativa destes doentes apresenta também a proteína de Bence Jones, constituída por cadeias leves monoclonais (kappa ou lambda) livres, excretadas na urina. Em cerca de 15 a 20% dos doentes, os plasmócitos produzem exclusivamente proteínas de Bence Jones, não se verificando produção de imunoglobulinas completas (isto é, sem cadeias pesadas: Imunoglobulina gama (γ), Imunoglobulina mu (μ , mi), Imunoglobulina delta (δ), – Imunoglobulina épsilon (ϵ)). Os casos de MM com isotipo IgM ou IgD são raros (cerca de 1%), sendo o isotipo IgE extremamente raro. No MM não secretor, em que não há produção detetável de proteína M, o diagnóstico é baseado na presença de uma elevada percentagem de plasmócitos malignos na medula óssea, representando também cerca de 1% dos casos. Os plasmócitos malignos podem invadir e danificar vários tecidos e órgãos, sendo os mais frequentemente afetados os rins e o tecido ósseo. Esta infiltração contribui para manifestações clínicas como insuficiência renal e lesões líticas, frequentemente detetadas por exames laboratoriais e imagiológicos (Berenson, 2024).

A progressão da doença inicia-se frequentemente com uma condição pré-maligna denominada gamopatia monoclonal de significado indeterminado (MGUS), caracterizada pela produção de pequenas quantidades de proteína M, sem manifestações clínicas significativas. Em certos casos, esta condição evolui para mieloma múltiplo. A transição de MGUS para MM está frequentemente associada a alterações genéticas, como a deleção

do braço curto do cromossoma 17p, onde se localiza o gene *TP53* — um importante supressor tumoral. A monitorização regular dos doentes com MGUS é essencial permitindo deteção precoce de alterações laboratoriais indicativo de progressão da doença (Beren-son, 2024).

A acumulação progressiva de alterações genéticas e epigenéticas conferem às células plasmáticas malignas uma vantagem proliferativa e resistência aos mecanismos de controlo celular. Entre os processos biológicos centrais na fisiopatologia da doença destacam-se a instabilidade genómica e as alterações teloméricas, que contribuem para a transformação maligna, evolução clonal (Klewes *et al.*, 2013).

1.1. Alterações Genéticas e Citogenética no Mieloma Múltiplo

As alterações genéticas e citogenéticas desempenham um papel essencial na fisiopatologia, estratificação de risco e monitorização do MM. A doença resulta da transformação maligna de plasmócitos, frequentemente associada à instabilidade genómica, disfunção telomérica e mutações em genes reguladores do ciclo celular.

1.1.1. Instabilidade Genómica e Disfunção Telomérica

A instabilidade genómica é uma das características fundamentais do cancro e, no contexto do mieloma múltiplo (MM), está fortemente associada à disfunção dos telómeros. Os telómeros são estruturas nucleoproteicas especializadas, localizadas nas extremidades dos cromossomas, constituídas por repetições em tandem da sequência 5'-(TTAGGG)_n-3' e por uma extremidade simples 3' rica em guanina (Figura 1). Estas estruturas desempenham um papel essencial na preservação da integridade cromossómica e na prevenção da activação da resposta celular a danos no ADN (DNA Damage Response, DDR) (Doksani *et al.*, 2013; Arnoult & Karlseder 2015).

Durante as sucessivas divisões celulares, os telómeros encurtam progressivamente devido à ineficiência da replicação terminal do ADN. Quando atingem um comprimento crítico, desencadeiam um estado de senescência replicativa (fase M1); contudo, se esse bloqueio for ultrapassado, as células entram numa fase de crise (M2), caracterizada por fusões cromossómicas, instabilidade genómica grave e indução de apoptose. Uma pequena fração de células consegue escapar a esta crise ao adquirir mecanismos de manutenção telomérica, conferindo-lhes imortalidade replicativa e contribuindo para a transformação neoplásica (Shay & Wright, 2011). No MM, este fenómeno conduz a ciclos de quebra–fusão–ponte, que resultam em rearranjos cromossómicos complexos e instabilidade genómica

marcada, considerada um motor essencial da progressão tumoral. Células que conseguem escapar à crise replicativa ativam mecanismos de manutenção telomérica, sobretudo através da ativação aberrante da telomerase (Hayashi *et al.*, 2015).

O principal mecanismo de manutenção telomérica em células tumorais envolve a telomerase, uma ribonucleoproteína com atividade de transcriptase reversa. Esta enzima é composta por duas subunidades principais: a componente catalítica hTERT (*human telomerase reverse transcriptase*), codificada no cromossoma 5p15.33, e o RNA guia hTR (também designado hTERC), que fornece o molde para a síntese de novas repetições teloméricas. Em contexto celular, a montagem funcional da holoenzima requer ainda a participação de proteínas auxiliares, como disquerina, NOP10, NHP2, GAR1, TCAB1, HSP90, pontina e reptina, que asseguram a estabilidade, localização subcelular e funcionalidade da telomerase (Rachakonda *et al.*, 2013).

A expressão da hTERT é regulada de forma complexa, sendo modulada a vários níveis: transcricional, pós-transcricional, epigenético e pós-traducional. Recentemente, foram identificadas mutações recorrentes no promotor de hTERT, nomeadamente C228T e C250T, as quais representam eventos precoces em diversos tipos de cancro, incluindo melanoma, glioblastoma, carcinoma da bexiga e hepatocarcinoma. Estas mutações originam novos sítios de ligação para fatores de transcrição da família ETS, em particular GABP, promovendo a transcrição aberrante da hTERT e consequente ativação da telomerase. Curiosamente, estas alterações genéticas são mais frequentes em tumores derivados de células com limitada capacidade de auto-renovação, o que sugere um mecanismo compensatório para sustentar a proliferação celular contínua (Borah *et al.*, 2015).

Estudos funcionais demonstraram que, em células estaminais embrionárias humanas (hESCs), apenas a mutação -124 C>T promove um aumento moderado na expressão de hTERT em estado indiferenciado. Contudo, em células diferenciadas, como fibroblastos, todas as mutações testadas (-57 A>C, -124 C>T e -146 C>T) conduzem a uma elevação significativa da transcrição de hTERT e à ativação da telomerase, atingindo níveis comparáveis aos observados em células tumorais. Estes achados reforçam o papel destas mutações como eventos promotores da progressão maligna, particularmente em contextos de diferenciação celular (Picariello *et al.*, 2014). Os estudos mais recentes indicam que o papel da telomerase na oncogénese vai muito além da manutenção dos telómeros. A subunidade hTERT tem sido implicada em diversos processos celulares associados à

transformação maligna, como a proliferação celular, evasão da apoptose, migração e adesão celular. Adicionalmente, hTERT pode interagir com vias de sinalização fundamentais, como WNT/ β -catenina e NF- κ B induzida por *MYC*, posicionando-se como um regulador central da oncogênese (Yuan *et al.*, 2019).

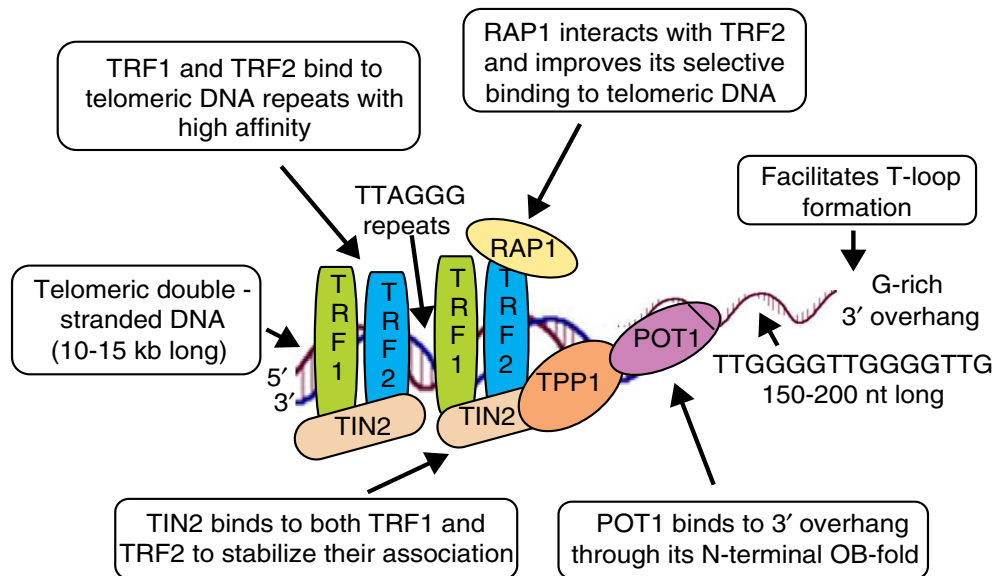


Figura 1 – Representação esquemática do DNA telomérico e dos componentes do complexo shelterin. Os telômeros constituem uma estrutura nucleoproteica especializada, composta por DNA e proteínas do complexo shelterin. O DNA telomérico contém um número variável de repetições em tandem, ricas em guanina e não codificantes, da sequência de DNA de cadeia dupla 5'-(TTAGGG) n -3', seguidas por uma extremidade terminal 3' com uma cadeia simples rica em guanina (com cerca de 150 a 200 nucleótidos de comprimento). Esta extremidade 3' facilita a formação de uma estrutura de ordem superior, na qual a cadeia simples 3' dobra-se sobre si mesma e invade a região homóloga de cadeia dupla contendo a sequência TTAGGG, formando um laço telomérico (T-loop). Esta estrutura protege a extremidade 3' ao sequestrá-la, impedindo o seu reconhecimento pelo sistema de resposta a danos no DNA. As proteínas associadas aos telômeros formam o complexo shelterin, composto por três subunidades principais: TRF1 e TRF2, que reconhecem e ligam diretamente as repetições de TTAGGG de cadeia dupla, e POT1, que se liga especificamente às extremidades de cadeia simples TTAGGG. Estas três proteínas estão interligadas por outras três proteínas adicionais do shelterin – TIN2, TPP1 e RAP1 – formando um complexo que permite ao sistema de vigilância da resposta a danos no DNA distinguir o DNA telomérico de quebras reais no genoma (Yuan *et al.*, 2019).

1.1.2. Mutações em *TP53* e Alterações do *MYC*

O gene *TP53*, responsável pela codificação da proteína supressora de tumores p53, desempenha um papel crucial na preservação da estabilidade genômica e na resposta celular ao *stress* genotóxico. A proteína p53 regula diversos processos celulares fundamentais, incluindo a paragem do ciclo celular, a reparação do ADN, a indução de apoptose e a senescência. A perda da função do *TP53* constitui, por conseguinte, um evento determinante na oncogênese, estando associada a prognóstico reservado em múltiplos tipos de neoplasias, incluindo o MM (Corre *et al.*, 2021).

No MM, as alterações mais frequentemente observadas em *TP53* incluem a deleção do braço curto do cromossoma 17 [del(17p)], mutações somáticas e eventos designados por “duplo impacto” (*double-hit*), que combinam a deleção e a mutação simultânea, ou deleções bialélicas. Estas alterações configuram marcadores de alto risco citogenético, associando-se a menor sobrevida global e sobrevida livre de progressão. Um estudo recente, envolvendo 143 doentes com MM recém-diagnosticado, revelou que 24% apresentavam deleções em *TP53*, 8% mutações somáticas, e 5% evidenciavam ambos os eventos. A presença concomitante de deleção e mutação (*double-hit*) associou-se a um desfecho particularmente adverso, com mediana de sobrevivência livre de progressão (PFS) de 9,5 meses *versus* 41,2 meses nos doentes sem alterações em *TP53*, e mediana de OS de 51,7 meses *versus* não atingida (HR 3,47; $p=0,02$) (Corre *et al.*, 2021).

Adicionalmente, análises longitudinais demonstraram que o estado genómico de *TP53* pode evoluir ao longo do curso clínico da doença. Num grupo de 53 doentes com amostras pareadas (diagnóstico e recaída), observou-se um aumento significativo na frequência de alterações em *TP53* na recaída (de 32% para 44%, $p<0,05$), acompanhado por um acréscimo na fração celular afetada (cancer cell fraction – CCF) e no número de eventos genéticos acumulados. Importa referir que alterações subclonais em *TP53* com (CCF >10%) demonstraram impacto negativo no prognóstico, mesmo quando presentes em proporções reduzidas. Com base na análise de curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*), foi proposto um valor de corte de 10% para a CCF como limiar de relevância clínica na deteção de deleções subclonais de *TP53*.

A introdução de técnicas de alta resolução, como *arrays* de SNP e sequenciação de nova geração (NGS), tem permitido a deteção de alterações clonais e subclonais em *TP53* com maior sensibilidade, comparativamente às técnicas convencionais, como a FISH, sublinhando a importância da incorporação de metodologias moleculares avançadas na rotina diagnóstica do MM (Corre *et al.*, 2021).

Noutro estudo, que incluiu uma coorte de 121 doentes com del(17p) em mais de 55% das células plasmáticas, tratados de forma homogénea, a sequenciação dirigida de alta profundidade confirmou que o grupo com eventos “*double-hit*” apresentava o pior prognóstico, com mediana de sobrevida global de 36 meses. A deleção isolada do 17p também se associou a desfecho desfavorável (52,8 meses), em contraste com a coorte controlo sem del(17p), cuja mediana de sobrevivência foi significativamente superior (152,2 meses).

A análise estatística demonstrou que tanto a deleção isolada de 17p, como os eventos combinados no *TP53*, mantêm impacto prognóstico negativo mesmo em doentes tratados com terapêuticas intensivas baseadas em bortezomib, lenalidomida e transplante autólogo de progenitores hematopoiéticos. A presença de mutações exónicas foi confirmada por NGS de elevada profundidade, com validação das variantes por droplet digital PCR (ddPCR), garantindo elevada precisão analítica. Estes dados reforçam que o perfil genómico de *TP53* pode sofrer alterações significativas entre o diagnóstico e a recaída, evidenciando a necessidade de reavaliação genómica periódica ao longo da evolução clínica da doença. A del(17p) mantém-se, assim, como um marcador independente de alto risco, sendo que a sua combinação com mutações em *TP53* define uma subpopulação com risco extremo. A caracterização detalhada de deleções e mutações, incluindo componentes subclonais, é indispensável para uma estratificação prognóstica precisa no MM (Corre *et al.*, 2021).

O gene *MYC*, localizado na região 8q24 do cromossoma 8, é um dos oncogenes mais frequentemente alterados em neoplasias humanas, incluindo o mieloma múltiplo. A sua principal função prende-se com a regulação transcricional de genes envolvidos na proliferação celular, metabolismo, biogénese ribossomal e na progressão do ciclo celular (Jaenike *et al.*, 2016; Jha *et al.*, 2023).

No MM, a ativação aberrante de *MYC* constitui um dos eventos moleculares mais marcantes associados à progressão da doença. Esta ativação decorre, geralmente, de translocações cromossómicas ou amplificações genéticas que reposicionam o locus *MYC* na proximidade de elementos reguladores altamente ativos, como os enhancers dos genes das imunoglobulinas, fortemente expressos em células B e plasmócitos. Esta nova vizinhança funcional promove uma superexpressão patológica de *MYC*, que desregula o controlo normal da proliferação celular (Cristóbal-Vargas *et al.*, 2025; Affer *et al.*, 2014).

Do ponto de vista epigenético, o locus *MYC* está inserido num domínio topológico de interação (TAD – Topologically Associating Domain) com cerca de 3 Mb, praticamente desprovido de outros genes codificantes. Este domínio contém múltiplos super-enhancers (ver figura 2), regiões densamente povoadas por elementos potenciadores — que regulam de forma coordenada a transcrição do *MYC* (Uslu *et al.*, 2014). Um destes super-enhancers, situado aproximadamente 1,7 Mb a jusante do início da transcrição de *MYC*, revelou-se essencial para a manutenção de níveis elevados de expressão (Kalkat *et al.*, 2017).

pb a jusante do local de iniciação. Juntamente com cofatores como BRD4, *MYC* recruta P-TEFb que fosforila os fatores de pausa e RNAP II. *MYC* suprime a síntese de CDK9, facilitando a formação ativa de P-TEFb. O *MYC* também recruta PAF1c e em associação com a ubiquitilação de *MYC* mediada por HUWE1, PAF1c é transferido para RNAP II. Esses eventos acionam coletivamente a liberação do complexo de transcrição e inicia o alongamento da transcrição. Além disso, o estresse torcional gerado devido ao alongamento da transcrição é resolvido pelo *MYC*-Complexo topoisomérico. Ativa a atividade catalítica de TOP1 e TOP2A, ajudando a manter a homeostase do super enrolamento do DNA. O *MYC* também estende oduração dos tempos de residência de máquinas de transcrição como TBP, SPT5 e RNAP II e isso leva à extensão das rajadas transcripcionais (tempo ON do gene). Esses eventos ajudam a explicar o papel do *MYC* como amplificador da transcrição (Endres *et al.*, 2021).

2. Quadro Clínico e História Médica.

O MM pode apresentar-se com um conjunto de sinais e sintomas inespecíficos, o que contribui para o atraso no diagnóstico. As manifestações clínicas resultam tanto da proliferação clonal de plasmócitos na medula óssea como da produção desregulada da proteína monoclonal (proteína M), com impacto sistémico relevante.

Sintomas mais comuns incluem:

- Dor óssea, especialmente na coluna vertebral, costelas e região pélvica, decorrente da atividade osteolítica induzida por citocinas libertadas pelos plasmócitos;
- Fadiga e fraqueza, frequentemente associadas a anemia normocítica e normocrómica, característica da doença;
- Infeções recorrentes, relacionadas com a imunossupressão provocada pela disfunção dos plasmócitos e a redução de imunoglobulinas funcionais;
- Sede excessiva, poliúria, obstipação e náuseas, associadas à hipercalcemia – uma complicação metabólica frequente;
- Perda de peso involuntária e outros sintomas gastrointestinais inespecíficos, como náuseas e anorexia;
- Sintomas neurológicos, como confusão, défices sensoriais ou motores, que podem resultar da síndrome de hiperviscosidade ou compressão medular (Spivak, 2024)

Antes da confirmação diagnóstica, é essencial realizar uma anamnese minuciosa, procurando sinais indiretos da doença. Entre as queixas mais relevantes destacam-se:

- Dor óssea persistente e localizada, particularmente na ausência de trauma;
- Fadiga crónica e sem causa aparente;
- Infeções de repetição, especialmente do foro respiratório ou urinário;
- Alterações sugestivas de desequilíbrio hidroeletrolítico, como poliúria e sede intensa;
- Sintomas neurológicos compatíveis com síndrome de hiperviscosidade (cefaleias, visão turva, alterações da consciência), particularmente em doentes com níveis elevados de proteína M (Rajkumar & Kumar, 2016).

A suspeita clínica deve ser confirmada com exames laboratoriais, como hemograma, creatinina, cálcio sérico e eletroforese de proteínas séricas. A presença de alterações nestes parâmetros justifica a realização de exames confirmatórios, como biópsia medular, Imunofenotipagem e estudos citogenéticos. Importa sublinhar que uma proporção significativa dos casos é diagnosticada de forma incidental, na sequência de exames de rotina que evidenciam anemia inexplicada, insuficiência renal ou hipercalcemia assintomática (Wong & Soffer, 2022).

3. Métodos Laboratoriais Utilizados para o Diagnóstico.

O diagnóstico do MM é realizado através de uma combinação de exames laboratoriais e de imagem, que permitem confirmar a presença de plasmócitos malignos e avaliar as consequências sistêmicas da doença (ver critérios para diagnóstico do MM nas tabelas III-VI nas páginas 53-56). Os principais métodos incluem análises hematológicas, bioquímicas e imunológicas, bem como técnicas imagiológicas para a detecção de lesões ósseas associadas ao MM (Kumar *et al.*, 2020).

3.1. Hematologia.

3.1.1. Hemograma (CBC + DIFF) e Parametrização Especial: RET e PLT-F.

O hemograma completo é um exame de primeira linha essencial para o diagnóstico e estadiamento do MM. Este permite identificar alterações quantitativas e qualitativas nas células do sangue periférico, decorrentes da infiltração da medula óssea por plasmócitos anormais (Shah, 2025).

No contexto do MM, o hemograma pode evidenciar:

- **Anemia:** resulta da supressão da hematopoiese normal por células plasmocitárias neoplásicas e da inibição da eritropoietina por citocinas inflamatórias como a IL-6, comprometendo a produção de eritrócitos (Kishimoto, 2006).
- **Leucopenia:** devida à substituição da linhagem mieloide normal por células tumorais, o que reduz a produção de leucócitos.
- **Trombocitopenia:** ocorre pela diminuição da produção de plaquetas, também resultante da infiltração medular.

Estas alterações são indicativas de envolvimento avançado da medula óssea e ajudam a sustentar a suspeita clínica de MM (Rajkumar, 2024).

Embora o hemograma possa parecer inespecífico, certas características morfológicas podem levantar suspeita de MM:

- **Rouleaux** (empilhamento de eritrócitos), visível na observação microscópica do esfregaço, devido ao aumento da concentração de imunoglobulinas séricas (Dimopoulos & Terpos, 2005).

- Plasmócitos circulantes, raros em situações normais, mas detetáveis em casos avançados ou com síndrome de leucemia plasmocítica.

O valor da amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW) pode estar discretamente aumentado, mas não tem valor diagnóstico específico no MM. O volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) permanecem geralmente normais, exceto se houver comorbilidades concomitantes (ex.: deficiência de folato) (Melania *et al.*, 2024).

A parametrização especial dos reticulócitos (RET) e das plaquetas (PLT-F), disponível em equipamentos hematológicos mais avançados, pode oferecer dados complementares:

- RET-He (conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos) pode estar diminuído em doentes com anemia multifatorial;
- IPF (índice de plaquetas imaturas) auxilia na distinção entre trombocitopenia de origem central vs. periférica, embora sem especificidade para MM (Chinudomwong *et al.*, 2020).

O hemograma completo com diferencial (CBC + DIFF) inclui a avaliação quantitativa e qualitativa dos seguintes parâmetros:

1. Série Branca (Leucócitos – WBC)

- Glóbulos brancos totais (WBC)
- Contagem absoluta e percentual dos leucócitos diferenciais:
 - Neutrófilos (NEUT # e %)
 - Linfócitos (LYMPH # e %)
 - Monócitos (MONO # e %)
 - Eosinófilos (EO # e %)
 - Basófilos (BASO # e %)
 - Granulócitos imaturos (IG # e %) – úteis na deteção de desvio à esquerda e processos infiltrativos.

2. Série Vermelha (Eritrograma)

- Glóbulos vermelhos (RBC)
- Hemoglobina (HGB)

- Hematócrito (HCT)
- Índices eritrocitários:
 - MCV (volume corpuscular médio)
 - MCH (conteúdo médio de hemoglobina)
 - MCHC (concentração média de hemoglobina corpuscular)
- RDW-SD / RDW-CV (amplitude de distribuição dos eritrócitos) – indicativos de anisocitose.

3. Série Plaquetária (PLT)

- Contagem total de plaquetas (PLT)
- Índices plaquetários:
 - PDW (amplitude de distribuição das plaquetas)
 - P-LCR (proporção de plaquetas grandes)
 - MPV (volume plaquetário médio)
 - PCT (plaquetócrito).

Os analisadores hematológicos de última geração oferecem parâmetros avançados, como análise de reticulócitos (RET) e das plaquetas imaturas (PLT-F), que embora não sejam específicos para o diagnóstico de MM, contribuem para a cauterização da anemia e da trombocitopenia auxiliando na diferenciação etiológica (Brihi *et al.*, 2024).

O estudo dos reticulócitos (RET) é útil para avaliar a capacidade regenerativa da medula óssea, sendo útil para distinguir entre anemias regenerativas e não regenerativas. No contexto do MM, os níveis de reticulócitos tendem a estar normais ou diminuídos, refletindo a supressão da eritropoiese pela infiltração medular ou pelo déficit de eritropoietina, especialmente nos casos com insuficiência renal associada contagem absoluta e percentual de reticulócitos (RET # e %).

- RET de baixa fluorescência (LFR %) – reticulócitos mais maduros
- RET de média fluorescência (MFR %)
- RET de alta fluorescência (HFR %) – reticulócitos imaturos

- Hemoglobina dos reticulócitos (RET-He, em picogramas) – fornece uma estimativa do conteúdo hemoglobínico nas hemácias jovens, útil para avaliar a disponibilidade de ferro funcional na eritropoiese. Em doentes com mieloma, pode estar reduzido quando há inflamação crónica ou deficiência nutricional coexistente, como deficiência de folato ou vitamina B12.

Fração de reticulócitos imaturos (IRF %) – indica a proporção de reticulócitos com maior conteúdo de ácido ribonucleico (RNA), refletindo a atividade eritropoiética recente. Pode ser usado para avaliar a dinâmica de libertação medular, embora o seu valor diagnóstico específico no MM seja limitado (Hill & Halsey, 2020).

A contagem de plaquetas pela fluorescência (PLT-F) oferece maior precisão, especialmente em caso de trombocitopenia com interferência por fragmentos celular ou aglutinação. Este método reduz o risco de contagens falsamente baixas, comuns em doentes com mieloma múltiplo, devido a presença de paraproteínas que interferem com a impedância ou a dispersão da luz nos métodos tradicionais. O parâmetro IPF (índice de plaquetas imatura) pode ajudar distinguir entre causas centrais (medular) e periféricas (consumo aumentado). No MM, uma IPF baixa pode indicar falência de medula óssea pela infiltração tumoral, ao passo que valores normais ou elevados sugerem trombocitopenia de consumo (ex.: CID, fármacos) (Machin *et al.*, 2011).

3.1.1.1. **Análises de Histogramas e *Scattergrams***

As análises de histogramas e *scattergrams* constituem ferramentas complementares essenciais na interpretação dos resultados hematológicos, sobretudo em contexto de doenças hematológicas como o MM. Estes gráficos, gerados por analisadores hematológicos automatizados, permitem uma avaliação detalhada da morfologia celular e da distribuição das populações celulares no sangue periférico.

Histogramas

Os histogramas representam graficamente a distribuição do tamanho das células sanguíneas — nomeadamente eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Através da análise da amplitude e da forma das curvas, é possível identificar variações indicativas de alterações hematológicas relevantes. No contexto do MM, podem evidenciar:

Anisocitose eritrocitária, frequentemente associada à anemia;

Alterações na curva plaquetária, sugerindo trombocitopenia ou presença de plaquetas gigantes;

Distribuições anômalas de leucócitos, como desvio à esquerda ou presença de células imaturas (Ningombam *et al.*, 2021).

Scattergrams

Os *scattergrams* são gráficos (Figura 3) de dispersão gerados por citometria de fluxo, que analisam parâmetros como o tamanho celular (FSC – *forward scatter*), complexidade interna (SSC – *side scatter*) e intensidade de fluorescência (*fluorescence scatter*), permitindo distinguir subpopulações celulares com maior precisão. Os analisadores modernos, como os da Sysmex®, utilizam tecnologia de fluorescência para detetar a composição e a atividade celular, o que é particularmente útil na identificação de:

- Plasmócitos atípicos;
- Granulócitos imaturos (IG);
- Alterações na proporção de linfócitos e monócitos;
- Presença de células displásicas ou blásticas. Identificação de picos anômalos: A presença de picos ou alterações na simetria dos histogramas pode indicar populações celulares anormais ou expansão clonal.
- Análise da dispersão celular: Permite avaliar a heterogeneidade morfológica, muitas vezes acentuada no MM devido à presença de células malignas ou ao efeito da quimioterapia.
- Correlação com achados clínicos: Estas análises oferecem suporte à diferenciação entre condições benignas (ex. reações infecciosas) e malignas (ex. síndromes mieloproliferativas ou mieloma (Ningombam *et al.*, 2021).

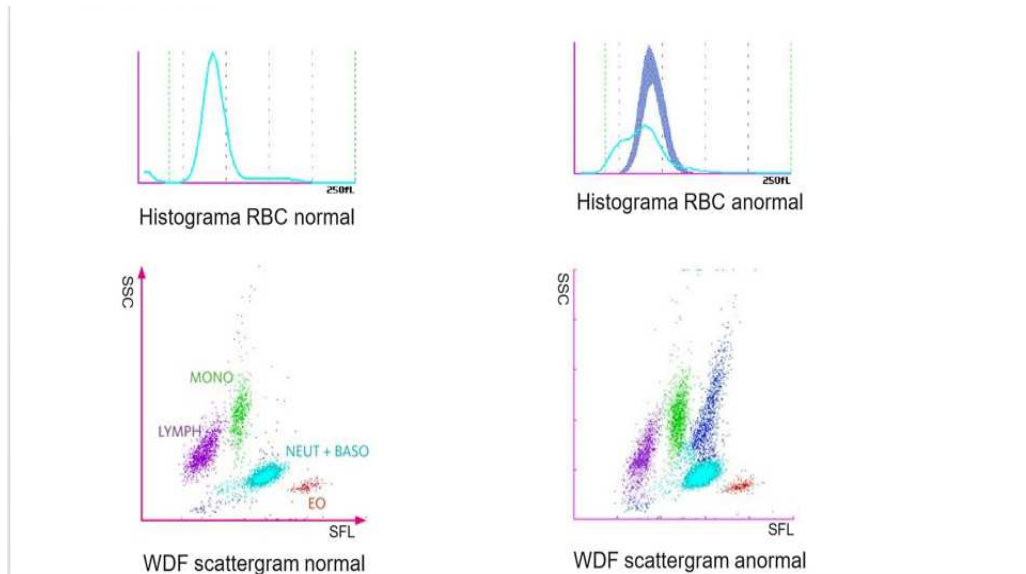


Figura 3- exemplos de Histograma e Scattergram em um resultado de hemograma (SPC, CHUC).

3.1.2. Esfregaço de Sangue Periférico

A análise microscópica do esfregaço de sangue periférico continua a ser uma ferramenta complementar importante no diagnóstico de hemopatias, incluindo MM. Embora os achados não sejam patogênicos, o esfregaço pode fornecer sinais morfológicos sugestivos da presença de proteína monoclonal ou de infiltração hematopoiética anômala (Kumar *et al.*, 2016).

3.1.2.1. Técnica e Corantes

O esfregaço deve ser preparado com sangue fresco, preferencialmente em ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA), e realizado imediatamente após a colheita para evitar artefactos de degeneração celular. A lâmina é obtida por extensão manual ou automatizada, garantindo uma distribuição homogênea dos elementos celulares. Após secagem ao ar, o esfregaço é corado com corantes tipo Romanowsky (habitualmente May-Grünwald-Giemsa ou Wright), que permitem a identificação e diferenciação dos elementos celulares (Anexo 1). O esfregaço é submetido a processos de coloração para permitir a observação detalhada da morfologia celular. Os corantes May-Grünwald e Giemsa são os mais utilizados em conjunto, por sua capacidade de diferenciar componentes celulares:

- May-Grünwald: Corante acidófilo que tingem componentes citoplasmáticos e hemácias com tons rosados a vermelhos.
- Giemsa: Corante basófilo que realça os núcleos e organelos, tingindo-os de azul a violeta, permitindo uma melhor visualização das estruturas nucleares e do padrão cromatínico (Silva & Pereira., 2020).

A combinação dos dois corantes permite distinguir com precisão os diferentes tipos celulares do sangue periférico e identificar alterações morfológicas indicativas de patologias. O método mais utilizado é a coloração combinada de May-Grünwald e Giemsa, que fornece excelente contraste entre o núcleo e o citoplasma das células, permitindo a sua diferenciação (Silva & Pereira, 2020).

- May-Grünwald:
 - Contém eosina (um corante ácido) e azul de metileno (um corante básico).
 - A eosina liga-se a componentes básicos das células, como proteínas citoplasmáticas, tingindo-os em tons rosados.
 - O azul de metileno liga-se a componentes ácidos, como o ácido desoxirribonucleico (DNA) nuclear, conferindo-lhes coloração azulada a violeta.
- Giemsa:
 - É uma combinação de eosina, azure B e azul de metileno.
 - O azure B, um produto de oxidação do azul de metileno, tem afinidade por regiões ricas em DNA e RNA, como os nucléolos e grânulos de linfócitos.
 - A Giemsa realça melhor os detalhes nucleares e os grânulos citoplasmáticos, sendo útil para distinguir linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos, entre outras células sanguíneas (Bio-Óptica Milano, 2022).

Para mais informações sobre o procedimento da coloração (Anexo 2).

A eficácia da coloração depende fortemente do pH do tampão utilizado durante o processo, que deve ser mantido próximo de 7.0, valor correspondente ao ponto isoelétrico ideal:

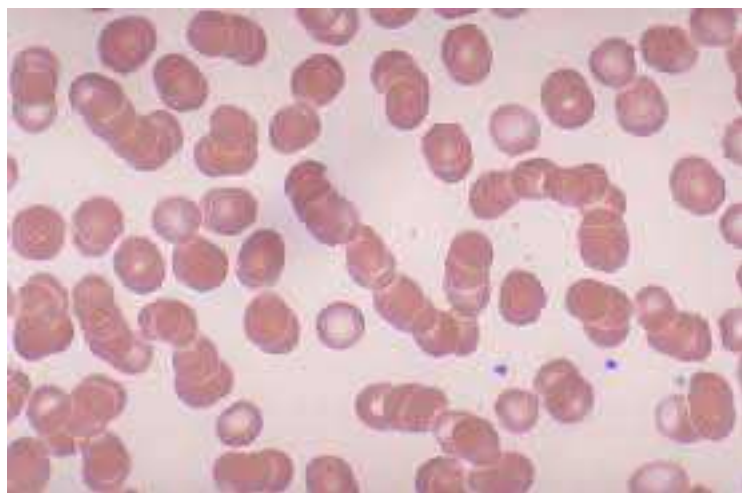
- pH < 7.0 (ácido): favorece a coloração avermelhada, pois a eosina predomina, podendo dificultar a visualização dos núcleos.
- pH > 7.0 (básico): favorece a coloração azulada, com predominância de azul de metileno e azure B, o que pode obscurecer os detalhes citoplasmáticos (Piaton *et al.*, 2016).

O equilíbrio adequado de pH garante uma coloração nítida e equilibrada, essencial para a correta interpretação morfológica das células sanguíneas (Anexo 3). A qualidade técnica da extensão é fundamental, pois zonas de sobreposição ou lise celular comprometem a avaliação morfológica (Bio-Óptica Milano, 2022).

3.1.2.2. Observação Microscópica

As alterações morfológicas mais comuns em doentes com mieloma incluem:

- **Rouleaux** (empilhamento de eritrócitos – Figura 4): resultado do aumento das proteínas séricas, sobretudo imunoglobulinas monoclonais, que reduzem a repulsão eletrostática entre os eritrócitos. Este achado é observado em mais de 60% dos doentes com MM (Kumar *et al.*, 2016)



•
Figura 4- Formação de aglomerados de hemácias semelhantes a moedas empilhadas (hemácias rouleaux).

- **Plasmócitos circulantes**: embora raros no sangue periférico, a sua presença é sempre anômala e deve ser valorizada. Plasmócitos maduros exibem um núcleo

excêntrico, cromatina em “raio de roda” e citoplasma basofílico com região perinuclear clara (halo do aparelho de Golgi). A presença de plasmócitos circulantes em quantidade significativa pode indicar leucemia de plasmócitos, uma variante agressiva do mieloma múltiplo (Fernández Larrea *et al.*, 2013).

- **Anisocitose e policromasia:** podem refletir a tentativa compensatória de eritropoiese em contextos de anemia multifatorial.
- **Neutropenia relativa:** não específica, mas compatível com infiltração medular e hipoprodução.

Embora o esfregaço não seja diagnóstico por si só, a sua análise de forma correta, orienta o raciocínio clínico-laboratorial e pode levantar suspeitas que justificam investigação adicional com imunofenotipagem, eletroforese e biópsia da medula óssea (Coly *et al.*, 2025).

3.1.3. Medulograma e Morfologia dos Plasmócitos

O estudo citomorfológico da medula óssea continua a ser um método fundamental no diagnóstico do MM, permitindo a avaliação direta da população plasmocitária e a distinção entre mieloma, gamopatas monoclonais de significado indeterminado (MGUS) e outros síndromes linfoproliferativos (Bain *et al.*, 2016).

A colheita é habitualmente realizada por aspirado esternal ou da crista ilíaca posterior (Figura 5). O medulograma permite a quantificação da percentagem de plasmócitos, bem como a avaliação da sua morfologia, padrão de distribuição e maturação. O critério diagnóstico atual da International Myeloma Working Group (IMWG) estabelece como diagnóstico de MM a presença de $\geq 10\%$ de plasmócitos medulares clonalmente anómalos associada a evidência de lesão relacionada com a doença (ex.: anemia, hipercalemia, lesão óssea ou insuficiência renal). Contudo, o diagnóstico definitivo requer também a demonstração de lesões associadas à infiltração plasmocitária, como lesões ósseas, anemia, hipercalemia ou insuficiência renal – critérios conhecidos pelas siglas CRAB (*Calcium elevation, Renal failure, Anemia, Bone lesions*) (Rajkumar *et al.*, 2014).

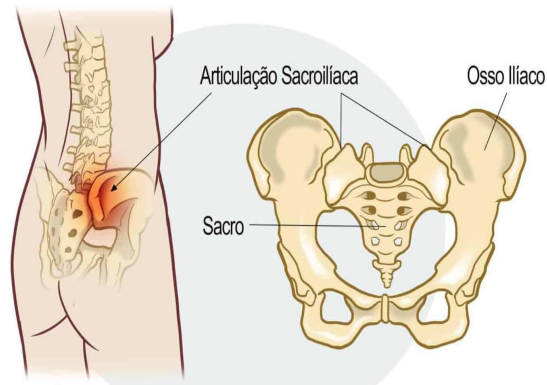


Figura 5 - Osso localizado na região da bacia. A colheita é feita especificamente na crista íliaca. Ilustração adaptada de Netter (2019).

3.1.3.1. Etapas da colheita do aspirado medular.

a) **Preparação do paciente:**

- Explicação do procedimento.
- Posicionamento adequado (decúbito lateral ou ventral).
- Desinfecção rigorosa da pele e administração de anestesia local para minimizar o desconforto.

b) **Punção aspirativa:**

- Utiliza-se uma agulha especial de grosso calibre, como a agulha de Jamshidi ou Rosenthal, para atingir a cavidade medular.
- Após a introdução da agulha, é feito o aspirado com seringa estéril, obtendo-se 0,5 a 1 mL de conteúdo medular rico em células hematopoiéticas.

c) **Preparação das lâminas:**

- O material colhido é imediatamente colocado em lâminas porta-objetos, realizando-se esfregaços com técnica semelhante à do sangue periférico.
- As lâminas são deixadas a secar ao ar e posteriormente coradas pela técnica de May-Grünwald-Giemsa (MGG), para permitir a análise morfológica das células (Kuter, 2023).

3.1.3.2. Interpretação do Medulograma no Mieloma Múltiplo.

Na avaliação morfológica:

- Observa-se proliferação de plasmócitos, com frequência em formas atípicas ou imaturas, como plasmócitos binucleados, com nucléolos proeminentes ou citoplasma vacuolado (Anexo 4, Figura A).
- Pode haver supressão das restantes linhagens hematopoiéticas, em especial das séries eritroide, granulocítica e megacariocítica.

A quantificação celular é realizada em mínimo 500 células nucleadas, com determinação da percentagem de plasmócitos em relação ao total. Um valor superior a 10% é altamente sugestivo de mieloma, especialmente se houver monoclonalidade confirmada por imunofenotipagem e/ou imunohistoquímica (Berenson, 2024).

Do ponto de vista morfológico, os plasmócitos normais apresentam um núcleo excêntrico com cromatina condensada, citoplasma basofílico e uma zona perinuclear clara correspondente ao aparelho de Golgi. No mieloma, é comum observar:

- **Plasmócitos imaturos:** com nucléolos visíveis, cromatina frouxa e maior relação núcleo-citoplasma;
- **Binucleação ou multinucleação:** indicador de atipia e proliferação anormal (Anexo 4, Figura B);
- **Plasmócitos com inclusões citoplasmáticas,** como corpos de Russell (acumulações de imunoglobulina no retículo endoplasmático) e corpos de Dutcher (inclusões intranucleares pseudoimunes), associados a produção excessiva de proteína M
- **Distribuição em agregados ou em feixes:** indício de infiltração clonal densa;
- **Células plasmocitoides atípicas:** observadas mais frequentemente em casos agressivos ou em leucemia de plasmócitos (Gertz, 2023).

A contagem percentual de plasmócitos deve ser complementada por técnicas de imunofenotipagem (por citometria de fluxo ou imunocitoquímica), dado que a morfologia isolada não permite distinguir entre plasmócitos policlonais reativos e clones neoplásicos. Além disso, a heterogeneidade morfológica pode ser enganadora, sendo comum a coexistência de plasmócitos maduros e imaturos na mesma amostra. A coloração Romanowsky

(May-Grünwald-Giemsa) permanece o padrão para a avaliação citológica de esfregaços medulares, devendo ser interpretada por citologistas com experiência em hemopatias (Cho *et al.*, 2013).

3.1.4. Citometria de Fluxo e Imunofenotipagem

A citometria de fluxo multiparamétrica (CFM) é um dos métodos laboratoriais mais importantes na caracterização imunofenotípica dos plasmócitos no MM. Permite a identificação, quantificação e distinção entre plasmócitos normais e neoplásicos, através da análise simultânea de múltiplos marcadores de superfície e citoplasmáticos (Rawstron *et al.*, 2008).

Esta técnica baseia-se na marcação de células com anticorpos monoclonais conjugados com fluorocromos e subsequente análise individualizada das células por dispersão de luz e emissão fluorescente (Anexo 5), à medida que estas passam por um feixe de laser (McCoy, 2002). O uso de painéis com 6 a 10 cores permite avaliar simultaneamente vários antígenos, aumentando a sensibilidade e especificidade do ensaio. No contexto do MM, os plasmócitos neoplásicos exibem um perfil imunofenotípico distinto dos plasmócitos normais (Tabela 1). A caracterização imunofenotípica dos plasmócitos permite distinguir plasmócitos normais dos plasmócitos neoplásicos (clonais). A presença de CD56+ / CD19- / CD45- ou fraco é característica de plasmócitos clonais, auxiliando na confirmação do diagnóstico de mieloma múltiplo (Barreto *et al.*, 2024).

Tabela 1- Perfil típico dos plasmócitos malignos no mieloma múltiplo (MM) Segundo o EuroFlow Consortium.

Marcador	Plasmócitos normais	Expressão no MM	Observações
CD38	Elevada	Elevada	Expressão intensa em ambos, mas nos plasmócitos malignos tende a ser mais heterogênea.
CD138 (Syndecan-1)	Elevada	Elevada	Marcador típico e específico de plasmócitos, útil para identificação.
CD56	Negativo	Frequentemente positivo ($\approx 70\%$)	A sua expressão está associada a adesão anômala à medula óssea.
CD117 (c-Kit)	Negativo	Positivo em subgrupos	Pode estar associado a prognóstico mais favorável.
CD19	Positivo	Negativo	A perda deste marcador indica origem clonal e transformação neoplásica.
CD45	Positivo fraco ou ausente	Ausente ou expressão muito fraca	Pode ajudar a distinguir estádios de maturação dos plasmócitos.

Esta tabela resume o perfil imunofenotípico típico dos plasmócitos no mieloma múltiplo, sendo um recurso fundamental para o diagnóstico diferencial por citometria de fluxo (Paiva *et al.*, 2010).

A citometria de fluxo tem várias aplicações no diagnóstico do MM:

- Confirmar a natureza clonal da proliferação plasmocitária;
- Diferenciar MM de outras gamopatias, como MGUS ou mieloma indolente;
- Avaliar doença mínima residual (DMR) com elevada sensibilidade, quando realizada com protocolos padronizados (ex. EuroFlow) (Van Dongen *et al.*, 2012).

A sensibilidade da CFM convencional atinge 10^{-4} a 10^{-5} células, mas técnicas otimizadas de nova geração permitem atingir sensibilidades superiores a 10^{-6} , sendo úteis para avaliar a resposta terapêutica profunda e o prognóstico a longo prazo (Kumar *et al.*, 2016).

3.1.5. Biópsia da Medula Óssea

A biópsia da medula óssea é um procedimento invasivo que consiste na remoção de um fragmento sólido de tecido medular (Anexo 6), com o objetivo de realizar uma análise histológica e imunohistoquímica detalhada. Este exame é essencial no diagnóstico e estadiamento de diversas patologias hematológicas, nomeadamente o MM, permitindo avaliar tanto a arquitetura medular como a extensão da infiltração plasmocitária (Bataille *et al.*, 2004).

A amostra é geralmente obtida por trepanação da crista ilíaca posterior, utilizando uma agulha de Jamshidi. Após fixação em formol, é embebida em parafina e corada com hematoxilina-eosina, podendo ser complementada com técnicas de imunohistoquímica para identificação da natureza clonal dos plasmócitos (Bain *et al.*, 2010).

A biópsia permite:

- Avaliar o grau de infiltração plasmocitária, o que permite fazer um diagnóstico e prognóstico. No MM, o infiltrado é habitualmente superior a 10%, podendo atingir 90–100% em casos avançados;
- Distinguir entre infiltração difusa, nodular ou intersticial (Tabela 2), sendo a infiltração difusa geralmente associada a doença mais agressiva (Swerdlow *et al.*, 2017);

- Identificar fibrose medular ou alterações osteolíticas adjacentes, comuns em fases avançadas;
- Observar alterações associadas, como hipocelularidade de outras linhagens ou elementos do estroma tumoral.

Tabela 2. Resumo de padrões por infiltração medular.

Padrão de Infiltração	Descrição	Significado Clínico
Difusa	Plasmócitos distribuídos homogeneamente por toda a medula óssea.	Associado a formas mais agressivas de MM.
Nodular	Plasmócitos organizados em aglomerados ou nódulos bem delimitados.	Comum em mieloma indolente ou estádios iniciais; os nódulos podem não ser aspirados no Mielograma.
Intersticial	Plasmócitos dispersos entre as células hematopoiéticas normais.	Pode ocorrer em MM ou em reações inflamatórias. Requer correlação com outros exames.

Em casos de aspirado diluído (aspiração seca ou *dry tap*), a biópsia é particularmente útil, pois mantém a integridade histológica necessária para a avaliação diagnóstica. Além disso, a imunohistoquímica com anticorpos anti-CD138, CD56 e kappa/lambda permite confirmar que os plasmócitos se clonaram, reforçando o diagnóstico de MM (Möller & Pedersen, 2004).

A biópsia da medula óssea também contribui para o estadiamento e monitorização da resposta terapêutica, especialmente quando associada à citometria de fluxo ou biologia molecular. Contudo, a sua utilização repetida é limitada pela invasividade do procedimento. Deve-se ter em conta que plasmócitos com morfologia atípica podem infiltrar de forma focal, escapando à amostragem em biópsias pequenas — sendo recomendado, sempre que possível, associar os dados da biópsia a outras técnicas como FISH (*Fluorescence in situ hybridization*) ou NGS (*Next Generation Sequencing*), que detetam anomalias moleculares mesmo em amostras escassas (Rajkumar, 2024).

3.2. Imunologia

3.2.1. Eletroforese de Proteínas Séricas e Urinárias

A eletroforese de proteínas (EP) no soro e na urina constitui um método essencial para a detecção qualitativa e quantitativa da proteína monoclonal no MM. Esta proteína, produzida de forma excessiva e desregulada pelos plasmócitos neoplásicos, é um marcador direto da presença e extensão da doença clonal (Kyle & Rajkumar, 2009).

A técnica baseia-se na separação das proteínas de acordo com a sua carga elétrica e peso molecular, em suporte de gel (acetato de celulose, agarose) ou em capilar. A eletroforese capilar, atualmente a mais utilizada em laboratórios hospitalares, oferece maior resolução, sensibilidade e reprodutibilidade (Barnidge *et al.*, 2014).

Em indivíduos saudáveis, o perfil eletroforético revela as cinco frações principais: albumina, alfa-1, alfa-2, beta e gama-globulinas. No contexto do MM, observa-se frequentemente:

- Presença de um pico estreito e bem definido na região gama (ou ocasionalmente na zona beta), correspondente à proteína monoclonal — o chamado pico M (Anexo 7)
- Hipo ou agamaglobulinemia policlonal de fundo, reflexo da supressão da produção imunológica normal pelos plasmócitos malignos.

A quantificação da proteína monoclonal é realizada pela medição da área sob o pico, expressa em g/L. Este valor é usado no acompanhamento da doença e avaliação da resposta ao tratamento, segundo os critérios da International Myeloma Working Group (IMWG) (Kumar *et al.*, 2016).

A eletroforese de proteínas urinárias, aplicada preferencialmente à urina de 24 horas, é indispensável na detecção da proteína de Bence Jones — cadeias leves livres kappa ou lambda, filtradas pelos glomérulos e excretadas na urina. Esta análise deve ser acompanhada por imunofixação urinária, devido à menor sensibilidade da EP isolada para detetar cadeias leves. Em cerca de 15–20% dos doentes com MM, a proteína monoclonal detetada é exclusivamente de cadeias leves livres, sem imunoglobulina completa associada — situação designada por mieloma de cadeias leves (Dispenzieri *et al.*, 2004).

Deve ainda salientar-se que a presença de múltiplos picos monoclonais (biclonalidade), embora rara (~2%), deve ser valorizada, e que a ausência de pico M não exclui MM, como nos casos de mieloma não secretor.

A eletroforese, sendo um exame acessível e de baixo custo, representa uma porta de entrada laboratorial frequente no diagnóstico de MM, especialmente quando associada à clínica de anemia, lesões ósseas e/ou disfunção renal (Dispenzieri *et al.*, 2009).

3.2.2. Imunofixação

A imunofixação de proteínas (IF) é uma técnica imunoeletroforética de elevada sensibilidade, essencial na identificação da natureza da imunoglobulina monoclonal no mieloma múltiplo (Anexo 8). É considerada o método de referência para confirmar a presença e o tipo de proteína monoclonal, especialmente quando a eletroforese tradicional não é conclusiva (Katzmann *et al.*, 2009).

A técnica consiste na separação eletroforética das proteínas séricas ou urinárias, seguida pela aplicação de anticorpos específicos dirigidos contra as diferentes cadeias pesadas (IgG, IgA, IgM, etc.) e leves (kapa e lambda). A precipitação imunológica localizada revela o isotipo da proteína monoclonal, permitindo a sua caracterização como, por exemplo, IgG kapa ou IgA lambda (Mills *et al.*, 2016).

A IF pode ser realizada no soro, na urina de 24 horas e, nalguns centros, no líquido cefalorraquidiano (LCR), sobretudo na suspeita de envolvimento do sistema nervoso central. A sua sensibilidade é superior à da eletroforese de proteínas e é especialmente útil quando:

- O pico M é muito pequeno ou ausente na eletroforese (ex.: mieloma de cadeias leves);
- É necessário distinguir entre hiperglobulinemia policlonal reativa e uma monoclonalidade patológica;
- Há suspeita de biclonalidade ou de paraproteínas incomuns (ex.: IgD, IgE).

A IF é particularmente importante no diagnóstico de:

- Mieloma múltiplo não secretor, quando combinada com estudo da medula óssea e citometria de fluxo;

- Amiloidose AL (cadeias leves), onde a caracterização do tipo de cadeia é essencial para o diagnóstico e terapêutica dirigida (Merlini & Bellotti, 2003).

Após o diagnóstico, a IF é também utilizada para:

- Confirmar resposta completa ao tratamento — quando a proteína monoclonal desaparece totalmente;
- Detetar recidiva precoce, dado que a reaparecimento da paraproteína pode anteceder alterações clínicas.

Deve referir-se que a IF, apesar da sua especificidade, não é um método quantitativo. Para monitorização rigorosa da carga tumoral ao longo do tempo, devem ser utilizados métodos complementares, como a eletroforese capilar ou a quantificação de cadeias leves livres no soro.

3.2.3. Dosagem de Cadeias Leves Livres

A dosagem de cadeias leves livres (CLL) no soro representa um avanço significativo no diagnóstico e monitorização do MM, particularmente nas formas não secretoras ou de cadeias leves. Trata-se de um método sensível, que permite detetar e quantificar imunoglobulinas de cadeia leve kappa (κ) e lambda (λ) que circulam livremente no plasma, sem estarem ligadas a cadeias pesadas (Dispenzieri *et al.*, 2009).

Em condições fisiológicas, as células B produzem pequenas quantidades de cadeias leves livres, com uma proporção kappa/lambda (κ/λ) normal entre 0,26 e 1,65. No MM, há produção monoclonal excessiva de uma das cadeias leve:

- Aumento absoluto da cadeia envolvida (ex.: CLL- κ);
- Supressão da cadeia oposta, alterando o rácio κ/λ e refletindo a clonalidade tumoral (Katzmann *et al.*, 2002).
- A determinação das CLL é particularmente útil quando:
- Não se observa pico M na eletroforese, como no mieloma não secretor ou nos casos de mieloma de cadeias leves apenas;
- É necessário avaliar a resposta terapêutica, sobretudo em combinação com a imunofixação e a citometria de fluxo;

- Se suspeita de amiloidose AL, onde a produção de cadeias leves é frequentemente desproporcional e com repercussão clínica marcada (Merlini & Bellotti, 2003).

O método de dosagem mais amplamente utilizado em Portugal é baseado em nefelometria ou turbidimetria com anticorpos específicos anti-CLL, como no ensaio Freelite® (Binding Site®), aprovado pelas autoridades reguladoras para uso clínico (Bradwell *et al.*, 2003).

A interpretação dos resultados deve considerar:

- O valor absoluto de CLL-kappa e lambda;
- O rácio κ/λ , cuja alteração é altamente sugestiva de processo clonal;
- A presença de insuficiência renal, que pode causar elevação isolada de ambas as cadeias e desvirtuar o rácio, exigindo prudência interpretativa.

Este ensaio é atualmente incorporado nos critérios diagnósticos e de resposta da IMWG, sendo considerado marcador substituto em casos sem proteína M detetável por eletroforese ou imunofixação (Rajkumar *et al.*, 2014).

3.3. Avaliação Bioquímica e Marcadores Prognósticos

O MM provoca alterações bioquímicas significativas que afetam o metabolismo do cálcio, a função renal e a composição das proteínas plasmáticas. Pelo que a avaliação bioquímica de doentes com MM é fundamental tanto no estabelecimento do diagnóstico como na estratificação de risco e monitorização da evolução clínica. Vários parâmetros laboratoriais refletem o impacto sistémico da doença, a carga tumoral e o prognóstico.

3.3.1. Função renal

A creatinina sérica e a taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) devem ser avaliadas em todos os doentes. A insuficiência renal está presente em 20 a 40% dos pacientes no momento do diagnóstico, sendo atribuída, na maioria dos casos, à precipitação de cadeias leves nos túbulos renais (nefropatia por cilindros de proteína de Bence Jones) (Dimopoulos *et al.*, 2010). A presença de insuficiência renal constitui critério CRAB [C (Cálcio aumentado), R (alterações Renais), A (Anemia), B (lesões ósseas - Bone em inglês)] e

indica início de tratamento. A sua reversibilidade depende da precocidade da intervenção e da carga de proteína monoclonal circulante.

3.3.2. Cálcio Sérico e metabolismo ósseo

O cálcio é o mineral mais abundante no organismo, armazenado principalmente nos ossos e dentes. No contexto do MM, os plasmócitos malignos libertam citocinas como a interleucina-6 (IL-6) e o RANK-L e outras proteínas que ativam os osteoclastos, promovendo a reabsorção óssea e a consequente libertação de cálcio para o sangue. Esta atividade osteolítica resulta frequentemente em hipercalemia, uma complicação comum e potencialmente grave. A hipercalemia manifesta-se por sintomas como fadiga, confusão, náuseas, prisão de ventre e fraqueza muscular e deve ser considerada uma emergência oncológica e é também critério CRAB. Os doentes devem realizar radiografias ósseas ou técnicas de imagem sensíveis, como Tomografia Computorizada (TC) de baixa dose ou Tomografia por emissão de pósitrons com fluorodesoxiglicose (PET-FDG), para avaliação de lesões líticas (Terpos *et al.*, 2013).

3.3.3. Marcadores inflamatórios e hepáticos.

As proteínas totais no plasma incluem albumina e globulinas, com funções essenciais no transporte de substâncias, regulação osmótica e resposta imunitária.

Albumina

- Produzida no fígado, representa cerca de 55–65% das proteínas plasmáticas.
- Atua na manutenção da pressão oncótica e no transporte de diversas moléculas (hormonas, ácidos gordos, fármacos).
- Níveis reduzidos de albumina (<3,5 g/dL) estão associados a pior prognóstico no MM, podendo refletir inflamação sistémica, desnutrição ou compromisso hepático.

Globulinas

As globulinas dividem-se em subclasses com funções específicas:

- Alfa-1 globulinas: Ex. alfa-1-antitripsina, inibidoras de proteases.
- Alfa-2 globulinas: Ex. haptoglobina (liga hemoglobina livre) e ceruloplasmina (transporta cobre).

- Beta globulinas:
 - Beta-1: Ex. transferrina, transportadora de ferro.
 - Beta-2: Inclui proteínas do sistema complemento (C3, C4).
- Gama globulinas: Representam os anticorpos (IgG, IgA, IgM) produzidos pelas células plasmáticas.

No MM, há uma produção excessiva de imunoglobulinas monoclonais (proteína M), o que altera o padrão das proteínas totais, visível em eletroforese de proteínas séricas.

A β 2-microglobulina (β 2-MG) é uma proteína de baixo peso molecular que faz parte do Complexo Major de Histocompatibilidade da Classe I (MHC-I), presente na membrana de todas as células nucleadas, reflete a atividade metabólica das células tumorais e é eliminada por filtração glomerular.

A β 2-MG é um dos marcadores prognósticos mais importantes. Está frequentemente elevada no MM, em virtude da elevada renovação celular e da depuração renal reduzida.

A sua dosagem, em conjunto com a albumina sérica, permite a classificação segundo o International Staging System (ISS):

- Estádio I: β 2-M < 3,5 mg/L e albumina \geq 3,5 g/dL
- Estádio II: valores intermediários
- Estádio III: β 2-M \geq 5,5 mg/L

O sistema Revised-ISS (R-ISS) incorpora, além dos dois parâmetros acima, a presença de alterações citogenéticas de alto risco (ex. del(17p), t(4;14)) e os níveis de LDH, associando-os à agressividade biológica (Palumbo *et al.*, 2015).

3.3.4. Lactato Desidrogenase (LDH)

A LDH é um marcador inespecífico, mas o seu aumento associa-se a maior proliferação tumoral e comportamento mais agressivo. É frequentemente utilizada em combinação com outros parâmetros prognósticos para classificar o risco. No mieloma múltiplo, níveis séricos elevados de LDH refletem uma maior taxa de renovação celular e atividade metabólica do tumor, o que traduz maior agressividade biológica. Por isso, a LDH é frequentemente incluída em sistemas de estratificação de risco, como o Revised International Staging System (R-ISS) para mieloma múltiplo, onde é usada em conjunto com outros

parâmetros (β 2-microglobulina, albumina sérica e alterações citogenéticas de alto risco (Rajkumar, 2024).

3.4. Técnicas Citogenéticas e Biologia Molecular

A análise citogenética e molecular dos plasmócitos neoplásicos no MM é hoje uma componente essencial no seu diagnóstico, prognóstico, monitorização e da definição terapêutica. Estas técnicas permitem a identificação de alterações cromossômicas estruturais e numéricas, bem como de mutações em genes chave da carcinogénese hematológica, com implicações prognósticas bem estabelecidas.

3.4.1. Citogenética Convencional (Cariótipo).

A citogenética convencional analisa as metáfases obtidas por cultura celular, permitindo a observação de alterações numéricas (ex.: hipodiploidia) e estruturais (ex.: deleções, translocações). Contudo, a sua sensibilidade é limitada no MM, devido à baixa taxa de proliferação dos plasmócitos, o que resulta frequentemente em culturas com ausência de metáfases tumorais (Fonseca *et al.*, 2009).

Apesar destas limitações, quando viável, o cariótipo pode detetar alterações como:

- Hipodiploidia ou pseudodiploidia (associadas a pior prognóstico); Translocações envolvidas do cromossoma 14, como t(11;14), t(4;14) e t(14;16).

3.4.2. Hibridização *in situ* por Fluorescência (FISH).

Esta técnica utiliza sondas fluorescentes específicas para regiões cromossômicas de interesse, aplicadas diretamente em núcleos interfásicos (não divididos), o que permite detetar alterações genéticas mesmo em amostras com baixa concentração de células tumorais. É atualmente o método de eleição para avaliação citogenética no MM, sendo recomendada pela IMWG como exame obrigatório no momento do diagnóstico (Avet-Loiseau *et al.*, 2013).

Vantagens: elevada sensibilidade, rapidez e aplicabilidade clínica. Utiliza-se em combinação com marcação por imunomagnetismo (CD138+) para enriquecer a amostra com plasmócitos.

A FISH pode ser realizada em:

- Preparações de sangue periférico ou medula óssea enriquecidas para plasmócitos;

- Amostras frescas ou fixadas, com aplicação de sondas específicas para:
 - del(17p13) → perda do gene *TP53* (alto risco);
 - t(4;14) → fusão entre *MMSET* e *FGFR3* (alto risco);
 - t(14;16) → envolvimento de *c-MAF* (alto risco);
 - t(11;14) → translocação envolvendo *CCND1* (risco intermediário, possível indicação para terapia com venetoclax) (Kumar & Rajkumar, 2018). A presença de pelo menos uma anomalia de alto risco (del(17p), t(4;14) ou t(14;16)) define citogenética adversa no R-ISS e associa-se a menor resposta terapêutica e sobrevivência mais curta (Walker *et al.*, 2014).

3.4.3. Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).

Técnicas como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e o sequenciamento de nova geração (NGS) têm vindo a ser integradas na caracterização mais profunda da doença, com aplicação crescente em centros diferenciados.

A PCR pode ser utilizada para:

- Avaliação de rearranjos genéticos do gene das imunoglobulinas (*IgH*);
- Detecção de transcritos tumorais residuais (doença mínima residual – DMR).

O NGS, por sua vez, permite:

- Avaliação do perfil mutacional tumoral (ex.: *TP53*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*);
- Monitorização da evolução clonal;
- Identificação de novos alvos terapêuticos, sobretudo em doentes refratários ou com recidivas múltiplas.

4. Critérios de diagnóstico.

4.1. Gamopatia monoclonal de significância indeterminada (MGUS).

A MGUS é o primeiro sinal indicativo para a pesquisa diagnóstica. Confirma-se o diagnóstico de MGUS quando o pico monoclonal no sangue periférico é inferior a 3 g/dL (Tabela 3), a proteína de Bence-Jones na urina de 24 horas é inferior a 0,5 g/dL e a proliferação de células medulares clonais é inferior a 10%, com ausência de envolvimento de um órgão alvo, como o rim, os ossos ou a medula.

O risco de progressão da MGUS para MM é de aproximadamente 1% ao ano, justificando vigilância clínica e laboratorial regular para detetar precocemente a evolução para doença sintomática. Assim, pretende-se evitar potenciais complicações resultantes da lesão de órgãos alvo. O risco de progressão de uma MGUS depende da concentração da proteína monoclonal, do tipo de proteína monoclonal, do rácio de cadeias leves livres no soro, da percentagem de plasmócitos na medula óssea, da proporção fenotípica dos clones de células plasmáticas e da presença de imunoparesia (Berenson, 2024).

Tabela 3 - MGUS no Diagnóstico de Mieloma múltiplo

Parâmetro	Critério de diagnóstico
Pico monoclonal no sangue periférico	<3g/dL
Proteína Bence Jones na urina de 24h	<0,5g/dL
Proliferação de células clonais na medula óssea	< 10%
Envolvimento de órgãos alvos	Nenhum
Risco de progressão para o MM	1% por ano

4.2. Biópsia medular.

A biópsia medular, consiste na recolha de um fragmento sólido do osso da medula óssea, geralmente da crista ilíaca posterior, com o objetivo de analisar a presença de infiltração neoplásica (Tabela 4). Esta técnica é fundamental para confirmar a presença de plasmócitos clonais (neoplásicos), sendo que valores $\geq 10\%$ sustentam o diagnóstico de MM, conforme critérios do International Myeloma Working Group (IMWG).

Tabela 4 – Diagnóstico do Mieloma Múltiplo pela técnica de Biópsia

Órgãos alvos	Objetivo	Achados característicos de MM	Interpretação da Biópsia
Ósseos e partes mole	Identificar lesão óssea ou partes moles com presença de plasmócito clonais(plasmocitomas)	Plasmócitos clonais restritos na lesão ou plasmócitos solitários	Confirmar um tumor plasmocitário isolado.
Medula Óssea	Identificar, plasmocitoma Solitário com Envolvimento Mínimo da Medula Óssea	Medula óssea com <10% de plasmócitos clonais sem evidência de doença sistémica. Pode evoluir para mieloma múltiplo assintomático.	A biópsia revela plasmócitos clonais na lesão primária e infiltração leve (<10%) na medula óssea
Medula óssea	Identificar $\geq 10\%$ de plasmócitos clonais na medula óssea	Plasmócitos clonais > 10% na medula óssea.	A biópsia confirma infiltração extensa da medula óssea. Confirma MM ativo.

4.3. Calcium elevation, Renal Insufficiency, Anemia, Bone lesions (CRAB).

O acrónimo CRAB é utilizado para descrever um conjunto de manifestações clínicas associadas a lesão de órgão-alvo, causadas pela proliferação dos plasmócitos malignos no mieloma múltiplo. Quando a biópsia confirma a presença de plasmócitos > 10% é indicativo de MM e nesta fase também é acompanhado com um ou mais eventos definidores de mieloma por CRAB (hipercalcemia, insuficiência renal, anemia e lesões ósseas), (Tabela 5). A presença de qualquer um destes eventos, em associação com células plasmáticas clonais da medula óssea $\geq 10\%$ ou plasmocitoma ósseo ou extra medular comprovado por biópsia, confirma o diagnóstico de mieloma sintomático e justifica o início do tratamento (Laubach *et al.* 2025).

Tabela 5- CRAB no Diagnóstico do Mieloma Múltiplo

Alteração (CRAB)	Critério Diagnóstico	Mecanismo Subjacente	Importância Clínica
C – Hipercalemia	Cálcio sérico >11 mg/dL ou >1 mg/dL acima do limite superior do normal	Aumento da reabsorção óssea devido à ativação dos osteoclastos por citocinas tumorais (IL-6, RANKL, MIP-1 α).	Pode causar fraqueza muscular, constipação, poliúria, letargia e risco de arritmias cardíacas. Indica doença avançada.
R – Insuficiência Renal	Creatinina sérica \geq 2 mg/dL ou depuração de creatinina <40 mL/min	Deposição de cadeias leves (proteína de Bence Jones) nos túbulos renais, causando nefropatia do mieloma. Além disso, hipercalemia contribui para a disfunção renal.	Diminuição do volume urinário, náusea e vômitos, edemas, confusão mental, sede intensa, poliúria, obstipação. Indica doença avançada.
A – Anemia	Hemoglobina <10 g/dL ou >2 g/dL abaixo do normal	Infiltração da medula óssea por plasmócitos clonais, reduzindo a produção de eritrócitos. Além disso, citocinas inflamatórias contribuem para anemia da doença crônica.	Leva a fadiga severa, palidez, dispneia e redução da qualidade de vida.
B – Lesões Ósseas	Lesões osteolíticas visíveis em TC ou RM	A secreção de fatores tumorais ativa osteoclastos e inibe osteoblastos, levando à destruição óssea progressiva	Aumenta o risco de fraturas patológicas, dor óssea intensa e compressão medular, podendo levar à incapacidade funcional.

4.4. Citogenética.

O diagnóstico citogenético do mieloma múltiplo tem como principal objetivo a identificação de alterações cromossômicas que influenciam o prognóstico, a estratificação de risco e, em alguns casos, a escolha terapêutica (Tabela 6). Estas alterações são detetadas através de técnicas de citogenética convencional e mais frequentemente, de hibridação in situ por fluorescência (FISH) aplicada a plasmócitos purificados.

Tabela 6 -Diagnóstico Citogenético do Mieloma Múltiplo.

Técnica	Método de Diagnóstico	Principais achados citogenéticos	Importância Clínica
FISH (Hibridização in situ por fluorescência)	Sondas fluorescentes específicas para identificar translocações e deleções	t(11;14), t(4;14), t(14;16), t(14;20), deleção 17p (<i>TP53</i>), amplificação 1q	Identifica translocações <i>IgH</i> , monossomias e aneuploidias; auxilia na estratificação de risco.
Cariótipo Convencional	Análise microscópica do padrão cromossômico	Hipodiploidia, hiperdiploidia, translocações estruturais	Deteta aneuploidias e grandes reordenamentos, mas possui baixa sensibilidade.
MLPA (amplificação de sonda dependente de ligação múltipla)	Técnica molecular para amplificação de regiões genômicas	Deleções de <i>TP53</i> (17p), amplificação de 1q21, deleção de 13q	Identifica alterações em número de cópias (CNVs), associadas a prognóstico desfavorável.
NGS (Sequenciamento de Nova Geração)	Sequenciamento de DNA de alta resolução	Mutação em <i>KRAS</i> , <i>NRAS</i> , <i>BRAF</i> , <i>TP53</i> , <i>MYC</i>	Deteta mutações pontuais e oferece maior precisão na identificação de biomarcadores terapêuticos.
SNP-Array (Microarray de polimorfismo de nucleotídeo único)	Análise genômica de alta densidade para detetar CNV e LOH (perda de heterozigidade)	Perda de heterozigidade em 1p, 16q e 22q	avaliar clonalidade tumoral e prever agressividade da doença.

5. Populações de Risco e fator predisponente

A suscetibilidade do MM esta associada a variações significativas de fatores genéticos, demográficos, ambientais e imunológicos que influenciam o desenvolvimento da doença. Alguns desses fatores incluem:

Idade: O risco de desenvolver MM aumenta consideravelmente com a idade, sendo a doença predominantemente diagnosticada em indivíduos com mais de 60 anos, com uma incidência máxima em pessoas acima dos 70 anos. Esta maior suscetibilidade deve-se à acumulação progressiva de alterações genéticas somáticas nas células plasmáticas e à diminuição da eficiência do sistema imunitário relacionada com o envelhecimento, que favorece a sobrevivência e expansão de clones malignos (Nunes *et al.*, 2024).

Sexo e etnia: A incidência do MM é mais elevada no sexo masculino do que no feminino. Além disso, indivíduos de ascendência afro-americana apresentam risco duas a três vezes superior ao observado em populações caucasianas, sugerindo uma predisposição genética.

Autoimunidade e imunossupressão: Pacientes com doenças autoimunes ou inflamatórias crônicas, como artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e outras condições que promovem ativação imunológica persistente, apresentam maior risco para o desenvolvimento de gamopatias monoclonais e mieloma múltiplo. A imunossupressão prolongada, seja por condições como HIV/SIDA, ou devido a terapias para transplante de órgãos, também está associada a um risco aumentado, devido à diminuição da vigilância imunológica (Iizuka *et al.*, 2025).

Exposição ambiental: A exposição a agentes químicos e físicos representa um fator de risco importante. Trabalhadores expostos a pesticidas, solventes orgânicos (como o benzeno), herbicidas, radiação ionizante ou que atuam em setores como a agricultura, indústrias químicas ou de petróleo têm maior probabilidade de desenvolver MM. Estes agentes podem causar danos no DNA das células plasmáticas ou induzir mutações que promovem a transformação maligna (American Cancer Society, 2025).

6. Doença Residual Mínima.

A Doença Residual Mínima (DRM) refere-se à pequena quantidade de células plasmocitárias neoplásicas que persistem na medula óssea após a realização do tratamento para mieloma múltiplo (MM). Apesar de não serem detetáveis por métodos convencionais, estas células residuais podem manter-se viáveis e proliferar, originando recidiva da doença. A detecção da DRM é, por isso, um dos parâmetros mais importantes para a avaliação do prognóstico e da eficácia terapêutica em pacientes com MM. A presença da DRM normalmente é avaliada após indução, transplante autólogo de medula óssea e /ou em fases de manutenção. Assim, a avaliação da DRM é fundamental para:

- Monitorizar a resposta terapêutica em níveis de sensibilidade muito elevados;
- Identificar precocemente a persistência ou reaparecimento da doença;
- Ajustar estratégias terapêuticas, podendo indicar intensificação do tratamento ou a manutenção para prevenir recaídas;
- Avaliar o risco individualizado do paciente, ajudando na tomada de decisão clínica (James's & Leeds, 2019; Ding *et al.*, 2021).

6.1.Métodos de Detecção da Doença Residual Mínima.

Dado que as células tumorais residuais podem estar presentes em frequências muito baixas, a sua deteção exige técnicas altamente sensíveis:

Citometria de Fluxo Multiparamétrica (MFC):

- Utiliza um painel abrangente de anticorpos marcados com fluorocromos para identificar células plasmocitárias clonais com base em perfis imunofenotípicos específicos.
- Permite distinguir células neoplásicas de normais com sensibilidade até 10^{-5} (1 célula tumoral em cada 100.000 normais).
- É o método preferencial em muitos centros pela rapidez, reprodutibilidade e custo relativamente menor.

Sequenciamento de Nova Geração (NGS):

- NGS é ótima para quantificação ultra-sensível da clonalidade, mas não dá informações imunofenótípicas
- A sensibilidade é até 10^{-6} (1 célula tumoral em cada 1.000.000 normais). Mas esta técnica possibilita uma análise genética detalhada e personalizada.
- O NGS é particularmente útil em monitorização a longo prazo e em casos em que a citometria não seja conclusiva.

A avaliação da DRM constitui o melhor marcador prognóstico e uma ferramenta essencial para o controlo terapêutico do MM. A utilização combinada de técnicas moleculares, citométricas e imagiológicas proporciona uma abordagem abrangente para a monitorização eficaz da doença, contribuindo para a melhoria do prognóstico e qualidade de vida dos pacientes (Azambuja *et al.*, 2022).

Quanto a interpretação, a DRM é negativa quando não se deteta doença com a sensibilidade máxima da técnica utilizada. Esta associada a melhor prognóstico, maior sobrevivência global e livre de progressão. DRM positiva: Indica presença de doença residual, mesmo quando o doente está em remissão completa pelas técnicas convencionais. Pode implicar maior risco de recaída (Pasquini *et al.*, 2024).

Relativamente ao critério de escolha de uma ou outra técnica, as guidelines do IMWG (International Myeloma Working Group) aceitam as duas desde que a sensibilidade seja $\geq 10^{-5}$ e que o laboratório tenha validação adequada. Na prática a MFC costuma ser mais acessível e rápida enquanto a NGS pode ser mais cara e nem sempre está disponível em todos os hospitais. Existem ainda outras limitações que é o fato de a NGS necessitar da amostra basal (Pasquini *et al.*, 2024).

7. Monitorização do Mieloma Múltiplo e Controlo da Doença

O MM é uma doença incurável, caracterizada por episódios de recidiva após o tratamento, mesmo quando este é inicialmente bem-sucedido. O objetivo da terapêutica é controlar os sintomas, retardar a progressão da doença e melhorar a qualidade de vida do paciente.

Apesar da ausência de cura definitiva, o tratamento adequado permite prolongar a remissão e reduzir a carga tumoral. No entanto, existe sempre o risco de recidiva ou progressão do MM, o que torna essencial uma monitorização rigorosa.

Objetivos da Monitorização

- **Avaliação da resposta ao tratamento:** Realizada através da quantificação das proteínas monoclonais (proteína M), cadeias leves livres no soro e na urina, e da avaliação da função renal, que pode ser afetada pela doença.
- **Deteção precoce de recidivas:** Monitorizar o aumento das proteínas monoclonais, mesmo na ausência de sintomas clínicos, para intervir rapidamente.
- **Controlo dos efeitos adversos do tratamento:** Avaliação regular da função hepática, cardíaca e outras funções orgânicas, para minimizar complicações e ajustar a terapêutica (Rajkumar, 2024).

III. CONCLUSÃO

O MM é uma neoplasia hematológica maligna caracterizada pela proliferação clonal de plasmócitos na medula óssea, resultando na produção excessiva de imunoglobulinas monoclonais ou cadeias leves livres. O diagnóstico do MM requer uma abordagem multidisciplinar, integrando dados laboratoriais, clínicos e imagiológicos, essenciais para a definição do estadiamento, prognóstico e planejamento terapêutico.

O laboratório assume um papel central na gestão do MM, não apenas no diagnóstico inicial, mas também na estratificação do risco e na monitorização da resposta ao tratamento. Exames como a eletroforese de proteínas, imunofixação, dosagem de cadeias leves livres, estudo citogenético por FISH e a análise da DRM são fundamentais para a avaliação detalhada da doença e para a tomada de decisões clínicas personalizadas.

A correta interpretação dos achados laboratoriais deve ser feita em estreita colaboração com a equipa médica, de forma a garantir uma abordagem terapêutica baseada em evidência e adaptada ao perfil biológico de cada doente. Por exemplo, a presença da translocação t(11;14) pode orientar para o uso de inibidores de BCL-2, como o Venetoclax, enquanto a deleção do braço curto do cromossoma 17 (del(17p)) está associada a um prognóstico reservado e necessidade de terapias mais agressivas.

Em suma, a integração entre os dados laboratoriais e a clínica é indispensável para o acompanhamento eficaz do mieloma múltiplo, contribuindo para melhorar a sobrevida e a qualidade de vida dos doentes. O avanço nas técnicas laboratoriais e imagiológicas tem permitido diagnósticos mais precoces, maior precisão na avaliação da resposta terapêutica e uma abordagem cada vez mais individualizada no tratamento do MM.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Affer, M., Chesi, M., Chen, W. D. G., Keats, J. J., Demchenko, Y. N., Roschke, A. V., Van Wier, S., Fonseca, R., Bergsagel, P. L., & Kuehl, W. M. (2014). Promiscuous MYC locus rearrangements hijack enhancers but mostly super-enhancers to dysregulate MYC expression in multiple myeloma. *Leukemia*, 28(8), 1725–1735.
- American Cancer Society. (2025). *Risk factors for multiple myeloma*. <https://www.cancer.org>
- Arnoult, N., & Karlseder, J. (2015). Complex interaction between the DNA-damage response and mammalian telomeres. *Nature Structural & Molecular Biology*, 22(11), 859–866.
- Avet-Loiseau, H., Durie, B.G.M., Cavo, M., Attal, M., Gutierrez, N., Haessler, J., Goldschmidt H., Hajek R., Lee, JH., Sezer, O., Barlogie, B., Crowley, J., Fonseca R., Testoni N., Ross, F., Rajkumar, S. V., Sonneveld, P., Lahuerta, J., Moreau, P., & International Myeloma Working Group. (2013). Combining fluorescence in situ hybridization data with the International Staging System staging improves risk assessment in myeloma: An International Myeloma Working Group study. *Leukemia*, 27(3), 711–717.
- Azambuja, A., Schluga, Y., Justus, J., Beltrame, M., Funke, V., Bonfim, C., Malvezzi, M., & Pasquini, R. (2022). Implantação da pesquisa de doença residual mínima por citometria de fluxo de alta sensibilidade. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 44(S), S567-S568.
- Bain, B. J., Clark, D. M., & Wilkins, B. S. (2010). *Bone marrow pathology* (4th ed.). Wiley-Blackwell.
- Bain, B. J., Bates, I., Laffan, M. A., & Lewis, S. M. (2016). *Dacie and Lewis practical haematology* (12th ed.). Elsevier.
- Barnidge, D. R., Dasari, S., Ramirez-Alvarado, M., Kurtin, P. J., Snyder, M. R., & Dispenzieri, A. (2014). Phenotyping of serum immunoglobulins by mass spectrometry in multiple myeloma. *Journal of Proteome Research*, 13(8), 4164–4171.
- Barreto, I., Nogueira, B., Pessoa, F., Ribeiro, R., Moreira, A., Gadelha, R., & Nunes, C. (2024). Perfil imunofenotípico de pacientes portadores de mieloma múltiplo

- atendidos no Hospital. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 46(Supl. 4), S537–S538.
- Bataille, R., Jégo, G., Robillard, N., Barillé-Nion, S., Harousseau, J.-L., & Moreau, P. (2004). The role of the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 18(6), 1359–1376.
- Berenson, J. R. (2024). *Multiple myeloma (plasma cell myeloma)*. Institute for Myeloma and Bone Cancer Research.
- Bio-Optica Milano. (2022). *Improving pathology*. <https://www.bio-optica.it>
- Borah, S., Xi, L., Zaug, A. J., Powell, N. M., Dancik, G. M., Cohen, S. B., Costello, J. C., Theodorescu, D., & Cech, T. R. (2015). TERT promoter mutations and telomerase reactivation in urothelial cancer. *Science*, 347(6225), 1006–1010.
- Bradwell, A., Carr-Smith, H., Mead, G., Harvey, T., & Drayson, M. (2003). Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *The Lancet*, 361(9356), 489–491.
- Brihi, J. E., Surabhi, P., & Austin, H. (2024). *Normal and Abnormal Complete Blood Count With Differential*. National Library of Medicine.
- Chinudomwong, P., Aleeyas, B., & Rangisiri, T. (2020). Diagnostic performance of reticulocyte hemoglobin equivalent in assessing iron status. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 34(6), 23225.
- Cho, Y.-U., Park, C.-J., Park, S.-J., Chi, H.-S., Jang, S., Park, S.-H., Seo, E.-J., Yoon, D.-H., Lee, J.-H., & Suh, C. (2013). Immunophenotypic characterization and quantification of neoplastic bone marrow plasma cells by multiparametric flow cytometry and its clinical significance in Korean myeloma patients. *Journal of Korean Medical Science*, 28(4), 542–548.
- Coly, M. N., Guèye, M. W., Makalou, D., Gadji, M., & Diatta, A., (2025). Diagnostic and Prognostic Challenges in Cytology for Multiple Myeloma: A Case Series in a Resource-limited Setting. *Journal of Clinical Hematology*, 6 (1), 1–6. DOI: 10.33696/haematology.6.062.
- Corre, J., Perrot, A., Caillot, D., Belhadj, K., Hulin, C., Leleu, X., Facon, T., Buisson, L., Do Souto, L., Lannes, R., Dufrechou, S., Prade, N., Orsini-Piocelle, F., Voillat, L., Jaccard, A., Karlin, L., Macro, M., Brechignac, S., Dib, M., Sanhes, L.,... &

- Avet-Loiseau, H. (2021). *del(17p)* without TP53 mutation confers a poor prognosis in intensively treated newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Blood*, *137*(9), 1192–1195.
- Cristóbal-Vargas, S., Cuadrado, M., & Gutiérrez., N. C. (2025). *MYC* alterations in multiple myeloma: Genetic insights and prognostic impact. *Neoplasia.*, *66*,101177.
- Dimopoulos, M. A., & Terpos, E. (2005). Myeloma bone disease: Pathophysiology and management. *Annals of Oncology*, *16*(8), 1223–1231.
- Dimopoulos, M. A., Terpos, E., Chanan-Khan, A., Leung, N., Ludwig, H., Jagannath, S., Niesvizky, R., Giralt, S., Femand, J., Bladé, J., Comenzo, R.L., Sezer, O., Palumbo, A., Harousseau, J., Richardson, P.G., Barlogie, B., Anderson, K.C., Sonneveld, P., Tosi, P.,... & Miguel, J.S. (2010). Renal impairment in patients with multiple myeloma: A consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *Journal of Clinical Oncology*, *28*(33), 4976–4984.
- Ding, H., Xu, J., Lin, Z., Huang, J., Wang, F., Yang, Y., Cui, Y., Luo, H., Gao, Y., Zhai, X., Pang, W., Zhang, L., & Zheng, Y. (2021). Minimal residual disease in multiple myeloma: Current status. *Biomarker Research*, *9*, 75.
- Dispenzieri, A., Katzmann, J. A., Kyle, R. A., Larson, D. R., Melton, L. J., Colby, C. L., Therneau, T. M., & Gertz, M. A. (2004). Prevalence and prognostic significance of monoclonal gammopathy of undetermined significance in patients with primary systemic amyloidosis. *The New England Journal of Medicine*, *350*(25), 2499–2504.
- Dispenzieri, A., Kyle, R. A., Merlini, G., San Miguel, J. F., Ludwig, H., Hajek, R., Palumbo, A., Jagannath, S., Bladé, J., Lonial, S., Dimopoulos, M. A., Comenzo, R., Einsele, H., Barlogie, B., Anderson, K. C., Gertz, M. A., Harousseau, J.L., Attal, M., Tosi, P., & Durie, BGM. (2009). International Myeloma Working Group guidelines for serum free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*, *23*(2), 215–224.

- Doksani, Y., Wu, J. Y., de Lange, T., & Zhuang, X. (2013). Super-resolution fluorescence imaging of telomeres reveals TRF2-dependent T-loop formation. *Cell*, *155*(2), 345–356.
- Endres, T., Solvie, D., Heidelberger, J. B., Andrioletti, V., Baluapuri, A., Ade, C. P., Haffner, M. C., Tufegdžić Vidaković, A., Rogel, N., Herold, S., Schuhmacher, M., & Eilers, M. (2021). Ubiquitylation of *MYC* couples transcription elongation with double-strand break repair at active promoters. *Molecular Cell*, *81*(4), 830–844.
- Fernández de Larrea, C., Kyle, R. A., Durie, B. G. M., Ludwig, H., Usmani, S. Z., Vesole, D. H., Hajek, R., San Miguel, J. F., Sezer, O., Sonneveld, P., Kumar, S.K., Mahindra, A., Comenzo, R., Palumbo, A., Mazumber, A., Anderson, K.C., Richardson, P.G., Badros, A.Z., Caers, J.,... & Shah, J.J. (2013). Plasma cell leukemia: Consensus statement on diagnostic requirements and treatment recommendations. *Leukemia*, *27*(4), 780–791. <https://doi.org/10.1038/leu.2012.336>.
- Fonseca, R., Bergsagel, P. L., Drach, J., Shaughnessy, J. D., Gutierrez, N. C., Stewart, A. K., Morgan, G. J., Van Ness, B., Chesi, M., Minvielle, S., Neri, A., Barlogie, B., Kuehl, W. M., Liebisch, P., Davies, F., Chen-Kiang, S., Durie, B.G.M., Carrasco, R., Sezer, O., & Avet-Loiseau H. (2009). International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: Spotlight review. *Leukemia*, *23*, 2210–2221.
- Gertz, M. (2023). *Multiple myeloma: Morphologic and immunophenotypic features. UpToDate*. Retrieved from <https://www.uptodate.com>.
- Hänsel-Hertsch, R., Beraldi, D., Lensing, S. V., Marsico, G., Zyner, K., Parry, A., Di Antonio, M., Pike, J., Kimura, H., Narita, M., Tannahill, D., & Balasubramanian, S. (2016). G-quadruplex structures mark human regulatory chromatin. *Nature Genetics*, *48*(10), 1267–1272.
- Hayashi, M. T., Cesare, A. J., Rivera, T., & Karlseder, J. (2015). Cell death during crisis is mediated by mitotic telomere deprotection. *Nature*, *522*(7557), 492–496.
- Hertl, M. (2022). *Stem cell transplantation*. University Medical Center.

- Hill, A., & Halsey, J. A. (2020). Reticulocyte parameters: Laboratory applications and clinical relevance. *International Journal of Laboratory Hematology*, 42(5), 465–474.
- Iizuka, N., Hoshida, Y., Miyamoto, A. T., Shigyo, H., Nishigaichi, A., Yoshino, T., & Ohshima, K. (2025). Immunosuppressants/immunomodulators and malignancy: Risks associated with chronic immunosuppression and immune deficiency. *Journal of Clinical Medicine*, 14(14), 5160.
- Jaenicke, L. A., von Eyss, B., Carstensen, A., Wolf, E., Xu, W., Geyer, A. K., Li, H., Kruse, T., Ott, G., & Popov, N. (2016). Ubiquitin-dependent turnover of *MYC* antagonizes *MYC*/PAF1C complex accumulation to drive transcriptional elongation. *Molecular Cell*, 61(1), 54–67.
- James, S., & Leeds, R. (2019). Minimal residual disease in multiple myeloma: Prognostic and therapeutic implications. *Hematology: American Society of Hematology Education Program*, 2019(1), 222–230.
- Jha, R. K., Kouzine, F., & Levens, D. (2023). Function and regulation of *MYC* from a physiological perspective. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1268275. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1268275>.
- Kalkat, M., De Melo, J., Hickman, K. A., Lourenço, C., Redel, C., Resetca, D., Tamachi, A., Tu, W. B., & Penn, L. Z. (2017). *MYC* deregulation in primary human cancers. *Genes*, 8(6), 151. <https://doi.org/10.3390/genes8060151>.
- Katzmann, J. A., Clark, R. J., Abraham, R. S., Bryant, S., Lymp, J. F., & Larson, D. R. (2002). Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains. *Clinical Chemistry*, 48(9), 1437–1444.
- Katzmann, J. A., Kyle, R. A., Benson, J. T., Larson, D. R., Snyder, M. R., Lust, J. A., Rajkumar, S. V., & Dispenzieri, A. (2009). Screening panels for monoclonal gammopathies: Serum free light chain analysis versus serum protein electrophoresis and immunofixation electrophoresis combination. *Clinical Chemistry*, 55(8), 1517–1522. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.126664>.
- Kishimoto, T. (2006). Interleukin-6: Discovery of a pleiotropic cytokine. *Arthritis Research & Therapy*, 8(Suppl 2), S2. <https://doi.org/10.1186/ar1916>.

- Klewes, L., Vallente, R., Dupas, E., Brand, C., Grün, D., Guffei, A., Sathitruangsak, C., Awe, J.A., Kuzyk, A., Lichtensztejn, D., Tammur, P., Ilus, T., Tamm, A., Punab, M., Rubinger, M., Olujohungbe, A., & Mai, S. (2013). Three-dimensional nuclear telomere organization in multiple myeloma. *Translational Oncology*, 6(6):749-56. <https://doi.org/10.1593/tlo.13613>.
- Kumar, S. K., Callander, N. S., Adekola, K., Anderson, L., Baljevic, M., Campagnaro, E., Castillo, J. J., Chandler, J. C., Costello, C., Efebera, Y., Faiman, M., Garfall, A., Godby, K., Hillengass, J., Holmberg, L., Htut, M., Ann, C., Kang, Y., Hultcrantz, M.,... & Kumar, R. (2020). Multiple myeloma, version 3.2021. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 18(12), 1685–1717. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2020.0057>.
- Kumar, S.K., Paiva, B., Anderson, K. C., Durie, B., Landgren, O., Moreau, P., Munshi, N., Lonial, S., Bladé, J., Mateos, M.-V., Dimopoulos, M. A., Kastritis, E., Boccardo, M., Orłowski, R., Goldschmidt, H., Spencer, A., Hou, J., Chng, W.J., Usmani, S.Z.,... & Avet-Loiseau, H. (2016). International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment. *The Lancet Oncology*, 17(8), e328–e346. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30206-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30206-6).
- Kuter, D. J. (2023). *Laboratory evaluation of blood disorders*. Medscape. Harvard Medical School. <https://emedicine.medscape.com>.
- Kyle, R. A., & Rajkumar, S. V. (2009). Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia*, 23(1), 3–9. <https://doi.org/10.1038/leu.2008.291>.
- Laubach, J. P., Rajkumar, S. V., & Connor, R. F. (2025). *Multiple myeloma: Clinical features, laboratory manifestations, and diagnosis*. In *UpToDate*. Retrieved from <https://www.uptodate.com>.
- Machin, S. J., Oguni, S., Hart, D., Kunka, S., & Briggs, C. (2011). Performance evaluation of the Sysmex XE-5000 haematology analyser. *International Journal of Laboratory Hematology*, 33(1), 41–47.
- McCoy, J. P. (2002). Basic principles of flow cytometry. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 16(2), 229–243.

- Melania, C., Lo Presti, R., Ferraro, P., Mancuso, S., Siragusa, S., & Calvaruso, G. (2024). Changes in RDW according to prognostic predictors in newly diagnosed multiple myeloma. *Scientific Reports*, *14*, 3385. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-53385-6>.
- Merlini, G., & Bellotti, V. (2003). Molecular mechanisms of amyloidosis. *The New England Journal of Medicine*, *349*(6), 583–596. <https://doi.org/10.1056/NEJMra023144>.
- Mills, J. R., Kohlhagen, M. C., Dasari, S., Willrich, M. A. V., Barnidge, D. R., & Dispenzieri, A. (2016). Performance metrics of MALDI-TOF mass spectrometry in monoclonal protein detection. *Clinical Chemistry*, *62*(10), 1374–1382.
- Möller, M., & Pedersen, N. (2004). Prevalence of clonal plasma cells in bone marrow biopsies in patients with multiple myeloma using CD138 and kappa/lambda immunostaining. *Histopathology*, *44*(5), 452–459.
- Netter, F. H. (2019). *Atlas of human anatomy* (7th ed.). Elsevier.
- Ningombam, A., Acharya, S., Sarkar, A., Kumar, S.K., & Chopra, A. (2021). Scattergram patterns of hematological malignancies on Sysmex XN-Series analyzer. *Journal of Applied Hematology*, *12*(2), 83–89. https://doi.org/10.4103/joah.joah_176_20.
- Nunes, S. B., Cardoso, J. S., Pelegrini, G. G., Costa, V. M. P., Barbosa, G. D. S., Guerato, G. S., Moura, Y. S., & Graciolli, L. H. M. S. G. (2024). Perfil epidemiológico da mortalidade por mieloma múltiplo e neoplasias malignas de plasmócitos. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, *46*(4), 1261–1267.
- Paiva, B., Vidriales, M.-B., Pérez, J. J., Mateos, M.-V., Corral, L. L., & Lahuerta, J.-J. (2010). Multiparameter flow cytometry for the identification of the tumor clone in multiple myeloma. *Haematologica*, *95*(4), 703–709.
- Palumbo, A., Avet-Loiseau, H., Oliva, S., Lokhorst, H. M., Goldschmidt, H., Rosinol, L., Richardson, P., Caltagirone, S., Lahuerta, J.-J., Facon, T., Bringhen, S., Gay, F., Attal, M., Passera, R., Spencer, A., Offidani, M., Kumar, S.K., Musto, P., Lonial, S.,... & Moreau, P. (2015). Revised International Staging System for multiple myeloma: A report from the International Myeloma Working Group. *Journal of Clinical Oncology*, *33*(26), 2863–2869. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.61.2267>.

- Pasquini, M. C., Wallace, P. K., Logan, B. R., Kaur, M., Tario, J. D., Howard, A., Zhang, Y., Brunstein, C., Efebera, Y., Geller, N., Giralt, S., Hari, P., Horowitz, M.M., Koreth, J., Krishnan, A., Landau, H., Somlo, G., Shah, N., Stadtmauer, E.,... & Hahn, T. (2024). Minimal residual disease status in multiple myeloma 1 year after autologous hematopoietic cell transplantation and lenalidomide maintenance are associated with long-term overall survival. *Journal of Clinical Oncology*, *42*(23), 2757–2768.
- Piaton, E., Fabre, M., Goubin-Versini, I., Bretz-Grenier, M.-F., Courtade-Saïdi, M., Vincent, S., Belleannée, G., Thivolet, F., Boutonnat, J., Debaque, H., Fleury-Feith, J., Vielh, P., Egelé, C., Bellocq, J.-P., Michiels, J.-F., & Cochand-Priollet, B. (2016). Guidelines for May–Grünwald–Giemsa staining in haematology and non-gynaecological cytopathology: Recommendations of the French Society of Clinical Cytology (SFCC) and the French Association for Quality Assurance in Anatomic and Cytologic Pathology (AFAQAP). *Cytopathology*, *27*(6), 359–368. <https://doi.org/10.1111/cyt.12323>
- Picariello, L., Grappone, C., Polvani, S., & Galli, A. (2014). Telomerase activity: An attractive target for cancer therapeutics. *World Journal of Pharmacology*, *3*(4), 86–96. <https://doi.org/10.5497/wjp.v3.i4.86>.
- Rachakonda, P. S., Hosen, I., Verdier, P. J., Fallah, M., Heidenreich, B., Ryk, C., Wiklund, N. P., Steineck, G., Schadendorf, D., Hemminki, K., & Kumar, R. (2013). TERT promoter mutations in bladder cancer affect patient survival and disease recurrence through modification by a common polymorphism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(43), 17426–17431. <https://doi.org/10.1073/pnas.1310522110>.
- Rajkumar, S. V. (2024). Multiple myeloma: 2024 update on diagnosis, risk stratification, and management. *American Journal of Hematology*, *99*(9), 1802–1824. <https://doi.org/10.1002/ajh.27422>.
- Rajkumar, S. V., Dimopoulos, M. A., Palumbo, A., Bladé, J., Merlini, G., Mateos, M.-V., Kumar, S.K., Hillengass, J., Kastritis, E., Richardson, P., Landgren, O., Paiva, B., Dispenzieri, A., Weiss, B., Leleu, X., Zweegman, S., Lonial, S., Rosinol, L., Zamagni, E.,... & San Miguel, J. F. (2014). International Myeloma Working

- Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The Lancet Oncology*, 15(12), e538–e548. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70442-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70442-5).
- Rajkumar, S. V., & Kumar, S. K. (2016). Multiple myeloma: Diagnosis and treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, 91(1), 101–119.
- Rawstron, A. C., Orfao, A., Beksac, M., Bezdicikova, L., Brooimans, R. A., Bumbea, H., Dalva, K., Fuhler, G., Gratama, J., Hose, D., Kovarova, L., Lioznov, M., Mateo, G., Morilla, R., Mylin, A.K., Omedé, P., Pellat-Deceunynck, C., Andres, M.P., Petrucci, M.,... & Johnsen, H.E. (2008). Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica*, 93(3), 431–438. <https://doi.org/10.3324/haematol.11080>.
- Shah, D. (2025). *Multiple myeloma: Blood studies*. Medscape. <https://emedicine.medscape.com>.
- Shay, J. W., & Wright, W. E. (2011). Role of telomeres and telomerase in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 21(6), 349–353. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2011.10.001>.
- Silva, J. R., & Pereira, M. C. (2020). Técnicas de coloração em hematologia: Aplicação de May–Grünwald e Giemsa na análise morfológica celular. *Revista Brasileira de Hematologia*, 12(3), 40–55.
- Spivak, J. L. (2024). *Multiple myeloma*. Johns Hopkins University School of Medicine. <https://www.hopkinsmedicine.org>.
- Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., Thiele, J., & Vardiman, J. W. (Eds.). (2017). *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues* (Revised 4th ed.). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (IARC).
- Terpos, E., Morgan, G., Dimopoulos, M. A., Drake, M. T., Lentzsch, S., Raje, N., Sezer, O., García-Sanz, R., Shimizu, K., Turesson, I., Reiman, T., Jurczyszyn, A., Merlini, G., Spencer, A., Leleu, X., Cavo, M., Munshi, N., Rajkumar, S.V., Durie, B.G.M., & Roodman, G.D. (2013). International Myeloma Working Group recommendations for the treatment of multiple myeloma–related bone disease. *Journal of Clinical Oncology*, 31(18), 2347–2357. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.47.7901>.

- Uslu, V. V., Petretich, M., Ruf, S., Langenfeld, K., Fonseca, N. A., Marioni, J. C., & Spitz, F. (2014). Long-range enhancers regulating *MYC* expression are required for normal facial morphogenesis. *Nature Genetics*, *46*(7), 753–758. <https://doi.org/10.1038/ng.2971>.
- Van Dongen, J. J. M., Lhermitte, L., Böttcher, S., Almeida, J., Van der Velden, V. H. J., Flores-Montero, J., Rawstron, A., Asnafi, V., Lécresse, Q., Lucio, P., Mejstrikova, E., Szczepański, T., Kalina, T., De Tute, R., Brüggemann, M., Sedek, L., Cullen, M., Langerak, A. W., Mendonça, A.,... & Orfao, A. (2012). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*, *26*(9), 1908–1975.
- Walker, B. A., Wardell, C. P., Melchor, L., Hulkki, S., Potter, N. E., Johnson, D. C., Fenwick, K., Kozarewa, I., Gonzalez, D., Lord, C. J., Ashworth, A., Morgan, G. J., & Davies, F. E. (2014). Intraclonal heterogeneity and distinct molecular mechanisms characterize the development of t(4;14) and t(11;14). *Blood*, *123*(18), 2512–2519.
- Wong, K. H., & Soffer, G. K. (2022). Characteristics and prevalence of antibiotic allergies in patients with sickle cell disease: A single-center retrospective study. *American Journal of Hematology*, *97*(7), E247–E249. <https://doi.org/10.1002/ajh.26555>.
- Wu, G., Xing, Z., Tran, E. J., & Yang, D. (2019). DDX5 helicase resolves G-quadruplex and is involved in *MYC* gene transcriptional activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(41), 20453–20461. <https://doi.org/10.1073/pnas.1909047116>.
- Yuan, X., Larsson, C., & Xu, D. (2019). Mechanisms underlying the activation of TERT transcription and telomerase activity in human cancer: Old actors and new players. *Oncogene*, *38*, 6172–6183. <https://doi.org/10.1038/s41388-019-0872-9>.

V. ANEXOS

ANEXO 1

Técnica de Esfregaço e coloração

1. Materiais Necessários

- Lâminas porta-objetos (limpas e desengorduradas)
- Amostra de sangue (EDTA ou punção digital — preferencialmente sangue capilar recém-colhido)
- Lâmina espalhadora (com borda lisa e uniforme)
- Corantes: **May-Grünwald** e **Giemsa**
- Tampão fosfato pH 6.8–7.2
- Pipeta ou capilar para recolha da gota
- Cronómetro ou relógio
- Microscópio óptico

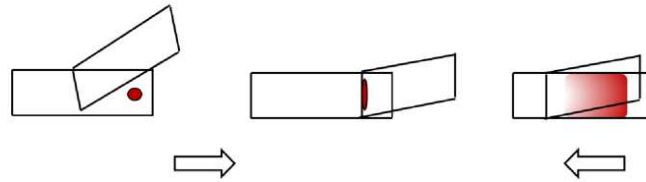
2. Realização do Esfregaço (Técnica Manual)

Passo 1: Colocação da amostra

- Coloca-se **uma pequena gota de sangue (2 a 3 mm de diâmetro)** a cerca de **1 cm da extremidade** de uma lâmina porta-objetos.

Passo 2: Espalhamento

- Posiciona-se uma segunda lâmina (espalhadora) em um ângulo de aproximadamente **30–45°** em relação à lâmina com a gota.
- Encosta-se a borda da lâmina espalhadora à gota de sangue e, quando o sangue se espalhar por capilaridade ao longo da borda, **movimenta-se rapidamente e com firmeza para a frente**, formando uma camada fina e uniforme de sangue.



Passo 3: Secagem

- A lâmina deve ser deixada a secar **ao ar, à temperatura ambiente**, sem uso de calor direto.

Observação Microscópica

- Após secagem, o esfregaço está pronto para observação em **microscópio óptico**.
- Utiliza-se **objetiva de imersão (100x)** com óleo para análise morfológica detalhada (J, 2023).

ANEXO 2

Coloração May-Grünwald-Giemsa (MGG)

Preparação dos Reagentes (tabela procedimento de coloração) detalhes sobre a coloração de lâmina de sangue periférico.

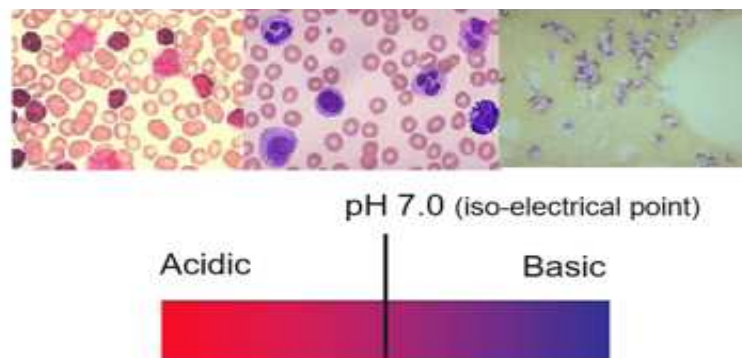
- **Corante May-Grünwald:** pronto a usar ou diluído em metanol absoluto.
- **Corante Giemsa:** geralmente preparado em **diluição 1:20 a 1:10** com **tampão fosfato pH 7.0–7.2** (varia com o protocolo do laboratório).
- **Tampão fosfato:** assegura o pH ideal para coloração equilibrada.

Tabela - Procedimento da coloração do esfregaço de sangue periférico.

Etapa	Reagente	Tempo	Observações
Fixação e coloração inicial	May-Grünwald puro	3 minutos	Atua como fixador e primeira coloração
Lavagem rápida	Água destilada ou tampão pH 7.0	1 minuto	Remove o excesso de corante
Segunda coloração (com contraste)	Giemsa diluído (1:10–1:20)	10 – 15 minutos	Realça detalhes nucleares e citoplasma
Lavagem final	Água destilada	1 minuto	Deixar correr em posição vertical
Secagem	Temperatura ambiente	5 – 10 minutos	Não utilizar calor

ANEXO 3

pH no esfregaço de sangue periférico



O esfregaço com pH 7.0 permite a melhor visualização da morfologia

ANEXO 4

Morfologia dos Plasmócitos

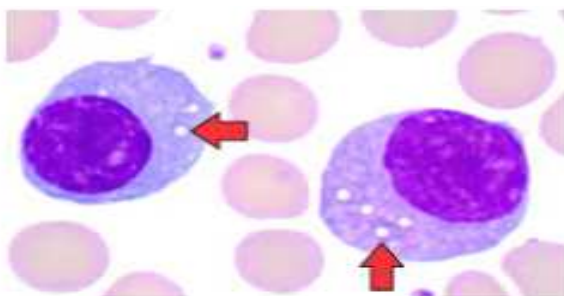


Figura A: Plasmócitos com citoplasma vacuolizado.

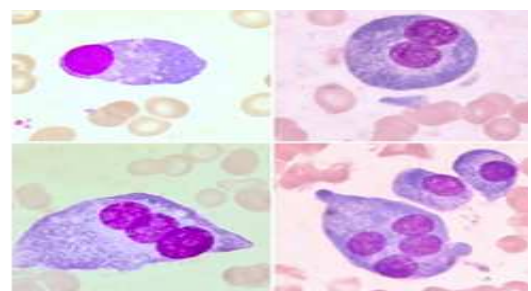


Figura B: Plasmócitos multinucleados

ANEXO 5

Procedimento da citometria de fluxo

Princípio da Técnica

A imunofenotipagem é realizada através da **citometria de fluxo**, uma tecnologia que permite a análise simultânea de múltiplos **marcadores antigênicos**, localizados na superfície ou no interior das células.

1. **Amostra:** Pode ser utilizado **aspirado de medula óssea, sangue periférico** ou **outros fluidos biológicos** (ex.: líquido ascítico).
2. **Preparação celular:**
 - As células são suspensas numa **solução tampão isotónica**, que assegura a viabilidade celular e evita a formação de agregados.
3. **Marcação imunológica:**
 - Utilizam-se **anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos**, que se ligam a **antígenos específicos** expressos pelas células plasmáticas.
4. **Análise por citometria de fluxo:**
 - As células marcadas passam **individualmente** através de um **feixe de laser** no citómetro.
 - Cada célula dispersa a luz de forma distinta e emite **fluorescência**, de acordo com os fluorocromos ligados aos anticorpos.
 - A fluorescência é medida, permitindo identificar e quantificar **subpopulações celulares específicas**. (Rajkumar, S.V., 2020).

ANEXO 6

Procedimento da biópsia

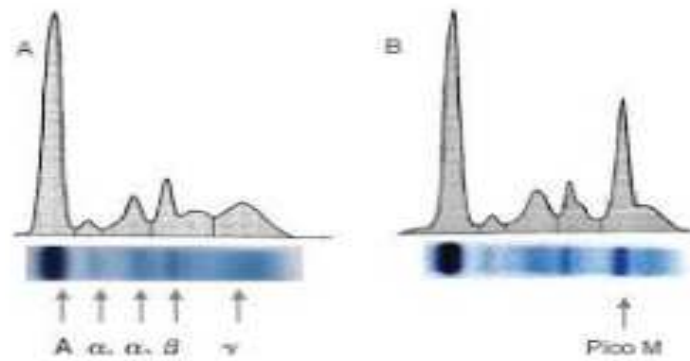
Para a colheita, utiliza-se uma **agulha de biópsia Jamshidi**, apropriada para extrair um **cilindro de tecido medular** com aproximadamente **1 a 2 cm de comprimento**. A biópsia é geralmente realizada na **crista ilíaca posterior** (osso da bacia), sob **anestesia local**.

Preparação da amostra obtida:

- **Fixada em formalina neutra tamponada a 10%** para preservação tecidual.
- Posteriormente, é submetida à **coloração com Hematoxilina-Eosina (H&E)**.

- Pode ser complementada por técnicas de **imunohistoquímica**, para identificação de marcadores específicos como **CD138, CD117, CD38, CD56 e Ki-67**, que ajudam na caracterização dos **plasmócitos malignos**

ANEXO 7 Proteinograma



A: Proteinograma normal; B: Proteinograma anormal com presença de pico monoclonal na região gama.

ANEXO 8

Imunofixação

Imagem de Resultado de Imunofixação no MM.

