



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ FACULDADE
DE MEDICINA
NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TRANSLACIONAL**

IGOR VALENTIM BARRETO

**CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DE PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA
MÚLTIPLO POR HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA COMPARATIVA EM MATRIZ (aCGH).**

FORTALEZA

2024

IGOR VALENTIM BARRETO

CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA
MÚLTIPLO POR HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA COMPARATIVA EM MATRIZ (aCGH).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Medicina Translacional.

Orientadora: Profa Dr.^a Caroline de Fátima Aquino
Moreira Nunes

Co-orientador: Prof. Dr. Edivaldo Herculano Corrêa de
Oliveira

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B262c Barreto, Igor Valentim.
Caracterização Genômica De Pacientes Portadores De Mieloma Múltiplo Por Hibridização Genômica Comparativa Em Matriz (aCGH). / Igor Valentim Barreto. – 2024.
98 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional, Fortaleza, 2024.

Orientação: Profa. Dra. Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes.
Coorientação: Prof. Dr. Edivaldo Herculano Corrêa de Oliveira.

1. Mieloma múltiplo. 2. Hematologia. 3. Hibridização Genômica Comparativa. 4. Câncer. I. Título.
CDD 610

IGOR VALENTIM BARRETO

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA
MÚLTIPLO POR HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA COMPARATIVA EM MATRIZ (aCGH).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Medicina Translacional.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Ana Virgínia Soares Van Den Berg Universidade
Federal do Pará (UFPA)

Prof. Dr. André Salim Khayat
Universidade Federal do Pará (UFPA)

Dr. Wallax Augusto Silva Ferreira Instituto
Evandro Chagas (IEC)

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à Deus, familiares e amigos que estiveram presentes durante o processo. Muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha família, por todo suporte e oportunidades que puderam me proporcionar. Obrigado por tudo.

Aos membros do Laboratório de Farmacogenética -NPDM/UFC e aos meus colegas e amigos do meu grupo de pesquisa em oncohematologia: Flávia, Beatriz, Renan, Karol, Caio e Leidivan. Com agradecimentos especiais a Beatriz Nogueira por seu apoio e principalmente pelo suporte que recebi no final deste período, a Flavia Melo pela parceria em todos os momentos e por todos os ensinamentos.

Às agências de fomento Cnpq, Funcap e Capes que permitiram a realização desse projeto. Assim como a coordenação do programa de pós-graduação em Medicina translacional, em especial a Ludilene, por todo auxílio prestado do início ao fim deste período

O ambulatório da hematologia do HGF com o Dr. Deivide e Dra. Ana Paula que além de realizarem todas as coletas de medula óssea dos pacientes participantes e me ensinaram muito. Obrigado Jaira e Aurélia pelo acolhimento e por tornarem a rotina no ambulatório mais leve. Também agradeço o Dr. Rodrigo, chefe do ambulatório da hematologia, a Dra. Kaira e o Dr. Mateus.

Ao meu coorientador Edivaldo Oliveira que me recebeu tão bem no Instituto Evandro Chagas, juntamente com a Carolina Amorim e o Wallax Augusto, no qual tive a oportunidade de aprender muito no tempo em que trabalhamos juntos.

A Caroline Aquino, minha orientadora, toda minha admiração e muito obrigado pela oportunidade e por toda confiança.

A todos os amigos que me apoiaram, me ouviram e estiveram comigo por todo esse período, muito obrigado.

EPÍGRAFE

“Mantenha o foco. Nunca desvie seus olhos, porque se uma abertura surge, mesmo nosso poder insignificante pode ser suficiente para determinar o destino do mundo.”

Shikamaru Nara

RESUMO

O Mieloma Múltiplo (MM) é uma neoplasia hematológica caracterizada pela proliferação clonal descontrolada de linfócitos B diferenciados na medula óssea, levando à produção excessiva de imunoglobulinas monoclonais. O comprometimento medular e o excesso de imunoglobulinas no organismo constituem as principais causas dos sintomas clínicos. Atualmente, o número de casos de MM tem aumentado, afetando predominantemente homens, com maior incidência em indivíduos acima de 60 anos. O diagnóstico baseia-se em avaliação clínica, exames medulares, dosagem de imunoglobulinas e exames de imagem para avaliação óssea. Neste contexto, este estudo teve como objetivo caracterizar o perfil genômico e epidemiológico de pacientes com MM no estado do Ceará. Para isso, foram analisados 95 pacientes, estratificados segundo o *International Staging System* (ISS), considerando idade, gênero, região, parâmetros laboratoriais e ocupação. Os resultados indicaram associações significativas entre a estratificação de risco e variáveis como Hb ($p=0,003$), B2M ($p<0,001$), albumina ($p=0,048$), plaquetas ($p=0,023$) e insuficiência renal ($p=0,002$). A análise de aCGH em 16 pacientes revelou um total de 323 CNVs, sendo 172 ganhos, 117 perdas e 32 regiões de perda de heterozigidade (LOH), com tamanhos variando de 3Kb a 110.779Kb. Dentre os ganhos, destacaram-se genes drivers como o *HERC2*, ainda não correlacionado com o MM, *MSR1*, também não relatado no MM e com grande associação com o microambiente tumoral, e *DMBT1*, gene supressor tumoral para o cérebro e câncer epitelial, mas ainda não correlacionado com o MM. Ganhos específicos na via *JAK-STAT* foram observados no grupo ISS1, com ênfase para os genes drivers *JAK2* e *JAK3*, além da via *RIG-I-like receptor* que também esteve presente no grupo ISS3, implicando na ativação da via *NF- κ B*. Os ganhos nas vias olfativas foram identificados em todos os grupos e tem sido associada com o câncer. Nos grupos ISS1 e ISS2, perdas em vias de replicação de DNA, reparo por excisão de nucleotídeos e carcinogênese química sugerem envolvimento com características como instabilidade genômica, evasão à apoptose, proliferação celular, angiogênese e metástase. O grupo ISS2 apresentou maior número de LOH e menor número de ganhos, características possivelmente únicas. O MM, portanto, apresenta as vias de sinalização *JAK-STAT* e *RIG-I-like receptor* fortemente relacionadas com a doença. Genes *HERC2* e *MSR1* surgem como prováveis biomarcadores para o grupo ISS 1, assim como o gene *OCN* para o grupo ISS 2, que também apresentou maior número de LOH e menor número de ganhos. Tais achados contribuem para elucidar sua patogênese do MM e direcionar estratégias terapêuticas.

Keywords: Mieloma Múltiplo; Hematologia; Hibridização Genômica Comparativa; Câncer.

ABSTRACT

Multiple Myeloma (MM) is a hematologic neoplasm characterized by uncontrolled clonal proliferation of differentiated B lymphocytes in the bone marrow, leading to excessive production of monoclonal immunoglobulins. Bone marrow involvement and excess immunoglobulins in the body are the main causes of clinical symptoms. Currently, the number of MM cases has increased, predominantly affecting men, with a higher incidence in individuals over 60 years of age. Diagnosis is based on clinical evaluation, bone marrow examinations, immunoglobulin levels, and imaging tests for bone assessment. In this context, this study aimed to characterize the genomic and epidemiological profile of patients with MM in the state of Ceará. For this purpose, 95 patients were analyzed, stratified according to the International Staging System (ISS), considering age, gender, region, laboratory parameters, and occupation. The results indicated significant associations between risk stratification and variables such as Hb ($p=0.003$), B2M ($p<0.001$), albumin ($p=0.048$), platelets ($p=0.023$) and renal failure ($p=0.002$). The aCGH analysis in 16 patients revealed a total of 323 CNVs, 172 gains, 117 losses and 32 regions of loss of heterozygosity (LOH), with sizes ranging from 3Kb to 110,779Kb. Among the gains, driver genes such as HERC2, not yet correlated with MM, MSR1, also not reported in MM and with a strong association with the tumor microenvironment, and DMBT1, a tumor suppressor gene for brain and epithelial cancer, but not yet correlated with MM, stood out. Specific gains in the JAK-STAT pathway were observed in the ISS1 group, with emphasis on the driver genes JAK2 and JAK3, in addition to the RIG-I-like receptor pathway that was also present in the ISS3 group, implying the activation of the NF- κ B pathway. Gains in the olfactory pathways were identified in all groups and have been associated with cancer. In the ISS1 and ISS2 groups, losses in DNA replication, nucleotide excision repair and chemical carcinogenesis pathways suggest involvement with characteristics such as genomic instability, apoptosis evasion, cell proliferation, angiogenesis and metastasis. The ISS2 group presented a higher number of LOH and a lower number of gains, possibly unique characteristics. MM, therefore, presents the JAK-STAT and RIG-I-like receptor signaling pathways strongly associated with the disease. HERC2 and MSR1 genes emerge as probable biomarkers for the ISS 1 group, as does the OCLN gene for the ISS 2 group, which also presented a higher number of LOH and a lower number of gains. These findings contribute to elucidating the pathogenesis of MM and directing therapeutic strategies.

Keywords: Multiple myeloma; Hematology; Comparative Genomic Hybridization; Cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Progressão das gamopatias monoclonais.	23
Figura 2. Alterações citogenéticas no mieloma múltiplo.	32
Figura 3. Estratificação dos pacientes com MM atendidos no HGF	41
Figura 4. Distribuição geográfica dos pacientes atendidos com MM no HGF	43
Figura 5. Proteína monoclonal dos pacientes com MM atendidos no HGF	44
Figura 6. Sintomas dos pacientes com MM atendidos no HGF	44
Figura 7. Apresentação das principais CNVs identificadas na população do estudo.	48
Figura 8. Apresentação de CNVs por cromossomo no grupo ISS1	50
Figura 9. Diagrama de Sankey representando a análise de enriquecimento genômico referente aos ganhos no grupo ISS1.	52
Figura 10. Via de sinalização JAK-STAT	53
Figura 11. Diagrama de Sankey representando a análise de enriquecimento genômico referente as perdas no grupo ISS1.....	54
Figura 12. Apresentação de CNVs por cromossomo no grupo ISS2	55
Figura 13. Diagrama de Sankey representando a análise de enriquecimento genômico referente aos ganhos no grupo ISS2.	56
Figura 14. Diagrama de Sankey representando a análise de enriquecimento genômico referente as perda no grupo ISS2.	57
Figura 15. <i>Via Chemical carcinogenesis-DNA adducts</i>	58
Figura 16. Apresentação de CNVs por cromossomo no grupo ISS3.....	60
Figura 17. Diagrama de Sankey representando a análise de enriquecimento genômico referente aos ganhos no grupo ISS3.	62
Figura 18. Via de sinalização <i>RIG-I-like receptor</i>	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estratificação de risco Durie-Salmon Staging.....	27
Tabela 2. Estratificação de risco Multiple Myeloma International Staging System	28
Tabela 3. Estratificações de risco do mieloma múltiplo	28
Tabela 4. Sistema de score presente no R2-ISS.....	30
Tabela 5. Estratificações de risco dos pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo do estudo.....	37
Tabela 6. Ocupação laboral dos pacientes dignosticados com MM.....	41
Tabela 7. Exato de Fisher dos dados Clínico-Epidemiológicos dos pacientes diagnosticados com MM	45
Tabela 8. Número total de CNVs.....	47
Tabela 9. Números de LOH identificados na população do estudo e por grupos de risco.	47
Tabela 10. Regiões com ganhos em comum na população do estudo.	49
Tabela 11. Regiões com perdas em comum na população do estudo.	50
Tabela 12. Dados clinicos pacientes do grupo ISS1.....	50
Tabela 13. Dados clinicos pacientes do grupo ISS2.....	55
Tabela 14. Dados clinicos pacientes do grupo ISS3	60
Tabela 15. Análise de Kruskal-Wallis entre grupos de risco.	65
Tabela 16. Teste de post-hoc de CNVs entre grupos de risco	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

aCHG	Hibridização Genômica Comparativa em Array
ALB	Albumina
AC	Anormalidades cromossômicas
ASCT	Transplante autólogo de células tronco
B2M	beta-2 microglobulina
BRAF	<i>B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase</i>
CART-T	Terapias celulares com receptores quiméricos de antígeno T
CCND1	<i>Ciclina D1</i>
CCND3	<i>Ciclina D3</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CNV	Variações no número de cópias
CRAB	Hipercalemia, insuficiência renal, anemia e dor óssea
DARA-VRD	Daratumumabe + VDR
DATA-VTD	Daratumumabe + VTD
DIS3	<i>DIS3 homolog, exosome endoribonuclease and 3'-5' exoribo</i>
DMBT1	<i>Deleted in Malignant Brain Tumors 1</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DRD	Daratumumabe, lenalidomida, dexametasona
DRM	Doença Residual Mínima
DSS	Durie-Salmon Staging
E2A	<i>Immunoglobulin Enhancer-Binding Factors E12</i>
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EUA	Estados Unidos da América
EZH2	<i>Enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FDR	<i>False Discovery Rate</i>
FGFR3	<i>Receptor 3 do fator de crescimento do fibroblasto</i>
FISH	Hibridização in situ por fluorescência
FLC	<i>Free light chains</i>
FLT3	<i>Receptor tirosina quinase 3 relacionado à fms</i>
GLOBOCAN	<i>Global Cancer Observatory</i>
GM	Gamopatia monoclonal
Hb	Hemoglobina
HERC2	<i>HECT And RLD Domain Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase 2</i>
HGF	Hospital Geral de Fortaleza
Ig	Imunoglobulina
IL-6	interleucina 6
IMiDs	Imunomodulador
IMWG	<i>International Myeloma Working Group</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
---	---

LOH	Perda de heterosigiosidade
MAFB	<i>Fator de transcriço MAF bZIP B</i>
MDM2	<i>E3 Ubiquitin-Protein Ligase Mdm2</i>
MGUS	Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado
MSR1	<i>Macrophage scavenger receptor 1</i>
MM	Mieloma Múltiplo
MO	Medula ssea
MTOR	<i>Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase</i>
MYC	<i>MYC proto-oncogene, bHLH transcription factor</i>
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
NR	Não reportado
NRAS	<i>NRAS proto-oncogene, GTPase</i>
NSD2	<i>Proteína do Domnio SET de Ligação ao Receptor Nuclear 2</i>
NPM1	<i>Nucleofosmina 1</i>
OCLN	<i>occludin</i>
Plq	Plaquetas
R2-ISS	Second Revision of the International Staging System
RFC1	<i>Replication factor C subunit 1</i>
R-ISS	Revised International Staging System
SMM	Mieloma Múltiplo Assintomtico
RUNX1	<i>Fator de Transcriço 1 da Famlia RUNX</i>
RUNX1T1	<i>Co-repressor transcricional do parceiro RUNX1</i>
SUS	Sistema nico de Saúde
SG	Sobrevida global
TAMs	Macrófagos associados a tumores
TC	Tomografia computadorizada
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TP53	Proteína Tumoral p53
UBA52	<i>Ubiquitin A-52 residue ribosomal protein fusion product 1</i>
VCD	Bortezomibe, ciclofosfamida, dexametasona
VRD	Bortezomibe, lenalidomida, dexametasona
VTD	Bortezomibe, talidomida, dexametasona
WBC	<i>White Blood Cell</i>
WWOX	<i>WW domain-containing oxidoreductase</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 <i>Mieloma múltiplo</i>	17
1.2 <i>Variações no número de cópias (CNV)</i>	18
1.3 <i>Problema a ser pesquisado</i>	19
2.1 <i>Objetivo Geral</i>	20
2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	20
3 REVISÃO DA LITERATURA	21
3.1 <i>Mieloma Múltiplo</i>	21
3.1.1 <i>Epidemiologia</i>	21
3.1.2 <i>Fatores de Risco</i>	21
3.1.4 <i>Etiopatogenia e Patogênese</i>	23
3.1.5 <i>Diagnóstico</i>	25
3.1.5.1 <i>Hibridização Genômica Comparativa em ARRAY (aCGH)</i>	26
3.1.6 <i>Estratificação de Risco</i>	27
3.1.7 <i>Alterações Genéticas no Mieloma Múltiplo</i>	30
3.1.8 <i>Tratamento</i>	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1 <i>Pacientes</i>	35
4.1.1 <i>Aspectos Éticos</i>	35
4.2 <i>Etapas do Estudo Clínico</i>	35
4.2.1 <i>Amostras para Estudo Molecular</i>	36
4.2.1.1 <i>Medula Óssea</i>	36
4.2.2 <i>CrITÉRIOS de inclusão, exclusão e de retirada do estudo</i>	36
4.2.3 <i>Estratificação clínica de pacientes do estudo</i>	36
4.2.4 <i>Seleção de pacientes para realização de aCGH</i>	37
4.3. MÉTODOS DE ANÁLISE MOLECULAR	37
4.3.1 <i>Extração de DNA</i>	37
4.3.2 <i>aCGH – Hibridização Genômica Comparativa em ARRAY</i>	37
4.4 ANÁLISE DOS DADOS	38
4.4.1 <i>Análise dos Dados Clínico-Epidemiológicos</i>	38
4.4.2 <i>Análise integrativa de Alteração de Número de Cópias (CNAs)</i>	39
4.4.3 <i>Interpretação Biológica e Análise Estatística</i>	39
4.4.4 <i>Comparação entre grupos</i>	39
5 RESULTADOS	41
5.1 <i>Dados clínico-epidemiológicos dos pacientes</i>	41
5.2 <i>Perfil das Variações dos Números de Cópias por ACGH Array em Pacientes com MM</i> 47	
5.2.1 <i>Alterações Gerais</i>	47

5.2.2 Perfil das CNVs presentes no grupo ISS 1	50
5.2.3 Perfil das CNVs presentes no grupo ISS 2	55
5.2.4 Perfil das CNVs presente no grupo ISS 3.....	60
5.2.5 Comparação entre grupos de pacientes	65
6 DISCUSSÃO.....	66
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
8 CONCLUSÃO	73
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
ANEXO 1: COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO PROJETO AO COMITÊ DE ÉTICA.....	91
ANEXO 2: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	92
ANEXO 3 - QUESTIONÁRIO CLÍNICO PARA PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MÚLTIPLO	97

1 INTRODUÇÃO

1.1 Mieloma múltiplo

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia de linfócitos B maduros, chamados de plasmócitos, as quais produzem proteínas monoclonais em excesso. Essa neoplasia apresenta uma alta complexidade molecular, frequentemente associadas a aberrações citogenéticas. Estima-se que o MM represente cerca de 1% de todas as neoplasias conhecidas e tumores e 13% das neoplasias hematológicas (Freitas e Barboza Pinto, 2021; Ricardo et al., 2021).

O MM é a segunda patologia onco-hematológica mais frequente no mundo, predominando em indivíduos acima de 60 anos. Nos últimos anos, houve um aumento na incidência de casos, embora os dados sobre o perfil genômico do MM na América Latina permaneçam limitados (Oliveira Santos, 2020; Pantoja et al., 2021).

Entre 2013 e 2022, aproximadamente 30.842 pacientes foram diagnosticados e tratados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), com prevalência do sexo masculino. Fatores de risco incluem histórico familiar, estilo de vida e raça negra, destacando sua relevância como problema de saúde pública no país (Curado et al., 2018; Oliveira et al., 2023).

A etiologia do MM não é completamente elucidada. Contudo, alterações genéticas nas células-tronco hematopoiéticas podem ser potencializadas pela exposição ocupacional a agrotóxicos, aumentando em até 58% o risco de desenvolvimento da doença, mesmo em baixas doses (Hochane et al., 2017; Medical Masterclass Contributors; Edited By John Firth E Firth, 2019). Fatores de exposição ambiental e ocupacional atuam como agentes iniciadores, promovendo alterações no DNA, ou como agentes promotores, estimulando a proliferação descontrolada das células alteradas (INCA, 2020; Moraes et al., 2017).

O MM tem uma evolução gradativa e é considerado incurável. O tratamento objetiva o controle da doença e inclui quimioterapia e transplante de células-tronco hematopoiéticas (Cejalvo e De La Rubia, 2017; Kumar et al., 2017). No entanto, o custo do tratamento é elevado. Em 2016, o custo médio anual de um paciente em rede privada foi de R\$ 124 mil, sendo 54% destinado a medicamentos, dos quais 47,2% correspondem à quimioterapia convencional, e 18,2% relacionados a medicamentos fora das indicações formais (Pepe et al., 2018). Entretanto, com o surgimento de novas terapias, os custos variaram significativamente, alcançando valores entre R\$ 493.955 e R\$ 1.618.186 por paciente com MM refratário à lenalidomida em um ano, dependendo da linha terapêutica adotada (Decimoni, Souza Marinheiro, Moreira Cavalcante, 2023).

Apesar dos avanços terapêuticos, o tratamento atual não resulta em cura, e os pacientes frequentemente desenvolvem comorbidades, resistência e refratariedade. Assim, há demanda por abordagens inovadoras. Terapia alvo-dirigidas, especialmente baseadas na estratificação genética, emergem como opções promissoras para melhorar o prognóstico e superar as limitações das

abordagens tradicionais (Shah et al., 2020; Smetana et al., 2014).

1.2 Variações no número de cópias (CNV)

As variações no número de cópias (CNVs) são alterações genômicas estruturais caracterizadas por mudanças no número de cópias de segmentos específicos do DNA. Essas modificações incluem perdas, ganhos e, em alguns casos, perda de heterozigose (LOH) (Riggs; et al., 2020; South, et al., 2013).

Os CNVs frequentemente envolvem segmentos de DNA com pelo menos 1 quilobase (kb), que diferem em número de cópias em relação a um genoma de referência. Essas alterações podem afetar genes inteiros, regiões transcritas, bem como sequências não codificantes (Kearney, et al., 2011). Deleções, em particular, podem causar LOH ao eliminar alelos específicos de loci gênicos (Heil, 2023).

As alterações podem ocorrer conjuntamente, nas quais podem levar a desregulação na expressão e estrutura de genes envolvidos em vias celulares importantes, tanto em células somáticas quanto em células proliferativas (germlines) (Hovhannisyan, et al., 2019; Mielczarek, et al., 2022).

No MM, CNVs regiões de LOH frequentemente coexistem, refletindo a heterogeneidade clonal das células neoplásicas. Essas alterações genômicas destacam a complexidade molecular associada à progressão da doença e têm implicações significativas no prognóstico dos pacientes (Luo; et al., 2022; Neuse et al., 2020; Walker, et al., 2010).

1.3 Problema a ser pesquisado

O MM trata-se de uma doença complexa a nível molecular, cujo parâmetros genômicos ainda não foram totalmente esclarecidos. Apesar da evolução sobre o conhecimento da doença de modo geral e sobre seu tratamento, os pacientes continuam apresentando distintos desfechos associados, muitas vezes, com recidiva e evoluções fatais. Dentre as possíveis causas se encontra a heterogeneidade genômica da doença, sendo ela causada pela variedade de rearranjos moleculares que podem ser observadas nas células malignas do MM (Barwick et al., 2019; Corre e Avet-Loiseau, 2011).

Nesse contexto, a caracterização do perfil genômico destes pacientes pode resultar na melhor elucidação da heterogeneidade genética presente no MM em nossa população, ajudando potencialmente no direcionamento diagnóstico e terapêutico, aumentando assim a sobrevida global desses pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar as alterações genômicas quantitativas de pacientes portadores de mieloma múltiplo no estado do Ceará, utilizando a técnica de Hibridização Genômica Comparativa por Array (aCGH).

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever o perfil epidemiológico, clínico e laboratorial de pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo no estado do Ceará;
- Identificar as principais alterações genômicas a fim de identificar vias moleculares que estejam correlacionadas com a estratificação de risco prognóstico dos pacientes;
- Comparar as CNVs entre diferentes grupos de estratificação de risco, visando elucidar alterações genéticas quantitativas associadas à patogênese do mieloma múltiplo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Mieloma Múltiplo

O MM pertence integra o grupo das discrasias de plasmócitos, caracterizado pela produção excessiva de Ig monoclonais. Essa neoplasia maligna e sistêmica, acomete principalmente a medula óssea (MO), onde ocorre a proliferação desordenada e acúmulo dos plasmócitos malignos (Albagoush et al., 2023; Bernardes, 2007).

3.1.1 Epidemiologia

Embora ainda considerada uma doença rara, a incidência do MM tem aumentado significativamente nas últimas décadas. Em 2020, a taxa global atingiu 7 casos por 100.000 habitantes, representando um crescimento de 143% em comparação a sua própria incidência no ano de 1975. Em 2020, a estimativa global de MM foi de 176.404 casos, equivalendo a 2% de todos os diagnósticos oncológicos e posicionando o MM como a 14^a neoplasia mais comum. Sua prevalência é maior em países desenvolvidos, com destaque para a Austrália, Estados Unidos (EUA) e Europa ocidental (GLOBOCAN, 2020; Padala et al., 2021).

Os EUA são responsáveis pelo maior número de casos, com aproximadamente 32 mil em 2020, equivalentes a 1,8% dos diagnósticos globais de câncer. Ainda em 2020, segundo o *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN), foi estimado um total de 10.932 casos na América do Sul, sendo 5.655 casos no Brasil (GLOBOCAN, 2020).

Assim como as taxas crescentes de incidência, os níveis de mortalidade obtiveram um aumento de 94% entre os anos de 1990 e 2016, logo, mais de 2% das mortes por câncer ainda são causadas por MM. Entretanto, a sobrevida em 5 anos melhorou significativamente, em grande parte devido a avanços nas estratégias terapêuticas e no manejo da doença (Marinac et al., 2020; Padala et al., 2021). No ano 2000, a taxa média de sobrevida em 5 anos era de 35%, enquanto em 2020 ultrapassou 50%. Nesse mesmo ano, o MM foi responsável por 117.077 mortes globalmente, das quais 8.280 ocorreram na América Latina e 4.293 no Brasil (GLOBOCAN, 2020; Marinac et al., 2020; Padala et al., 2021).

3.1.2 Fatores de Risco

Diversas condições podem ser consideradas fatores de risco para desenvolvimento do MM, mesmo que algumas delas não sejam totalmente compreendidas. São fatores de risco: idade, sexo, histórico familiar e etnia. Condições como obesidade, alimentação inadequada e baixo nível socioeconômico, embora não sejam fatores de risco diretos, podem influenciar o desenvolvimento da doença. Por outro lado, fatores comumente associados à incidência de diversas neoplasias como tabagismo, álcool e exposição ao amianto não apresentam correlação comprovada com casos de MM (Tsang et al., 2019).

A idade média de pacientes com MM é de 69 anos, sendo 60% dos pacientes estando acima dos 60 anos e apenas 15% abaixo dos 55 anos. Complementar a isso, o risco cumulativo do desenvolvimento de MM do nascimento até os 74 anos é de 0,24% entre os homens e 0,17% entre as mulheres, tornando os homens 1,5 vezes mais propensos ao desenvolvimento da doença (Bird et al., 2021).

Além das taxas de incidência, o gênero também influencia o prognóstico, embora as razões para esse impacto não estejam totalmente esclarecidas. Hipóteses sugerem diferenças biológicas na farmacocinética do tratamento, maior prevalência de comorbidades em homens no momento do diagnóstico, maior adesão feminina a práticas de promoção à saúde e diferenças na frequência de células T reguladoras, associadas à progressão da doença em homens (Bird et al., 2021; Derman et al., 2021; Kim et al., 2018).

O MM não é uma doença hereditária, porém, o histórico familiar de pacientes com MM pode sugerir uma razão de chances entre parentes de primeiro grau, aumentando a suscetibilidade de desenvolver a doença (Du et al., 2020).

Através da base de dados SEER*Explorer que conta com pacientes diagnosticados entre 2000 e 2020, fornecida pelo National Cancer Institute, é possível observar a taxa de incidência de MM em diferentes etnias nos EUA, variando de 4,2/100.000 em asiáticos, 6,4/100.000 em brancos, 6,6/100.000 em hispanicos e de 14,3/100.000 em negros (National Cancer Institute, 2023).

A disparidade do acometimento do MM em diferentes etnias não se limita aos EUA, fazendo com que pessoas de raça negra sejam consideradas com fator de risco para o desenvolvimento da doença, pois além desta população apresentar duas vezes mais chances de desenvolver a doença, também se observa maiores chances de diagnóstico em idade mais jovem, e conseqüentemente histórico familiar de pessoas acometidas pela doença torna-se mais elevado. Entretanto, as razões para esses efeitos são complexas e ainda não foram totalmente elucidadas (Landgren et al., 2007; Marinac et al., 2020).

No Brasil, a alta miscigenação dificulta a definição de perfis epidemiológicos claros. No entanto, um estudo realizado no estado Pará relatou que 51% dos pacientes com MM eram do sexo masculino e 68,4% pertenciam à raça parda (Pantoja et al., 2021).

Por fim, a exposição a pesticidas pode aumentar em mais de 3 vezes o risco de desenvolvimento de MM, sendo os agricultores o principal grupo de risco. Estudos no Canadá indicaram maior incidência de MM em regiões agrícolas (Tsang et al., 2019; Waterhouse et al., 1996).

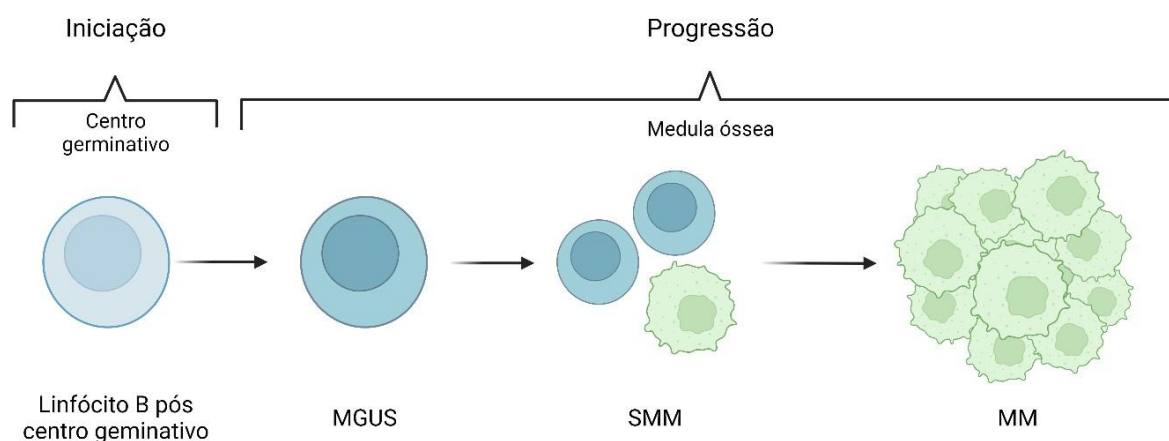
3.1.4 Etiopatogenia e Patogênese

Os fatores que são responsáveis pela formação do MM ainda são desconhecidos, sabendo-se apenas que a doença é precedida por estágios anteriores como a Gamopatia Monoclonal de

Significado Indeterminado (MGUS) e o Mieloma Múltiplo Assintomático (SMM) (Rajkumar et al., 2015). Esses estágios podem levar anos ou até décadas para progredir, e muitos casos não evoluem para MM. O MGUS afeta cerca de 3% da população acima dos 50 anos, apresentando uma taxa de progressão anual de 1%, podendo evoluir também para o SMM. Nesse caso, as chances de progressão para o MM são de 10% nos 5 primeiros anos, 3% nos próximos 5 anos, e 1% nos anos subsequentes, podendo gerar um acúmulo de 73% de chance de desenvolver a doença dentro de 15 anos (Kazandjian, 2016).

Acredita-se que a célula responsável por originar tais malignidades derive do centro germinativo do linfonodo, onde ocorrem eventos genéticos iniciais, como as mutações genéticas. Esses clones pré-malignos e imortalizados migram para a MO, onde iniciam a expansão clonal que caracteriza o MGUS ou SMM. Nessa fase, os eventos genéticos primários incluem translocações envolvendo o gene da cadeia pesada da Ig (gene *IgH*), além de hipodiploidias e/ou aneuploidias (Maura et al., 2020; Weiss et al., 2009) (**Figura 1**).

Figura 1. Progressão das gamopatias monoclonais.



Legenda: O processo de iniciação ocorre no centro germinativo do linfócito-B onde adquire suas primeiras mutações genéticas, a partir de então a progressão ocorre na medula óssea com os estágios precursores: gamopatia monoclonal de significado indeterminado (MGUS) e mieloma múltiplo assintomático (SMM), onde posteriormente podem se consolidar o mieloma múltiplo (MM).

Fonte: Autoria própria.

A progressão para MM é impulsionada pelo acúmulo de mutações secundárias que conferem vantagens adaptativas, alterando o perfil genético e clínico. Essas alterações incluem variações no número de cópias (CNVs), mutações promotoras da progressão tumoral e hipometilação do DNA (Castaneda e Baz, 2019; Maura et al., 2020).

Na MO, os plasmócitos malignos utilizam interleucina-6 (IL-6), secretada por células estromais, para promover sua replicação. A proliferação desses plasmócitos compromete a função de outras células hematopoiéticas, resultando nos sintomas CRAB: hipercalcemia, insuficiência

renal, anemia e dor óssea (Cunha Júnior et al., 2021; De Oliveira Santos, 2020; Kyle et al., 2003).

A interação dos plasmócitos malignos com o microambiente ósseo ativa osteoclastos e inibe osteoblastos, provocando perda óssea e lesões osteolíticas. Essas alterações são responsáveis pela dor óssea, assim como por fraturas patológicas e compressão da medula espinhal. Essa desmineralização também é a causa da hipercalcemia, que pode levar ao aumento de sede e micção, dor abdominal, além de poder estar associada com a insuficiência renal, assim como o excesso de imunoglobulina (Ig) (Albagoush et al., 2023; Hameed et al., 2014).

As Ig são compostas por duas cadeias pesadas, existindo cinco diferentes tipos (IgA, IgG, IgM, IgE, IgD), e por duas cadeias leves, podendo ser kappa ou lambda. Os plasmócitos malignos produzem e liberam quantidades excessivas de Ig ou proteínas M (fragmentos de anticorpos monoclonais) onde o acúmulo destes resulta na hiperviscosidade do sangue, gerando distúrbios neurológicos, disfunção plaquetária, resultando em sangramentos, além de gerar danos tubulares no sistema renal através da nefropatia de cadeia leve, levando a criação de edema, acidose e distúrbios eletrolíticos (Albagoush et al., 2023; Barwick et al., 2019).

Logo, dentro do contexto das características clínicas presentes no MM, é possível observar que as mais prevalentes em pacientes com MM no momento do diagnóstico incluem anemia (73%), dor óssea (58%), creatinina elevada (48%), fadiga (32%), hipercalcemia (28%) e perda de peso (24%) (Zhang et al., 2022).

3.1.5 Diagnóstico

Os critérios para diferenciação dos estágios foram estabelecidos pelo International Myeloma Working Group (IMWG), considerando as características específicas de cada condição. A gamopatia monoclonal de significado indeterminado (MGUS) é definida pela presença de pico sérico de proteína M < 3g/dL e menos de 10% de plasmócitos monoclonais na MO, enquanto o SMM apresenta proteína M maior ou igual a 3g/dL e plasmócitos monoclonais > 10% na MO. Ambos os estágios são caracterizados pela ausência de hipercalcemia, lesões líticas, anemia e insuficiência renal (Rajkumar et al., 2014; Vogelsberg et al., 2022).

O *National Comprehensive Cancer Network* recomenda uma abordagem abrangente para o diagnóstico de MM: hemograma, creatinina, albumina (ALB), eletrólitos, níveis de cálcio, lactato desidrogenase sérica (LDH), beta-2 microglobulina (B2M), imunoglobulinas séricas, eletroforese de imunofixação sérica, proteinúria de 24 horas, eletroforese de proteínas na urina, eletroforese de imunofixação na urina, pesquisa de cadeia leve livre (FLC, do inglês *free light chains*), tomografia computadorizada (TC) de baixa dose em corpo inteiro, PET-CT, biópsia e aspirado de MO, imuno-histoquímica e/ou citometria de fluxo, citogenética e hibridização fluorescente *in situ* (FISH) (Albagoush et al., 2023; Rajkumar e Kumar, 2016).

A biópsia e o aspirado de MO apresentam um papel fundamental no diagnóstico onde se

avalia a presença de $\geq 10\%$ de plasmócitos na medula, além de avaliar suas características morfológicas. As células plasmáticas malignas do MM podem apresentar-se com características normais de um plasmócito maduro, características imaturas e características exóticas, como células multinucleadas (Wallington-Beddoe e Mynott, 2021).

A classificação do tipo de Ig no sangue e/ou urina faz parte do diagnóstico da doença, sendo ela realizada através da pesquisa de FLC e pela eletroforese de proteína sérica. A FISH complementar a isso permite identificar e visualizar alterações cromossômicas que indicam o fator de prognóstico do paciente (Kumar et al., 2017; Mateos et al., 2019; Moreau, et al., 2017).

As proteínas de superfície celular são cruciais para o entendimento da interação do tumor com o microambiente. No MM, as técnicas de imunofenotipagem identificam marcadores típicos, como CD38, CD56, CD138 e CD319, e a ausência de CD19 e CD45 (Ferguson et al., 2022). Na prática clínica, o diagnóstico do MM é baseado na presença de $>10\%$ de plasmócitos na MO combinado identificação de dano a órgão-alvo, através da identificação de pelo menos uma característica CRAB, sendo análise de cálcio sérico $> 11\text{mg/dL}$ para identificar hipercalcemia, análise de creatinina $> 2\text{mg/dL}$ para identificação de insuficiência renal, hemograma com hemoglobina $< 10\text{mg/dL}$ para identificação de anemia e TC para identificar a presença de uma ou mais lesões líticas (Kumar et al., 2017; Mateos et al., 2019).

Complementar a isso, em 2014, o IMWG revisou os critérios diagnósticos, incluindo parâmetros como a presença de 60% de células plasmáticas na MO, presença de proteínas M ou Ig séricas maior ou igual a 100g/dL, e/ou ressonância magnética anormal com presença de uma ou mais lesões focais maior que 5mm e não visualizadas anteriormente. Esses critérios foram propostos para identificar e tratar precocemente pacientes com SMM de alto risco ($>80\%$ de chances de progressão para dano órgão-alvo), mesmo na ausência de critérios CRAB (Kosmala et al., 2019; Zamagni et al., 2019).

3.1.5.1 Hibridização Genômica Comparativa em array (aCGH)

Atualmente, metodologias como a FISH, aCGH e o sequenciamento de nova geração (NGS) têm avançado a compreensão molecular da MO e do desenvolvimento do MM. O aCGH já está consolidado como ferramenta essencial no diagnóstico molecular, classificação de tumores, da definição prognóstica e na análise preditiva de tumores (Cardona-Benavides et al., 2021; Rajkumar, 2016).

O aCGH é uma técnica baseada em microarranjos que permite a avaliação de alterações e anormalidades cromossômicas associadas ao número de cópias de DNA, sendo amplamente reconhecida como padrão-ouro em análises citogenéticas e moleculares. Sua alta sensibilidade permite a detecção de rearranjos genômicos, incluindo alterações em éxons e genes associados a diversas doenças (Bejjani e Shaffer, 2006; Glaeser et al., 2020).

O método envolve a comparação de duas amostras, uma controle e outra experimental, ambas marcadas com fluoróforos distintos, geralmente cianina 3 (verde) e cianina 5 (vermelho).. Após a marcação, as amostras são hibridizadas em lâminas contendo sequências genômicas conhecidas. O scanner de microarrays detecta os sinais fluorescentes, permitindo a análise das variações genômicas (Davies; Wilson; Lam, 2005; Smetana, 2014).

O principal diferencial do aCGH é sua capacidade de identificar simultaneamente alterações em vários *loci* de um único genoma. Contudo, apresenta limitações, como a incapacidade de detectar translocações e inversões neutras de número de cópias (Bejjani e Shaffer, 2006; Fukami e Miyado 2017).

Apesar dessas limitações, o aCHG continua sendo amplamente utilizado em diversas áreas da medicina, incluindo o estudo de células-tronco tumorais para a investigação da biologia das leucemias, no diagnóstico do transtorno do espectro autista, e no MM, permitindo uma análise detalhada das alterações cromossômicas e contribuindo para o entendimento da heterogeneidade genética (Rack et al., 2016; Martínez-Climent et al., 2010; Ranieri et al., 2022).

3.1.6 Estratificação de Risco

O MM é possui uma variedade nos desfechos clínicos e na taxa de sobrevida global (OS), podendo variar de meses a vários anos. Esses resultados dependem de fatores como características do paciente, carga tumoral, biologia e resposta à terapia. Logo, a estratificação de risco do MM desempenha um papel fundamental, pois visa estimar a probabilidade de progressão da doença e prever a resposta terapêutica com base nos fatores relacionados ao paciente, à doença e fatores genéticos (Russell e Rajkumar, 2011; Vu et al., 2015).

O primeiro sistema de estratificação utilizado para avaliar a carga tumoral em pacientes com MM foi o Durie-Salmon Staging (DSS), criado em 1975. Esse sistema utiliza parâmetros como o nível e tipo de proteína monoclonal, concentração de hemoglobina, níveis séricos de cálcio, e o número de lesões ósseas. Com base nesses critérios, os pacientes são classificados nos estágios DSS I, DSS II, DSS III, com subclasses A e B (**Tabela 1**) (Hari et al., 2009).

Tabela 1. Estratificação de risco Durie-Salmon Staging.

Sistema	Risco Padrão (I)	Risco Intermediário (II)	Alto Risco (III)	Subgrupos
DSS	Hemoglobina > 10 Cálcio sérico < 10.5 Estrutura óssea normal IgG < 5g/dL; IgA < 3 g/dL	Não se enquadram nos riscos I e III	Hemoglobina < 8.5 Cálcio sérico > 12 Lesões ósseas líticas avançadas	A: Função renal relativamente normal

Componente M da cadeia leve na urina por eletroforese < 4 g/24h.	IgG > 7 g/dL; IgA > 5 g/dL Componente M de cadeia leve na urina > 12 g/24h.	B: Função renal anormal
--	--	-------------------------

Legenda: DSS: Durie-Salmon Staging.

Em 2005, o International Staging System (ISS) foi introduzido como uma ferramenta mais simples e eficiente em comparação ao Durie-Salmon Staging System (DSS). Esse sistema utiliza os níveis séricos de ALB e B2M para classificar os pacientes em três estágios prognósticos: ISS I, ISS II e ISS III. (**Tabela 2**) (Greipp et al., 2005; Hari et al., 2009).

Tabela 2. Estratificação de risco Multiple Myeloma International Staging System.

Sistema	Risco Padrão (I)	Risco Intermediário (II)	Alto Risco (III)
ISS	B2M < 3,5 ALB > 2,5	Demais quadros	B2M > 5,5

Legenda: B2M: beta-2 microglobulina; ALB: Albumina; ISS: *International Staging System*.

A escolha dos biomarcadores é baseada no aumento de B2M que reflete a massa tumoral elevada e a função renal reduzida, assim como os níveis baixos de albumina se devem a citocinas inflamatórias secretadas pelo microambiente tumoral. Logo, são ditos como pacientes de risco padrão (ISS I) aqueles que apresentam B2M <3,5mg/L e uma albumina maior ou igual a 3,5g/dL, são classificados como de alto risco (ISS III) pacientes que apresentam B2M > 5,5mg/L e pacientes intermediários (ISS II) aqueles que não se encaixam nos quadros anteriores (Garrido et al., 2021).

Em 2015, o ISS foi revisado para incluir parâmetros adicionais, resultando no *Revised International Staging System* (R-ISS). Esse modelo combina os critérios de carga tumoral do ISS com fatores biológicos, como anormalidades citogenéticas de alto risco detectadas por FISH (del(17p), t(4;14), t(14;16)) e níveis elevados de lactato desidrogenase (LDH). O R-ISS classifica os pacientes em três categorias: R-ISS I (ISS I, LDH normal, sem anormalidades citogenéticas), R-ISS III (ISS III, LDH elevado e/ou anormalidades citogenéticas) e R-ISS II (pacientes intermediários). Essa revisão aprimorou a precisão prognóstica, especialmente em recém-diagnosticados (**Tabela 3**) (Palumbo et al., 2015; D'Agostino et al., 2022; Kadam Amare et al., 2023).

Tabela 3. Estratificações de risco do mieloma múltiplo.

Sistemas	Risco Padrão (I)	Risco Intermediário (II)	Alto Risco (III)	Subgrupos
DSS	Hemoglobina > 10 Cálcio sérico < 10.5 Estrutura óssea normal IgG < 5g/dL; IgA < 3 /dL	Não se enquadram nos riscos I e III	Hemoglobina < 8.5 Cálcio sérico > 12 Lesões ósseas líticas avançadas	A: Função renal relativamente normal

	Componente M da cadeia leve na urina por eletroforese < 4 g/24h.		IgG > 7 g/dL; IgA > 5 g/dL Componente M de cadeia leve na urina > 12 g/24h.	B: Função renal anormal
ISS	B2M < 3,5 ALB > 2,5	Demais quadros	B2M > 5,5	-
R-ISS	B2M < 3,5 ALB > 2,5 LDH Normal Ausência de AC	Demais quadros	B2M > 5,5 LDH Elevado Presença de AC (del(17p), t(4;14), t(14;16))	-

Legenda: B2M: beta-2 microglobulina; ALB: Albumina; LDH: Lactato Desidrogenase; AC: Anormalidades Cromossômicas; ISS: *International Staging System*; R-ISS: *Revised Multiple Myeloma International Staging System*; R2-ISS: *Second Revision of the International Staging System*; DSS: Durie-Salmon Staging

A alterações citogenéticas de alto risco, como del(17p) t(4;14) e t(14;16), indicam prognóstico desfavoráveis. A del(17p), com incidência de 8%-10% durante o diagnóstico, é associada a um risco maior em comparação à t(4;14), que ocorre em 10%-15% dos casos (Moreau, et al., 2017; Pawlyn e Davies, 2019; Perrot et al., 2019).

Em 2022, foi introduzido o *Second Revision of the International Staging System* (R2-ISS), que estratifica pacientes em quatro grupos (baixo, intermediário-baixo, intermediário-alto e alto risco) utilizando os preditores mais impactantes na sobrevida global e livre de progressão. Além de ISS, del(17p), LDH e t(4;14), esse modelo incorporou o ganho ou amplificação de 1q como fator independente de mau prognóstico, abordando a limitação do R-ISS original ao agrupar muitos pacientes no estágio intermediário com desfechos heterogêneos. . (Tabela 4) (D'Agostino et al., 2022).

Tabela 4. Sistema de score presente no R2-ISS.

Fatores de risco	Pontos
ISS II	1
ISS III	1,5
del(17p)	1
LDH elevado	1
t(4;14)	1
1q+	0,5
Estratificação	Soma de pontos
Baixo (I)	0
Intermediário-baixo (II)	0,5-1
Intermediário-alto (III)	1,5-2,5
Alto (IV)	3-5

Legenda: B2M: beta-2 microglobulina; ALB: Albumina; LDH: Lactato Desidrogensa; AC: Anormalidades Cromossomicas; ISS: *Multiple Myeloma International Staging System*; R-ISS: *Revised Multiple Myeloma International Staging System*; R2-ISS: *Second Revision of the International Staging System*.

Além destas, a estratificação de risco mSMART da Mayo Clinic (www.msmart.org) possui detalhes complementares e importantes, podendo ser utilizados na formulação de uma estratégia terapêutica. Essa estratificação utiliza de AC, sendo trissomias, t(11;14) ou t(6;14) classificadas como de risco padrão e presente em 60% dos recém diagnosticados; alterações de alto risco estão presentes em 40% dos recém diagnosticados e podem ser t(4;14), t(14;16), t(14;20), del(17p) ou ganho(1q); também possuindo a caracterização de paciente com duas alterações de alto risco classificado como mieloma duplo e o que possui três ou mais alterações de alto risco como mieloma triplo (Cardona-Benavides et al., 2021; Mikhael et al., 2013).

3.1.7 Alterações Genéticas no Mieloma Múltiplo

O MM possui caráter heterogêneo e complexo geneticamente, demandando a ocorrência simultânea de múltiplos eventos genômicos para sua iniciação e progressão. A taxa de mutação somática no MM é estimada em aproximadamente 1,6 mutações por megabase (mb), destacando o desafio de diferenciar mutações *driver*, que impulsionam a doença, de mutações *passenger*, que são secundárias e menos relevantes. As anormalidades surgem ainda antes do paciente ser diagnosticado com MM, quando estão nos estágios MGUS ou SMM (Lawrence et al., 2014; Puła et al., 2021).

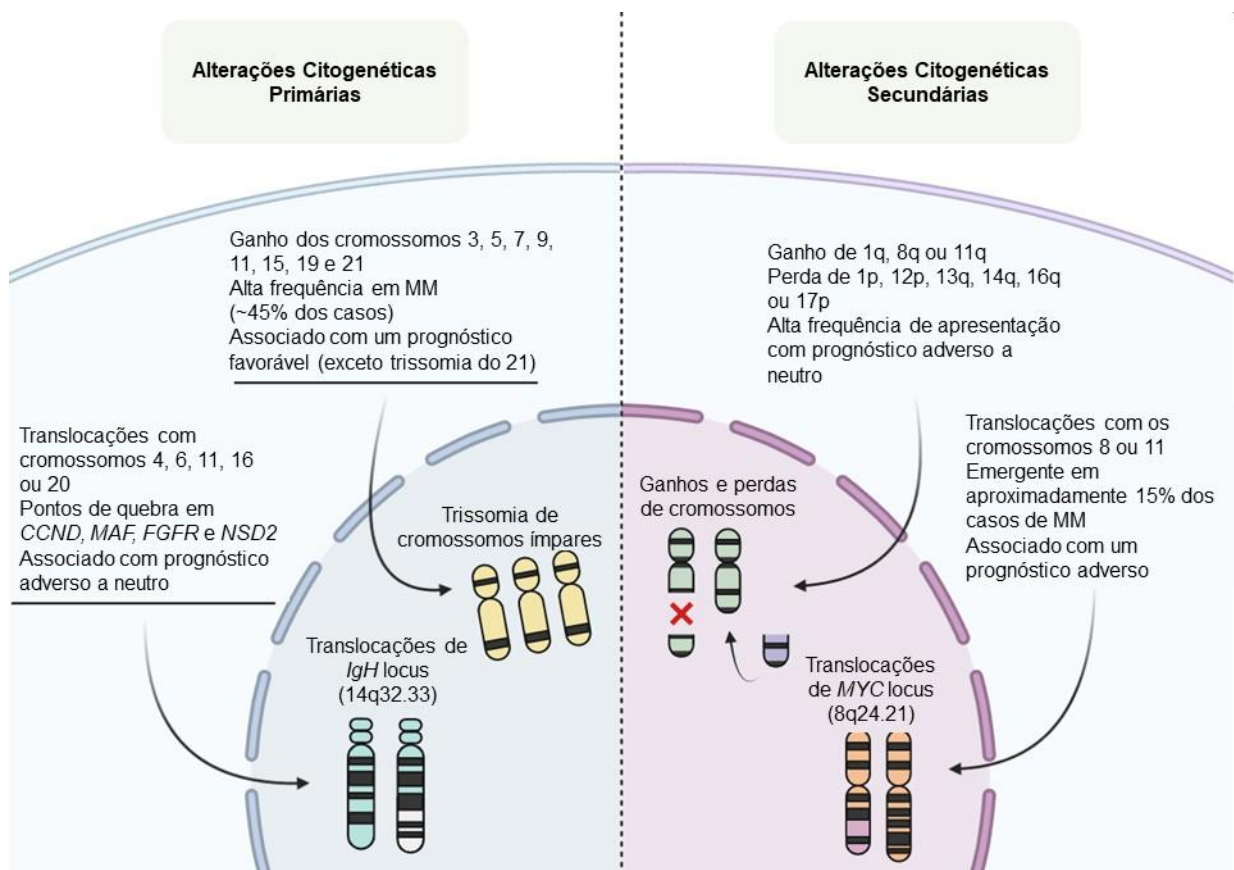
Entre os eventos genéticos iniciais mais comuns, destacam-se as alterações moleculares no gene responsável pela expressão da cadeia pesada da Ig (gene-*IgH*), localizado no cromossomo 14, além da presença de hiperdiploidias, frequentemente envolvendo trissomias de cromossomos ímpares. Essas alterações são consideradas marcos iniciais no desenvolvimento do

MM, comprometendo pontos críticos de verificação do ciclo celular (Pawlyn e Davies, 2019).

As translocações de *IGH* estão presentes em 50% dos pacientes e podem envolver até 5 *loci* cromossômicos distintos, como 11q13, 6p21, 4p16, 16q23, 20q11. Esses rearranjos afetam oncogenes como *Ciclina D1 (CCND1)*, *Ciclina D3 (CCND3)*, *Receptor 3 do Fator de Crescimento de Fibroblastos/Proteína de Domínio SET de Ligação ao Receptor Nuclear (FGFR3/NSD2)*, *MAF bZIP Transcription Factor (MAF)* e *MAF bZIP Transcription Factor B (MAFB)* respectivamente. A depender da região translocada com o cromossomo correspondente, o impacto prognóstico pode variar ao contrário das hisperdiplidias que geralmente estão associadas a um prognóstico de risco padrão (Barreto et al., 2022; Boyd et al., 2011; Chesi e Bergsagel, 2015).

A desregulação da família da ciclina D (*CCND1*, *CCND2*, *CCND3*) é outro evento genético precoce frequentemente mediado por translocações envolvendo o *IGH*, como: t(4;14), t(6;14), t(11;14), t(14;16) e t(14;20). Essas alterações resultam no aumento da expressão das proteínas Ciclina D, levando à desregulação do ponto de verificação G1/S do ciclo celular. As translocações também promovem o controle de oncogenes como *MMSET/FGFR3*, *CCND3*, *CCND1*, *MAF* e *MAFB*; sob o aumento da expressão do gene *IgH* (**Figura 2**) (Bergsagel, et al., 2005; Pawlyn e Davies, 2019).

Figura 2. Alterações citogenéticas no mieloma múltiplo.



Legenda: Em ambientes pré-malignos, as alterações condutoras correlacionam-se com a desregulação da atividade oncogênica e o início da carcinogênese. Nos estágios mais avançados da doença, surgem alterações secundárias devido à instabilidade genômica em clones malignos. Além disso as células malignas de um mesmo paciente podem abrigar diferentes alterações secundárias, seguindo os conceitos de evolução linear e ramificada. Adaptado de Barreto *et al.*, 2022.

Apesar dessas alterações surgirem antes do quadro de diagnóstico do MM, a progressão tumoral exige o acúmulo de mutações secundárias. Estas incluem alterações no número de cópias, novas translocações cromossômicas envolvendo o gene *MYC*, mutações no gene *RAS*, e rearranjos cromossômicos como como: amp(1q), del(1p), del(17p), del(13), del(13q), del(16q) e del(12p) (Barwick *et al.*, 2019; Rajkumar, 2019).

Um estudo conduzido por Sheng *et al.* (2022) identificou 424 genes diferentemente expressos em MM, incluindo 350 genes regulados positivamente e 74 genes regulados negativamente (Sheng *et al.*, 2022). Outros trabalhos continuam a explorar as alterações genéticas mais relevantes, destacando mutações frequentes em *KRAS*, *NRAS*, *TP53*, *FAM46C*, *DIS3* e *BRAF*, assim como em genes centrais associados à patogênese (*TP53*, *MYC*, *CDND1*, *IL6*; *UBA52*, *EZH2*, e *MDM2*) (Barreto *et al.*, 2022; Saadoun *et al.*, 2022).

3.1.8 Tratamento

O transplante autólogo de células tronco (ASCT) permanece como o tratamento mais recomendado para os pacientes portadores de MM. Contudo, nem todos os pacientes são elegíveis para essa abordagem. Apesar desta vertente, os avanços na terapia do MM tem gerado resultados consideráveis no aumento de sobrevida dos pacientes, isso se deve a novas combinações quimioterápicas e a introdução de novas drogas como talidomida, bortezomibe e lenalidomida (Attal et al., 1996; Rajkumar, 2022; Richardson et al., 2005).

Antes do ASCT, os pacientes passam por quimioterapia de indução, normalmente com três a quatro ciclos, seguidos da coleta de células-tronco. Após a coleta, o tratamento pode prosseguir com o ASCT ou a continuidade da terapia de indução até a primeira recidiva (Gonsalves et al., 2019; Saad et al., 2014).

Regimes triplos, como VRD (bortezomibe, lenalidomida, dexametasona) e DRD (daratumumabe, lenalidomida, dexametasona), são as opções iniciais preferenciais para pacientes recém- diagnosticados. Em contextos de restrição de acesso, protocolos alternativos como VTD (bortezomibe, talidomida, dexametasona) ou VCD (bortezomibe, ciclofosfamida, dexametasona), podem ser empregados, com VTD geralmente apresentando maior eficácia (Chen et al., 2022; Rajkumar, 2022).

Regimes quádruplos, incluindo daratumumabe, um anticorpo monoclonal anti-CD38, têm demonstrando benefícios significativos. Estudos apontam que combinações como Dara-VTD (daratumumabe + VTD) e Dara-VRD (daratumumabe + VRD) oferecem maior sobrevida livre de progressão (SLP) e sobrevida global (SG) em comparação aos regimes convencionais (Moreau, Philippe et al., 2019; Voorhees et al., 2019).

Embora o ASCT seja mais eficaz em pacientes com citogenética de alto risco, fatores como idade e comorbidades podem limitar sua aplicabilidade. Para pacientes inelegíveis, regimes como VRD e DRD são utilizados, com ciclos variando de 8 a 12 (Child et al., 2003; Rajkumar, 2022).

O regime único ou duplo é mais utilizado no tratamento de SMM de alto risco através do uso da lenalidomida isolada ou combinada com dexametasona. Assim como após o tratamento os pacientes são submetidos a terapia de manutenção, onde também é utilizado a lenalidomida como metodologia padrão. Ela por sua vez, é um agente imunomodulador (IMiDs), assim como a talidomida e pomalidomida, tendo eles capacidades imunomoduladoras, antiangiogênicas e inibidoras do fator de necrose tumoral alfa. Entretanto, pode haver citotoxicidade direta devido ao dano no DNA, oriundo dos radicais livres liberados em sua ação (Attal et al., 2012; Jackson et al., 2019).

Novos agentes aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA), como balantamabe mafodotina, carfilzomibe, elotuzumabe, isatuximabe, ixazomibe, pomalidomida, selinexor e terapias celulares com receptores quiméricos de antígeno T (CAR-T), estão ampliando as opções para MM refratário, melhorando os resultados terapêuticos (Attal et al., 2019; Brinchen et al., 2014;

Dimopoulos et al., 2018; Moreau, Philippe et al., 2021).

Terapias com células T CAR possuem como alvo o antígeno de maturação de células B, seus resultados promissores em pacientes pré tratados oferecem uma nova perspectiva na doença recidivante ou refratária. Outra nova linha de tratamento no MM são os anticorpos biespecíficos, que envolvem células T e células de mieloma, também são consideradas como tratamentos eficazes, possuindo vários agentes sob investigação em ensaios clínicos (Garfall, 2024).

Apesar dos avanços, o MM permanece incurável, com recidivas ocorrendo em diferentes estágios da doença. Essas recaídas refletem a heterogeneidade biológica intrínseca do MM, exigindo abordagens personalizadas com base nas terapias previamente empregadas (Bhatt et al., 2023).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Pacientes

4.1.1 Aspectos Éticos

O Projeto foi submetido à Plataforma Brasil e obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), sob número de registro 010406/2022 (ANEXO 1). Participaram desse estudo pacientes com suspeita/diagnóstico de mieloma múltiplo atendidos no Hospital Geral de Fortaleza. Todos os participantes, ou seus responsáveis legais, receberam explicações detalhadas sobre o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO 2), participando do estudo apenas após a leitura, concordância e assinatura do documento.

4.2 Etapas do Estudo Clínico

Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 2), a equipe de saúde treinada e/ou os pesquisadores aplicaram um questionário estruturado (ANEXO 3). Este instrumento coletou informações demográficas (nome, data de nascimento, filiação, naturalidade, procedência, ocupação), histórico familiar de neoplasias em parentes de primeiro grau, além de sinais e sintomas clínicos relacionados à doença. Posteriormente, os pacientes foram submetidos a uma avaliação clínica e, quando aplicável, à coleta de medula óssea.

As coletas de informações de prontuário e de medula óssea de pacientes com suspeita ou diagnóstico de MM foram realizadas no período de maio de 2022 a junho de 2024 atendidos no Hospital Geral de Fortaleza (HGF), totalizando 173 pacientes. Após a aplicação dos critérios de exclusão, o estudo contou com a participação de 95 pacientes diagnosticados com MM, os demais 78 pacientes apresentaram diagnóstico divergentes, como síndrome mielodisplásica (SMD) e leucemia mieloide crônica (LMC).

4.2.1 Amostras para Estudo Molecular

4.2.1.1 Medula Óssea

As amostras de medula óssea foram obtidas de pacientes que atenderam aos critérios de inclusão e já estavam submetidos a procedimentos diagnósticos ou terapêuticos, sem ocasionar quaisquer transtornos adicionais ao paciente.

4.2.2 Critérios de inclusão, exclusão e de retirada do estudo

Foram incluídos no estudo pacientes com diagnóstico clínico-laboratorial de MM, atendidos no HGF ou encaminhados pelas Secretarias Municipais e Estadual de Saúde do Estado do Ceará. Além disso, os pacientes deveriam ser capazes de compreender a natureza e objetivo do estudo, e com intenção de cooperar com o pesquisador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado mediante a assinatura do TCLE.

Por sua vez, pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial excludente dos tipos de mieloma abordados no estudo, pacientes com doenças oncohematológicas que não preencham os critérios clínicos e/ou genéticos para diagnóstico de mieloma múltiplo.

Como critérios para retirada do sujeito da pesquisa do estudo foram considerados a retirada de consentimento pelo paciente ou familiar por qualquer motivo e a presença de qualquer condição que impeça o paciente de participar do estudo pelo julgamento do investigador.

4.2.3 Estratificação clínica de pacientes do estudo

A estratificação dos pacientes seguiu os critérios do do ISS publicado em 2005, que classifica os pacientes em três estágios (ISS1, ISS2 e ISS3) com base nos níveis séricos de beta-2-microglobulina (B2M) e albumina, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5. Estratificações de risco dos pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo do estudo.

Sistemas	Risco Padrão	Risco Intermediário	Alto Risco
ISS	B2M < 3,5 ALB > 2,5	Demais quadros	B2M > 5,5

Legenda: B2M: beta-2 microglobulina; ALB: Albumina; ISS: *Multiple Myeloma International Staging System*.

4.2.4 Seleção de pacientes para realização de aCGH

Dos 95 pacientes diagnosticados com MM, 16 foram selecionados para análise por aCGH, garantindo a distribuição equitativa entre os grupos. Os pacientes foram estratificados de acordo com o sistema ISS: 6 pertenciam ao grupo ISS1, 5 ao grupo ISS2 e 5 ao grupo ISS3.

4.3. MÉTODOS DE ANÁLISE MOLECULAR

4.3.1 Extração de DNA

As amostras de medula óssea foram coletadas e o DNA genômico (DNAg) foi isolado através do kit comercial Invitrogen Purelink Genomic DNA Mini Kit da Thermo Fisher, seguindo as instruções do fabricante. As concentrações dos DNAg foram determinadas utilizando o espectrofotômetro *NanoDrop2000 (Thermo Scientific)*, seguindo o protocolo designado pela empresa, e armazenados a -80°C. O DNAg extraído foi empregado para validar alterações genéticas utilizando a técnica de aCGH. .

4.3.2 aCGH – Hibridização Genômica Comparativa em ARRAY

A identificação das alterações cromossômicas somáticas, como ganhos e perdas de segmentos, foi realizada por aCGH, utilizando a matriz SurePrint G3 Cancer CGH+SNP Microarray G4869-60510 Kit, 4x180K, da Agilent, contendo cerca de 120.000 sondas de aCGH que abrangem os clones definidos pelo consórcio *International Standards for Cytogenomic Arrays* (ISCA). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as instruções padrões da empresa.

4.4 ANÁLISE DOS DADOS

4.4.1 Análise dos Dados Clínico-Epidemiológicos

Os dados clínico-epidemiológicos foram submetidos à análise estatística descritiva, considerando as variáveis nominais de interesse do estudo. As informações foram organizadas em tabelas, quadros e gráficos para facilitar a interpretação. Para variáveis com distribuição normal,

foram calculadas médias e desvios padrão; para dados não normais, utilizou-se a mediana como medida de tendência central. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software **Jamovi**, versão 2.3. 28..

O teste Exato de Fisher foi aplicado para avaliar a associação entre variáveis clínicas e a estratificação de risco dos pacientes. As variáveis analisadas incluíram sexo, região, hemoglobina (Hb), leucócitos (WBC), plaquetas, LDH, beta-2 microglobulina (B2M), albumina, hipercalcemia, insuficiência renal e dor óssea. Um nível de significância de 95% ($p \leq 0,05$) foi estabelecido para determinar correlações estatisticamente significativas entre as variáveis.

4.4.2 Análise integrativa de Variações no Número de Cópias (CNVs)

As CNVs foram calculadas usando o algoritmo *Aberration Detection Method 2* (ADM- 2), configurado com um limiar de sensibilidade ajustado para 6, filtro de aberração com no mínimo 3 sondas e valor mínimo de *AvgAbsLogRatio* de 0,25. A análise dos dados foi realizada com base em métricas de controle de qualidade disponibilizadas no software CytoGenomics, versão 5.3.0.14 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA).

As anotações genômicas foram baseadas no genoma humano GRCh38/hg38 proveniente do Genome Browser da University of California Santa Cruz (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>). Para identificar genes *drivers* presentes nos CNVs detectados, foi utilizado o banco de dados OncoPrint (Pancancer) (<https://oncoprint.org/welcome/index>) e o *the Network of Cancer Genes* (NCG) resource (<http://www.network-cancer-genes.org/>) (Dressler *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2021). A patogenicidade dos genes foi classificada de acordo com os critérios estabelecidos pelo ACMG (*American College of Medical Genetics and Genomics*), conforme as seguintes categorias: significado indeterminado (0), possíveis patógenos (1), possivelmente patogênicos (2), prováveis patogênicos (3) e patogênicos (4) (RICHARDS *et al.*, 2015). Foram desconsideradas da análise regiões sem genes ou com apenas pseudogenes.

Para análise de frequência das subregiões foi considerado a presença em 30% ou mais dos casos como comum. E para análise de frequência de genes driver por grupo, foi considerado igual ou maior que 50% como comum.

4.4.3 Interpretação Biológica e Análise Estatística

A análise de enriquecimento funcional dos CNVs foi conduzida utilizando o banco de dados KEGG para identificar vias biológicas relevantes e ontologias genéticas associadas. A visualização das associações entre as vias identificadas e os genes drivers de cada via foi elaborada com gráficos Sankey, gerados por meio dos pacotes R **ggalluvial**, **ggplot2** e **tidyr**, utilizando informações classificadas conforme o banco de dados Network Cancer Genes (<http://www.network-cancer-genes.org/query.php>).

4.4.4 Comparação entre grupos

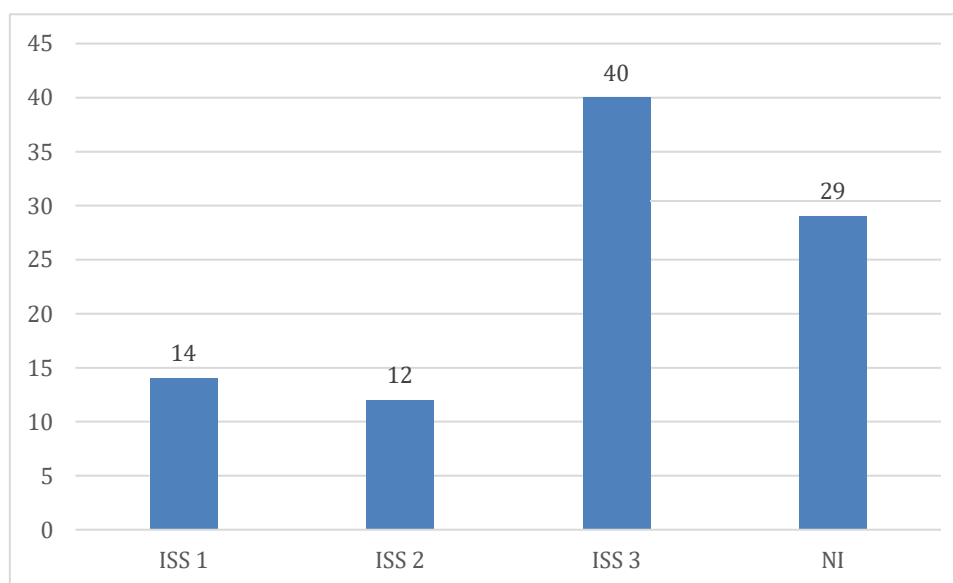
Para comparar as medianas de três grupos (LOH, Perda e Ganho) em relação ao risco (ISS), foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis no software Jamovi (versão 2.3.28). As diferenças significativas entre os grupos foram avaliadas por meio do teste de comparações múltiplas de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner, permitindo identificar os grupos com discrepâncias estatisticamente relevantes.

RESULTADOS

4.3 Dados clínico-epidemiológicos dos pacientes

A idade média dos pacientes com MM foi de 62,78 anos ($\pm 11,08$). Quanto ao sexo, 55 pacientes (57,89%) eram do sexo masculino e 40 (42,11%) do sexo feminino. Em relação à estratificação de risco pelo ISS, 40 pacientes (42,11%) foram classificados como ISS 3, 12 (12,63%) como ISS 2 e 14 (14,73%) como ISS 1. Devido à ausência de informações, 29 (30,52%) pacientes não foram classificados (**Figura 3**).

Figura 3. Estratificação dos pacientes com MM atendidos no HGF.



Legenda: ISS 1: pacientes de risco padrão ($B2M < 3,5$, $ALB > 2,5$); ISS 2: pacientes que não se encaixam nos demais critérios; ISS 3: pacientes de alto risco ($B2M > 5,5$); NI: não identificados, pacientes com falta de dados para ser realizada a estratificação.

As ocupações relatadas incluíram diversas profissões (Tabela 4). As ocupações mais frequentes foram agricultor (22,1%) e doméstica (17,9%) (Tabela 4).

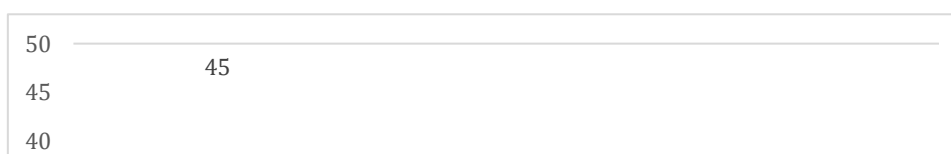
Tabela 6. Ocupação laboral dos pacientes diagnosticados com MM.

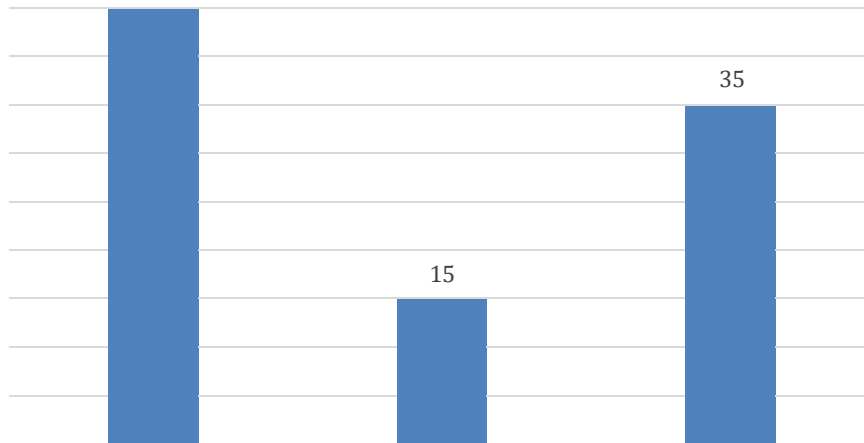
Ocupação Laboral	Contagens	% do Total
Administração	4	4.2 %
Agricultor	21	22.1 %
Aposentado	1	1.1 %
Borracheiro	1	1.1 %
Caminhoneiro	1	1.1 %
Construção Civil	5	5.3 %
Cozinheira	1	1.1 %
Cozinheiro	1	1.1 %
Doméstica	17	17.9 %
Faz Tudo	2	2.1 %
Garçom	2	2.1 %
Manicure	1	1.1 %
Mecânico	2	2.1 %
Metalúrgico	1	1.1 %
Motorista	6	6.3 %
Músico	1	1.1 %
NI	17	17.9 %
Padeiro	1	1.1 %
Pescador	2	2.1 %
Planfeta	1	1.1 %
Porteiro	1	1.1 %
Presidiário	1	1.1 %
Professor	1	1.1 %
Sapateiro	1	1.1 %
Tec. De Enfermagem	1	1.1 %
Telemarketing	1	1.1 %
Vigia	1	1.1 %

Legenda: NI: Não informado.

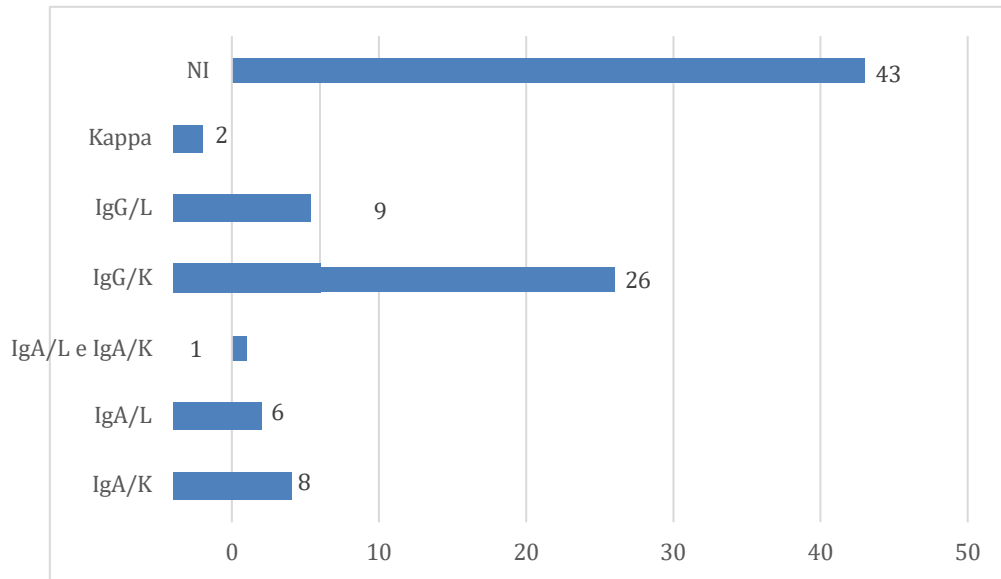
Quanto à residência, 45 pacientes (47,4%) viviam em Fortaleza, 15 (15,8%) em municípios da região metropolitana, e 35 (36,8%) na zona rural do Ceará (Figura 4). (**Figura 4**).

Figura 4. Distribuição geográfica dos pacientes atendidos com MM no HGF.



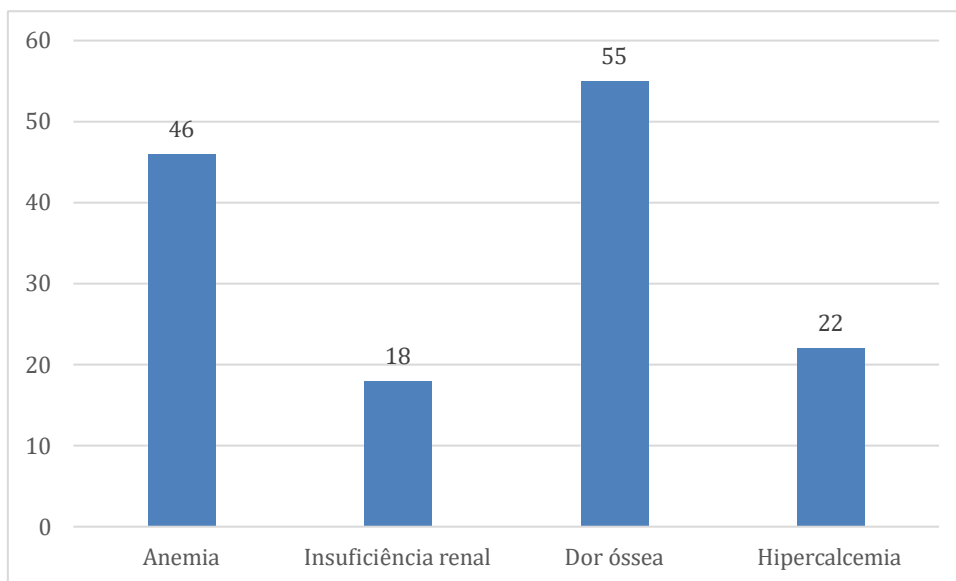


Com relação às características clínicas dos pacientes, 26 (27,4%) apresentavam o subtipo monoclonal IgG/K, 43 (45,3%) não tiveram o subtipo identificado, 9 (9,5%) eram IgG/L, (1,1%) com os subtipos IgA/K e IgA/L simultaneamente, 6 (6,3%) com o subtipo IgA/L, 8 (8,4%) com o subtipo IgA/K e 2 (2,1%) apresentavam apenas clonalidade Kappa (**Figura 5**).

Figura 5. Proteína monoclonal dos pacientes com MM atendidos no HGF.

Legenda: NI: Não informado.

Na apresentação clínica inicial, a anemia foi detectada em 46 pacientes, insuficiência renal em 18 pacientes, dor óssea em 55 pacientes e hipercalcemia em 22 pacientes (**Figura 6**).

Figura 6. Sintomas dos pacientes com MM atendidos no HGF.

Legenda: A dor nos ossos foi contabilizada a partir de relato dos pacientes e da presença de lesões líticas; Anemia foi definida quando paciente apresentava hemácia, hemoglobina e hematócrito abaixo dos valores de referência; Hipercalcemia quando pacientes apresentavam concentração total de cálcio > 10,4 mg/dL ou cálcio iônico plasmático > 5,2 mg/dL; Insuficiência renal definida quando clearance de creatinina < 40mL/min ou creatinina sérica > 2mg/dL.

Como primeira linha de tratamento, 60 pacientes utilizaram o regime VCD, 9 utilizaram VTD, 3 usaram VMP (bortezomibe + melfalano), 2 receberam CTD, e 1 utilizou SVD. Em 20 casos, não foi possível identificar o protocolo terapêutico inicial.

Nas análises estatísticas, verificou-se uma associação significativa entre a estratificação de risco (ISS) e os seguintes parâmetros: Hb ($p=0,003$), B2M ($p<0,001$), albumina ($p=0,048$), plaquetas ($p=0,023$) e Insuficiência renal ($p=0,002$) foi verificada uma provável influência entre essas variáveis (**Tabela 7**). Pacientes nos grupos ISS 2 e ISS 3 apresentaram níveis mais baixos de albumina, sugerindo que a hipoalbuminemia, além de níveis elevados de B2M ($>5,5$), está associada a um pior prognóstico.

A trombocitopenia e a anemia foram marcadores de mau prognóstico nos grupos ISS 2 e ISS 3. A insuficiência renal foi significativamente mais frequente no grupo ISS 3, reforçando seu papel como indicador de maior gravidade dentro da estratificação de risco.

Tabela 7. Exato de Fisher dos dados Clínico-Epidemiológicos dos pacientes diagnosticados com MM

Categoria	ISS			NI	p-valor
	ISS 1	ISS 2	ISS 3		
Gênero					0,291
Feminino	9	4	17	10	
Masculino	5	8	23	19	
Total	14	12	40	29	
Região					0,678
Fortaleza	6	6	19	14	
Região Metropolitana	1	3	6	5	
Zona rural	7	3	15	10	
Total	14	12	40	29	
Hb g/dL					< 0,001
<12	9	10	40	22	
12 a 16	5	2	0	7	
Total	14	12	40	29	
WBC/mm.					0,28

> 10.000	3	2	3	3	
< 3.000	2	0	8	3	
3.000 a 10.000	9	10	29	23	
Total	14	12	40	29	
Plaquetas					0,023
> 450.000	0	0	1	0	
< 150.000	1	3	19	6	
150.000 a 450.000	13	9	20	23	
Total	14	12	40	29	
B2M					<0,001
> 5,5	0	0	40	0	
< 5,5	14	12	0	8	
NI	0	0	0	21	
Total	14	12	40	29	
Albumina					0,048
> 2,5	13	7	25	6	
< 2,5	0	3	12	5	
NI	1	2	3	18	
Total	14	12	40	29	
LDH U/L					0,452
NI	1	0	2	17	
Alto	0	2	6	0	
Baixo	10	6	19	5	
Normal	3	4	13	7	
Total	14	12	40	29	
Hipercalemia					0,274
NÃO	1	5	3	7	
SIM	2	4	12	4	
Total	3	9	15	11	
Insuficiência Renal					0,002
NÃO	2	6	3	6	
SIM	0	1	13	5	
Total	2	7	16	11	
Dor óssea					0,279
NÃO	2	0	3	3	8
SIM	7	11	23	14	55
Total	9	11	26	17	63

Legenda: ISS: *International Staging System*; Hb: Hemoglobina; Wbc: Contagem de Células Brancas; B2M: Beta- 2 microglobulina LDH: Lactato Desidrogenase; U/L: Unidade por Litro; mm³: Milímetro Cúbico; g/dL: Grama por decilitro; NI: Não informado. Pacientes classificados como NI não entraram na análise estatística comparativa. p*<0,05; p**<0,001.

4.4 Perfil dos CNVs por aCGH

4.4.1 Alterações Gerais

A caracterização molecular de 16 pacientes foi realizada com o objetivo de identificar alterações citogenéticas de interesse. Foram detectadas 323 CNVs, incluindo 172 ganhos, 117 perdas e 32 LOH, com tamanhos variando de 3Kb a 110.779Kb (**Tabela 8**). As alterações cromossômicas identificadas estão detalhadas na figura 7 e na tabela 8. Ressaltando que e 1 paciente apresentou apenas deleções (**Figura 7**).

Tabela 8. Número total de CNVs

	Ganhos	Perdas	LOH	Total	Média por paciente
Número	172	117	34	323	20,18
Tamanho (Kb)	1.646.976	645.099	398.490	2.690.565	168.160

Legenda: LOH: perda de heterozigosidade;

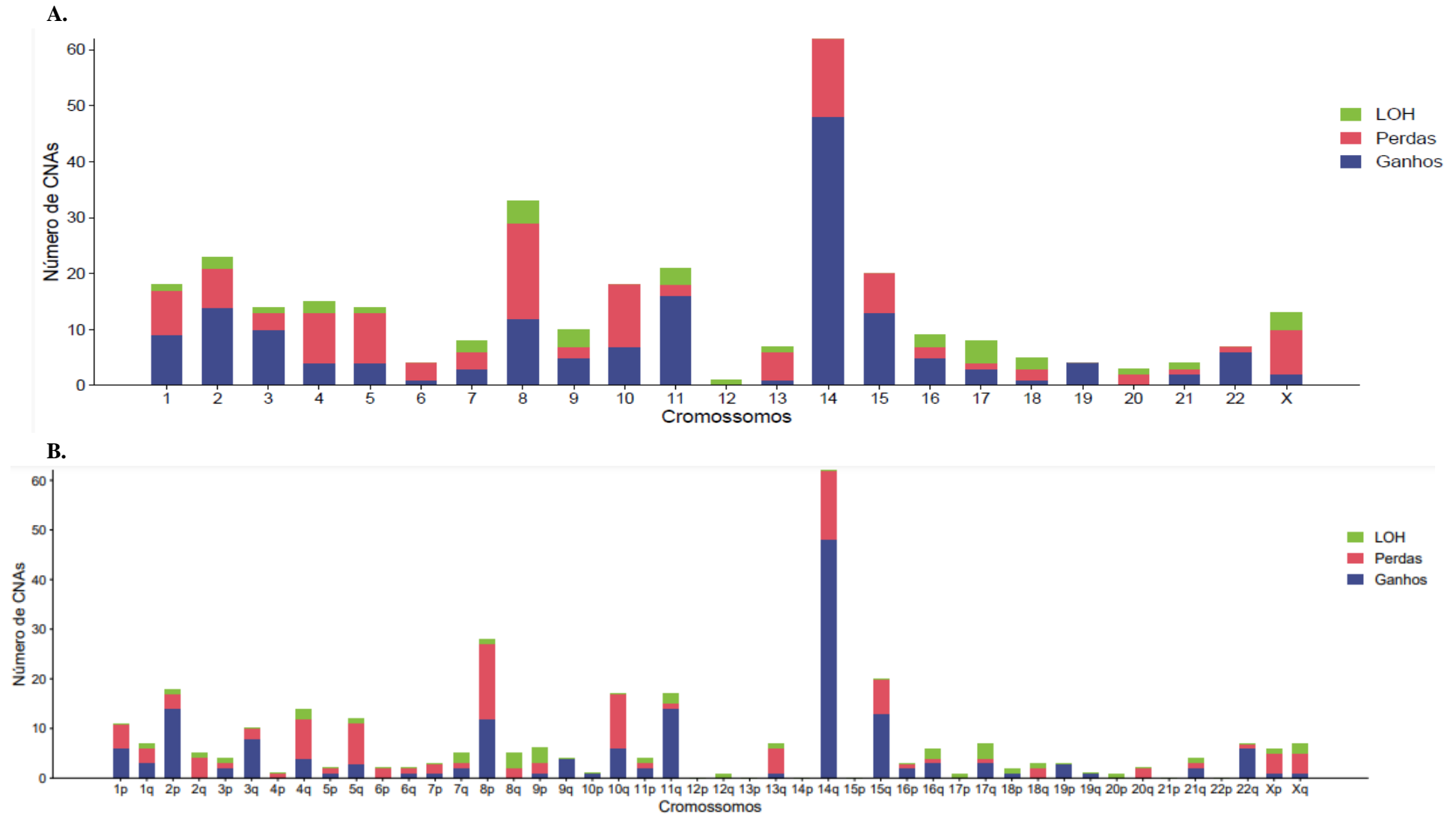
As regiões de LOH foram identificadas em apenas 7 pacientes, sem similaridades entre as bandas cromossômicas e sem genes drivers em comum (presentes em 30% ou mais dos casos). Para uma análise mais detalhada, os pacientes foram estratificados de acordo com o sistema ISS, revelando 9 LOHs no grupo ISS1, 21 no ISS2 e 4 no ISS3 (**Tabela 9**).

Tabela 9. Números de LOH identificados na população do estudo e por grupos de risco.

	ISS1	ISS2	ISS3	Total
Número de LOH	9	21	4	34

Legenda: LOH: perda de heterozigosidade; ISS: *International Staging System*

Figura 7. Apresentação das principais CNVs identificadas na população do estudo.



As alterações mais frequentes foram observadas no cromossomo 14 e seguida pelas subregiões 1p, 2p, 8p, 10q, 11q, 14q e 15q, que apresentaram mais de 10 CNVs. Os ganhos foram detectados na maioria dos cromossomos, exceto nos cromossomos 12 e 20, com maior incidência em 2p, 8p, 11q, 14q e 15q destacando as citobandas 2p11.2, 8p11.22, 8p22, 10q26.13 e 22q11.22 que estiveram semelhante em mais de 30% das amostras (**Tabela 10**).

Tabela 10. Regiões com ganhos em comum na população do estudo.

Cromossomo	Região	Tamanho (Kb)	Tipo de variação	Genes	Drivers	ACMG	Pacientes por grupo
2	p11.2	116	Ganho	<i>IGK</i>	NR	NR	ISS1 (2), ISS2 (3), ISS3 (2)
8	p22	67	Ganho	<i>MSRI</i>	<i>MSRI</i>	Possível patogenico	ISS1 (3), ISS2 (0), ISS3 (2)
10	q26.13	3	Ganho	<i>DMBT1</i>	<i>DMBT1</i>	Possível patogenico	ISS1 (1), ISS2 (2), ISS3 (2)
22	q11.22	188	Ganho	<i>MIR650</i> , <i>MIR5571</i> , <i>IGLL5</i>	NR	NR	ISS1 (3), ISS2 (0), ISS3 (2)

Legenda: NR: Não reportado.

Perdas foram observadas em quase todos os cromossomos de todos os pacientes, exceto nos cromossomos 12 e 19. As regiões que apresentaram maior número de perdas foram 8p e 10q, destacando-se a citobanda 8p11.22, que apresentou deleções recorrentes em mais de 30% dos pacientes (**Tabela 11**).

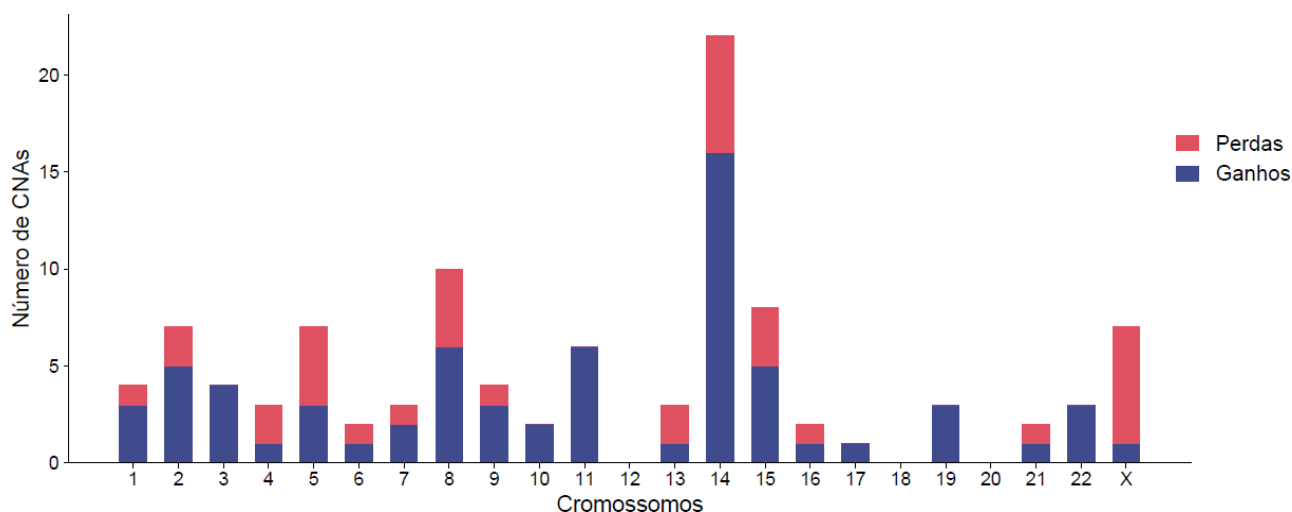
Tabela 11. Regiões com perdas em comum na população do estudo.

Cromossomo	Região	Tamanho (Kb)	Tipo de variação	Genes	Driver	ACMG	Pacientes por grupo
8	p11.22	123	Perda	ADAM5, ADAM3A	NR	NR	ISS1 (2), ISS2 (3), ISS3 (2)

Legenda: NR: não reportado.

4.4.2 Perfil das CNVs presentes no grupo ISS 1

Entre os 16 pacientes avaliados, 6 foram classificados no grupo ISS1 (**Tabela 12**). Nesse grupo, foram identificados 112 CNVs, destes 68 ganhos, 35 perdas e 9 LOH, com variações de 3Kb a 104.315Kb (**Figura 8**).

Figura 8. Apresentação de CNVs por cromossomo no grupo ISS1

Legenda: CNAs: Anormalidades no número de cópias

Tabela 12. Dados clínicos pacientes do grupo ISS1.

ID	Ocupação	Região	Idade	Gênero	Hb g/dL	LDH U/L	B2M	Albumina	Imunoglobulina
MM03	Borracheiro	Fortaleza	58	M	12,2	167	2,48	3,6	IGG/K
MM32	Padeiro	Fortaleza	63	M	14,7	195	5,16	4,1	IGG/K

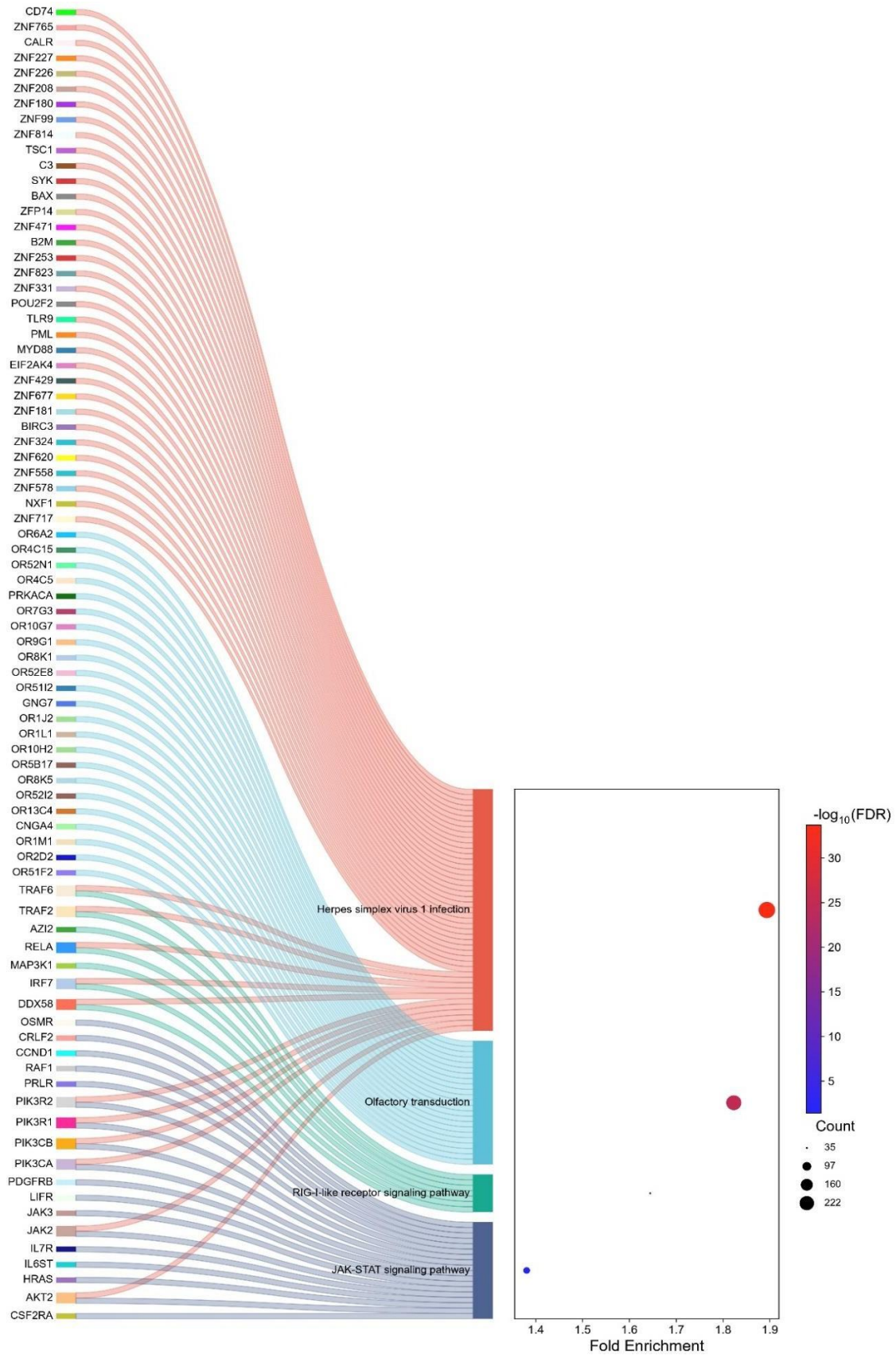
MM52	Agricultor	Zona rural	64	F	10	112	4,06	NI	IGG/K
MM76	Doméstica	Fortaleza	46	F	10,5	145	2,55	3,6	IGA/K
MM104	Agricultor	Fortaleza	56	M	9,1	353	1,73	4,5	IGA/L
MM157	Pescador	Zona rural	54	F	2,6	171	2,29	3,8	IGA/K

Entre os ganhos, destacaram-se genes *drivers* frequentemente alterados, como o *HERC2* e *MSR1*, que apresentaram ganho em 5/6 e 3/6 respectivamente entre os pacientes do grupo, e classificados com níveis de patogenicidade 2 e 1 de acordo com o ACMG, respectivamente.

Por outro lado, as perdas não mostraram uma prevalência consistente entre os genes *drivers* analisados, com nenhuma ocorrência presente em metade ou mais dos pacientes.

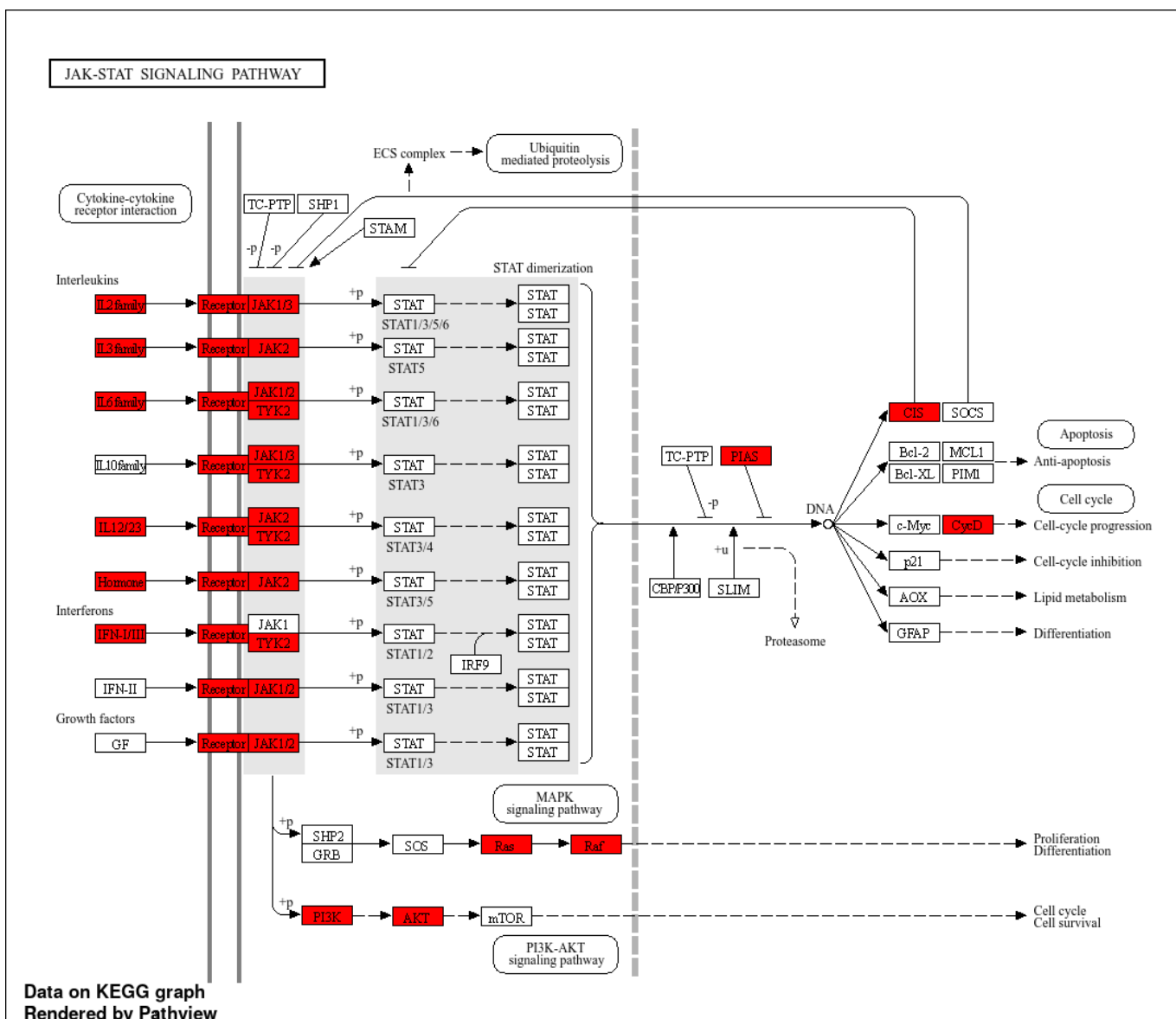
A análise ontológica indicou que os ganhos estavam relacionados a vias de infecção por herpesvírus tipo 1, transdução olfatória, receptores do tipo *RIG-I* e sinalização *JAK-STAT* (Figuras 9 e 10). Por outro lado, as perdas estavam envolvidas em vias críticas, como reparo por excisão de nucleotídeos, vigilância de mRNA, moléculas de adesão celular e replicação do DNA (Figura 11).

Figura 9. Diagrama de Sankey representando a análise de enriquecimento genômico referente aos ganhos no grupo ISS1.



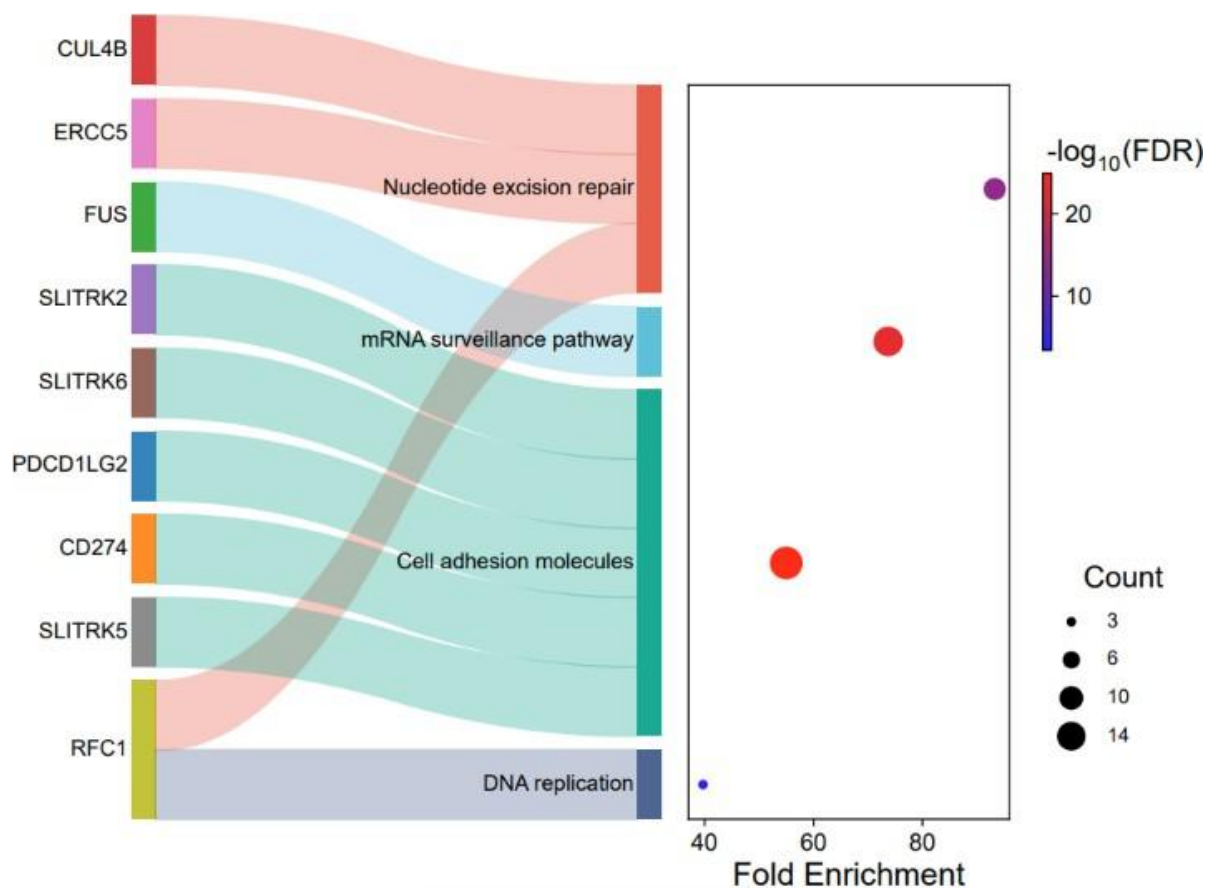
Legenda: Gráfico de Sankey representando as quatro principais vias biológicas enriquecidas para os ganhos observados em pacientes com mieloma múltiplo (MM) no estágio ISS1. A espessura dos fluxos representa o grau de enriquecimento (*Fold Enrichment*), enquanto as cores representam a significância estatística baseada na taxa de falsos descobrimentos FDR (*False Discovery Rate*). O número de genes associados a cada via é indicado pelo *Count*. As vias destacadas incluem Herpes Simplex, transdução olfativa, RIG-I-like e JAK-STAT. As vias RIG-I-like e JAK-STAT exibem maior significância estatística (FDR próximo de 5), enquanto as vias de Herpes Simplex e transdução olfativa envolvem um maior número de genes, embora com menor significância estatística (FDR superior a 25).

Figura 10. Via de sinalização JAK-STAT



Legenda: Análise ontológica da via de sinalização JAK-STAT. Em vermelho destacado os genes identificados alterados no grupo ISS1.

Figura 11. Diagrama de Sankey representando a análise de enriquecimento genômico referente as perdas no grupo ISS1.

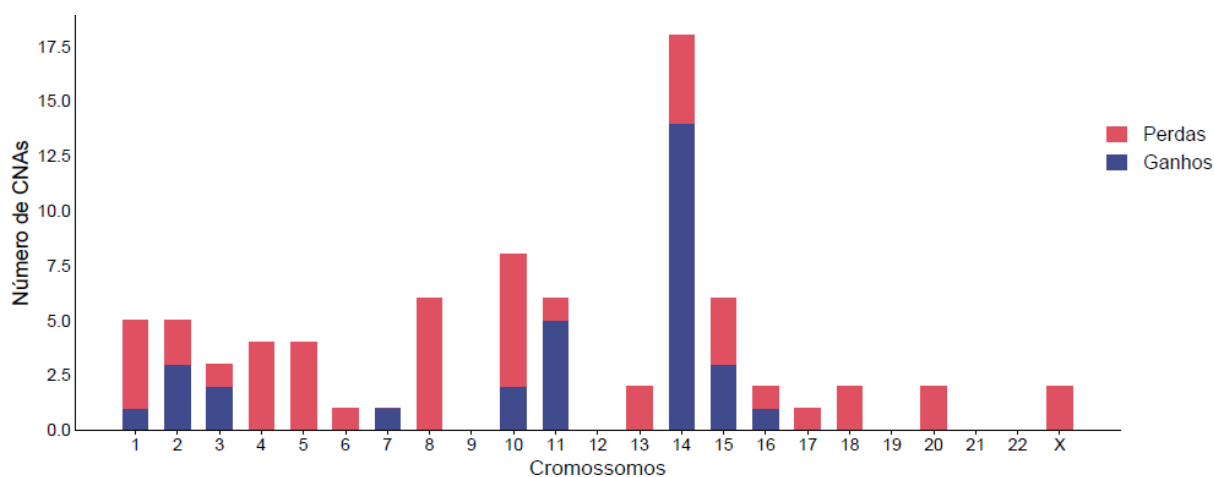


Legenda: Gráfico de Sankey representando as quatro principais vias biológicas enriquecidas para as perdas observadas em pacientes com mieloma múltiplo (MM) no estágio ISS1. A espessura dos fluxos representa o grau de enriquecimento (*Fold Enrichment*), enquanto as cores representam a significância estatística baseada na taxa de falsos descobrimentos FDR (*False Discovery Rate*). O número de genes associados a cada via é indicado pelo *Count*. A via de Replicação do DNA apresenta maior significância estatística (FDR próximo a 5), enquanto as demais vias, como moléculas de adesão celular e reparo por excisão de nucleotídeos, apresenta contagens de genes mais altas, porém menor significância (FDR acima de 15).

4.4.3 Perfil das CNVs presentes no grupo ISS 2

Entre os 16 pacientes analisados, 5 foram classificados no grupo ISS2 (Tabela 13). Foram identificadas 100 CNVs, das quais 32 eram ganhos, 47 perdas e 21 regiões de perda de heterozigidade (LOH), com tamanhos variando entre 3 Kb e 110.779 Kb (Figura 12).

Figura 12. Apresentação de CNVs por cromossomo no grupo ISS2



Legenda: CNAs: Anormalidades no número de cópias

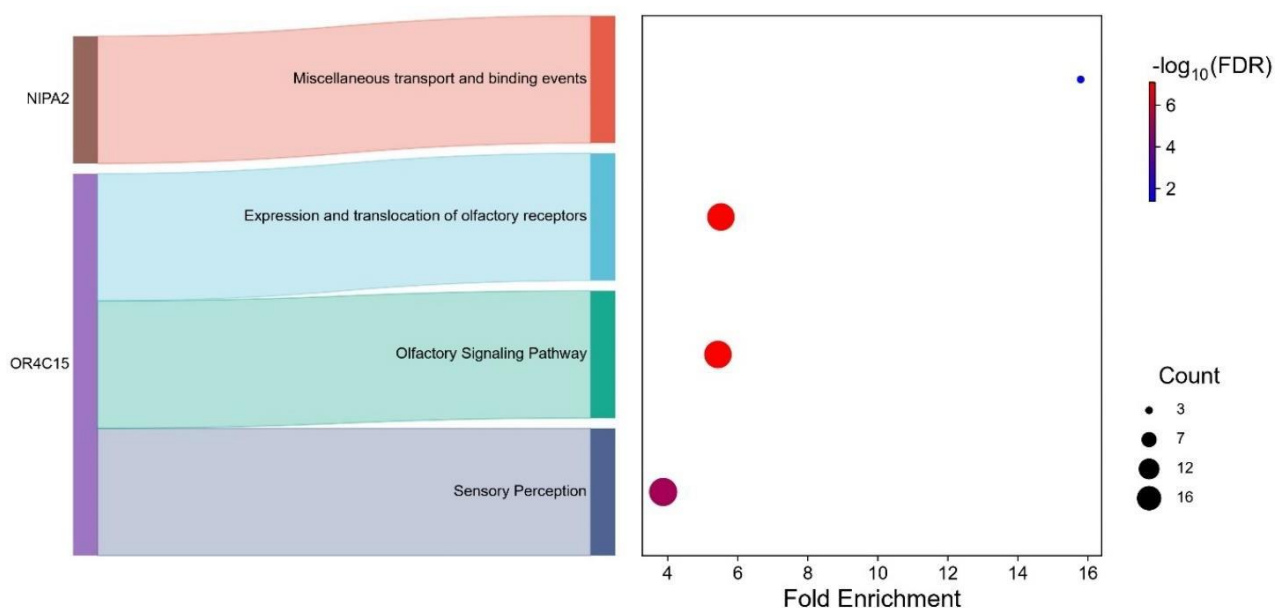
Tabela 13. Dados clínicos pacientes do grupo ISS2.

ID	Ocupação	Região	Idade	Gênero	Hb g/dL	LDH U/L	B2M	Albumina	Imunoglobulina
MM31	Agricultor	Zona rural	79	M	11,5	133	3,27	2,9	IGG/K
MM127	Construção civil	Zona rural	66	M	10,3	109	1,85	3,2	IGA/K
MM129	Agricultor	Zona rural	58	M	10,7	196	5,15	3	NI
MM160	NI	Fortaleza	60	M	7,8	128	4,13	3,1	IGA/L
MM170	Agricultor	Região metropolitana	70	F	5,4	406	1,49	2	KAPPA

Entre os ganhos, não foi identificada a presença comum de *drivers* em mais da metade dos pacientes. Nas perdas, o gene *OCLN* destacou-se, com deleções observadas em 3 dos 5 pacientes. Este gene possui nível de patogenicidade 1, conforme os critérios da ACMG.

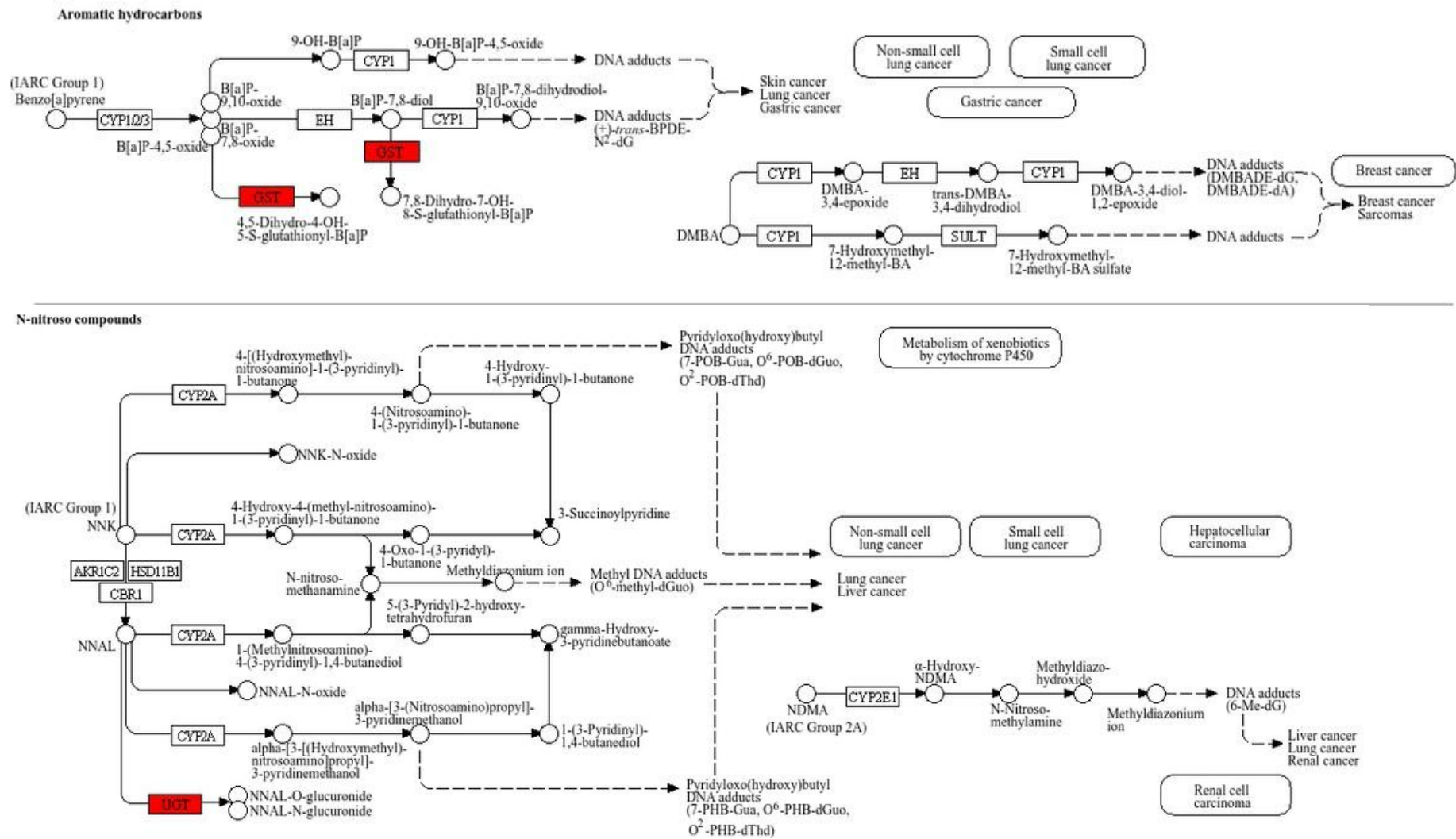
A análise ontológica genética evidenciou ganhos em vias relacionadas à percepção sensorial, sinalização olfatória, expressão e translocação de receptores olfativos, além de eventos diversos de transporte e ligação (Figura 13). As perdas, por sua vez, foram associadas a vias metabólicas, incluindo metabolismo do amido e da sacarose, digestão e absorção de carboidratos, metabolismo de porfirinas, metabolismo de xenobióticos pelo citocromo P450, formação de adutos de DNA em carcinogênese química (Figura 15), metabolismo de drogas - outras enzimas, biossíntese de hormônios esteroides, biossíntese de cofatores e ativação química de receptores de carcinogênese (Figura 14).

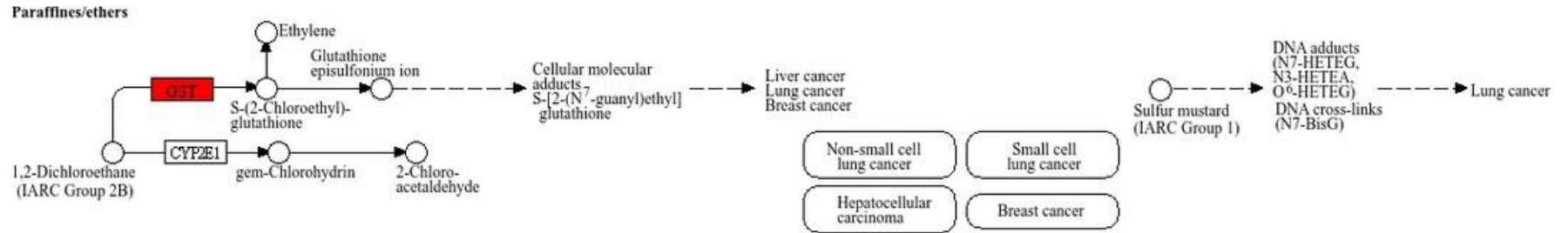
Figura 13. Diagrama de Sankey representando a análise de enriquecimento genômico referente aos ganhos no grupo ISS2.



Legenda: Gráfico de Sankey representando as quatro principais vias biológicas enriquecidas para os ganhos observados em pacientes com mieloma múltiplo (MM) no estágio ISS2. A espessura dos fluxos representa o grau de enriquecimento (*Fold Enrichment*), enquanto as cores representam a significância estatística baseada na taxa de falsos descobrimentos FDR (*False Discovery Rate*). O número de genes associados a cada via é indicado pelo *Count*. A via *miscellaneous transport and binding events* mostra maior significância estatística (FDR próximo a 2), enquanto as demais vias, como percepção sensorial, sinalização olfatória e expressão de receptores olfativos, possuem maior número de genes, mas com significância estatística menor.

Figura 15. Via Chemical carcinogenesis-DNA adducts





Legenda: Análise ontológica da via *Chemical carcinogenesis-DNA adducts* presente dentre as perdas do grupo ISS 2. Em vermelho destacado os genes identificados alterados no grupo ISS 2.

4.4.4 Perfil das CNVs presente no grupo ISS 3

Cinco pacientes foram classificados pertencentes ao grupo ISS3 (Tabela 14). Nesse grupo, foram identificadas 111 alterações CNVs, incluindo 72 ganhos, 35 perdas e 4 regiões de perda de heterozigose (LOH), com tamanhos variando de 3 kb a 104.252 kb (Figura 16).

Figura 16. Apresentação de CNVs por cromossomo no grupo ISS3.

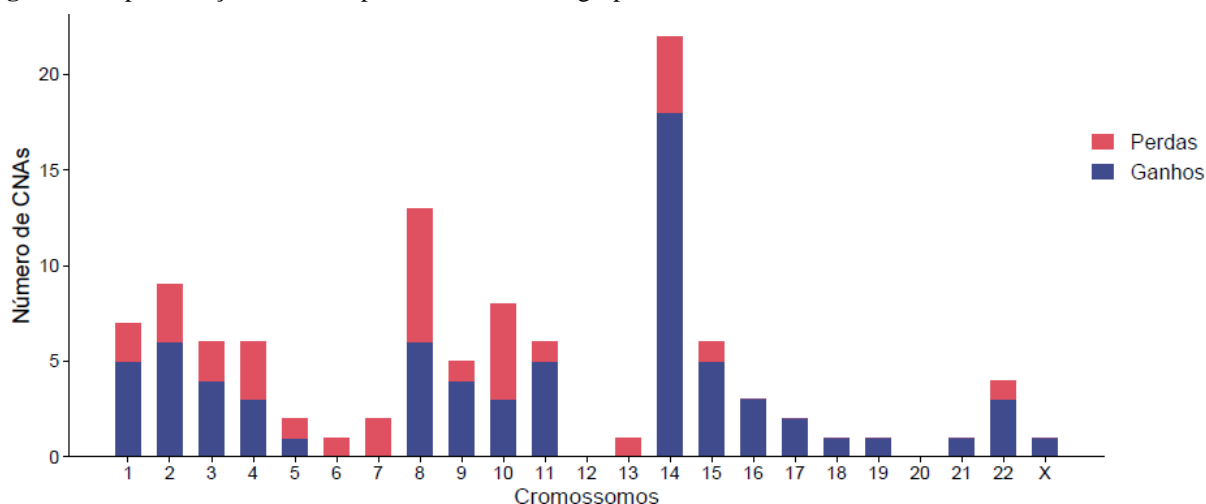


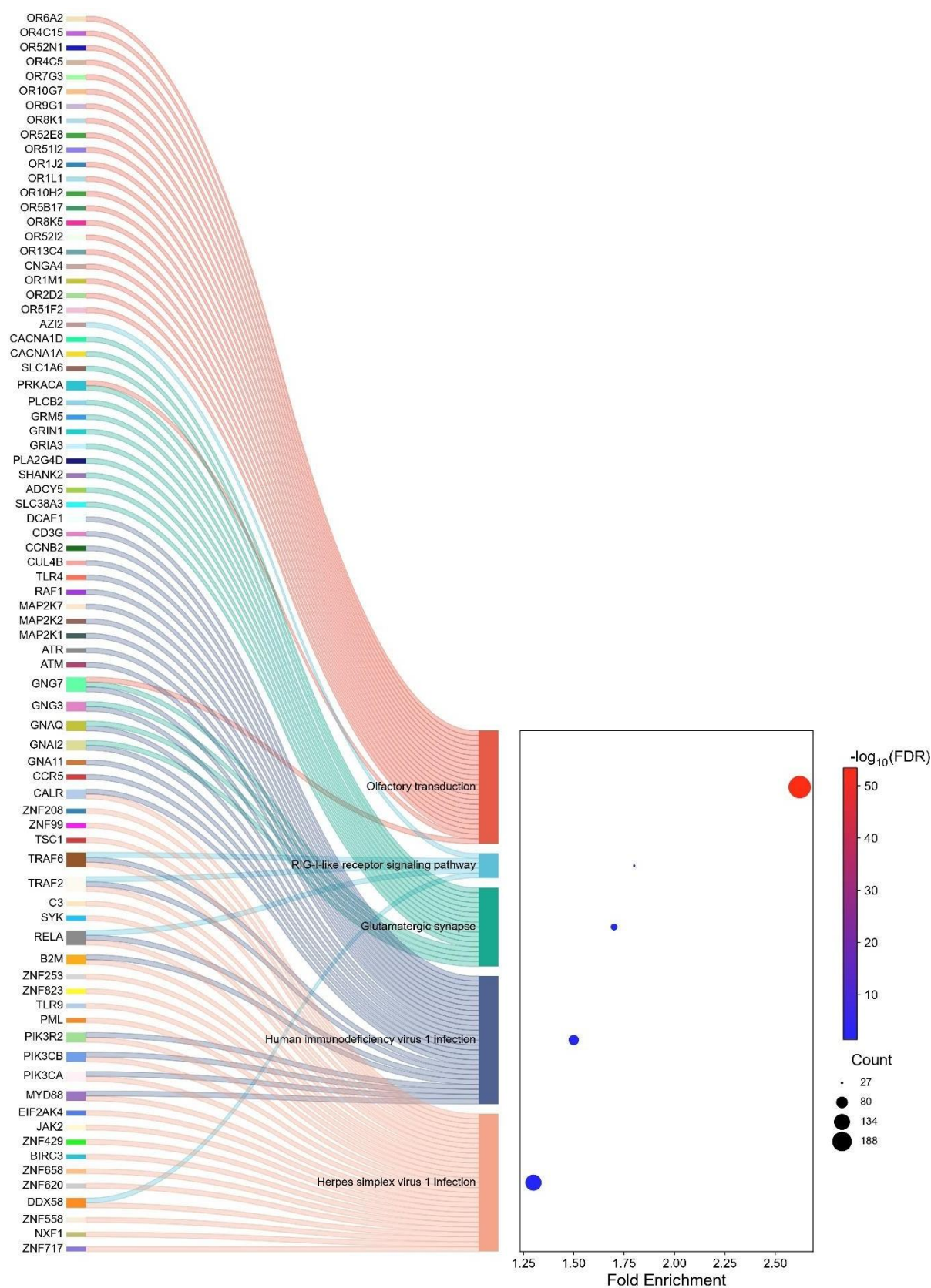
Tabela 14. Dados clínicos pacientes do grupo ISS3.

ID	Ocupação	Região	Idade	Gênero	Hb g/dL	LDH U/L	B2M	Albumina	Imunoglobulina
MM49	Doméstica	Região metropolitana	52	F	8,2	80	5,92	3,8	IGA/L
MM71	Faz tudo	Zona rural	70	M	6,9	269	22	NI	NI
MM105	Faz tudo	Fortaleza	62	M	9,5	192	6,09	4	NI
MM138	Doméstica	Fortaleza	61	F	6,5	280	8,09	2,2	IGG/K
MM167	Presidiário	Fortaleza	47	M	6,9	2500	20,39	1,72	NI

A análise revelou que, entre os ganhos e perdas, não houve identificação de *drivers* prevalentes compartilhados por metade ou mais dos pacientes avaliados. A ontologia genética evidenciou ganhos relacionados às vias de transdução olfatória, receptores do tipo RIG-I, sinapse glutamatérgica, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) e infecção pelo

vírus herpes simples tipo 1 (HSV-1) (Figuras 17 e 18). No entanto, não foram detectados genes *drivers* associados às vias de perdas

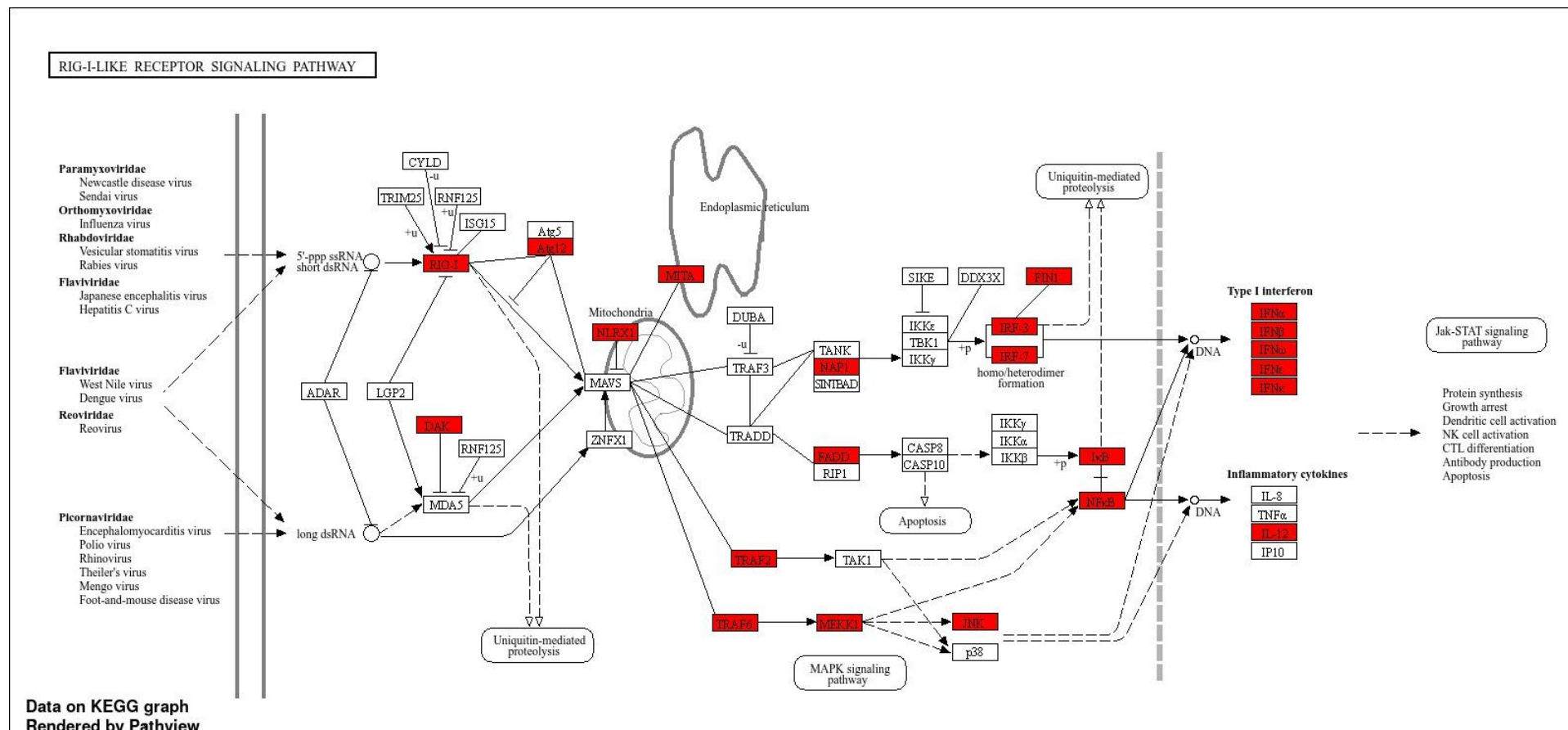
Figura 17. Diagrama de Sankey representando a análise de enriquecimento genômico referente aos ganhos no grupo ISS3.



Legenda: Gráfico de Sankey representando as quatro principais vias biológicas enriquecidas para os ganhos observados em pacientes com mieloma múltiplo (MM) no estágio ISS3. A espessura dos fluxos representa o grau de enriquecimento (*Fold Enrichment*), enquanto as cores representam a significância estatística baseada na taxa de falsos descobrimentos FDR (*False Discovery Rate*). O número de genes associados a cada via é indicado pelo *Count*. As vias com maior significância estatística incluem a via do herpes simplex (FDR próximo a 5), infecção vírus 1 da imunodeficiência humana (FDR

próximo a 5), sinapse glutaminérgico (FDR próximo a 5) e RIG-I-like (FDR próximo a 5), enquanto a via da transdução olfatória apresenta maior número de genes envolvidos, porém não apresentou um dado significativo.

Figura 18. Via de sinalização RIG-I-like receptor



4.4.5 Comparação entre grupos de pacientes

A partir das análises individuais das CNVs de cada grupo, realizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparar os grupos LOH ($\chi^2[2] = 20,34$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0.0634$ “pequeno efeito”), perda ($\chi^2[2] = 6,35$; $p = 0,042$; $\eta^2 = 0.0198$ “pequeno efeito”) e ganho ($\chi^2[2] = 25,86$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0.0806$ “médio efeito”). Os resultados indicaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (**Tabela 15**).

Tabela 15. Análise de Kruskal-Wallis entre grupos de risco.

	Ganhos		Perdas		LOH	
	Número de CNV	p-valor <0,001	Número de CNV	p-valor 0,042	Número de CNV	p-valor <0,001
ISS1	68		35		9	
ISS2	32		47		21	
ISS3	72		35		4	

A análise post hoc por meio do teste de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner revelou que, no grupo LOH, o ISS2 apresentou diferenças significativas em relação ao ISS1 ($p = 0,017$) e ao ISS3 ($p < 0,001$). Para a variável "perda", as diferenças entre os grupos de risco foram menos pronunciadas, sem diferenças estatisticamente significativas. Já na variável "ganho", os resultados demonstraram que o ISS2 difere significativamente de ambos os grupos ISS1 e ISS3 ($p < 0,001$) em termos de ganho genômico (Tabela 16).

Tabela 16. Teste de post-hoc de CNVs entre grupos de risco.

		Comparações múltiplas - LOH		Comparações múltiplas - Perda		Comparações múltiplas - Ganho	
		W	p	W	p	W	p
ISS1	ISS2	3.86	0.017	3.200	0.061	-5.815	<.001
ISS1	ISS3	-2.49	0.183	0.267	0.981	0.905	0.798
ISS2	ISS3	-5.94	<.001	-2.935	0.095	6.643	<.001

5 DISCUSSÃO

Foi identificado um número significativo de novos casos de MM dentro de um período de 2 anos no estado do Ceará. Os pacientes avaliados apresentaram características compatíveis com a literatura, como idade média próxima aos 65 anos e maior incidência em homens. No entanto, a distribuição de risco revelou discrepâncias: o grupo de alto risco foi o mais prevalente, enquanto o grupo de risco intermediário apresentou menor representatividade. Este achado diverge da literatura, que aponta maior frequência no risco intermediário. Quanto à localização geográfica, pacientes de áreas rurais apresentaram as menores taxas de ocorrência, resultado semelhante ao descrito por Rajabli et al. (2013) no Irã (Rajabli *et al.*, 2013; Padala *et al.*, 2021).

Marcadores como valores de albumina e B2M são utilizados para estratificação de pacientes pelo ISS e os nossos resultados ($p=0,048$ e $p<0,001$) confirmam a estratificação correta dos pacientes. Características clínicas, como trombocitopenia, pode ser um marcador de pior prognóstico quando observado que o número de plaquetas esteve mais baixo em pacientes com riscos mais alto, entretanto essa característica já é associada ao MM devido a infiltração medular e a produção de IL-6 que influenciam o processo de trombopoiese (Greipp *et al.*, 2005; Hari *et al.*, 2009; Ozkur *et al.*, 2010).

Dentre as características clínicas ainda podem ser citados os valores de hemoglobina que apresentaram valores mais baixos nos grupos ISS2 e ISS3, sugerindo que a anemia seja associada a um pior prognóstico. Além da anemia ser um sintoma conhecido do MM, suas células também podem induzir apoptose em precursores eritroides, assim como o microambiente tumoral do MM pode influenciar na diminuição do ferro, contribuindo ainda mais para a anemia (Silvestris *et al.*, 2002; Bordini *et al.*, 2015).

A insuficiência renal foi mais prevalente no grupo ISS 3 e sendo relacionada com pior prognóstico, tal característica é conhecida devido a essa condição ser uma complicação comum no MM, afetando até 50% dos pacientes no diagnóstico (Wang *et al.*, 2024).

CNVs também desempenham papel significativo na patogênese do MM. Neste estudo, foram identificadas, em média, 20,18 alterações por paciente, com destaque para ganhos nas regiões cromossômicas 2p, 8p, 11q, 14q e 15q. Alterações no cromossomo 1 são frequentemente associadas a prognósticos desfavoráveis, sendo observadas em até 45% dos casos. Deleções em 1p estão relacionadas à evolução clonal, enquanto ampliações em 1q associam-se à instabilidade genômica. Contudo, essas alterações

não ocorreram na mesma proporção no presente estudo. Além disso, as alterações no cromossomo 1 também são observadas na leucemia de células plasmáticas (Ivyna Bong, 2014; Croft e colaboradores, 2021; Clarke SE, Fuller KA, Erber WN, 2024). Lee *et al.* (2021) além de ganhos no 1q também identificaram que ganhos em 6p que estão associados a uma menor sobrevida global (SG) no MM, porém também não foi observado no atual estudo (Lee *et al.*, 2021).

Rearranjos no gene *IGH* estão entre as principais alterações observadas no MM, frequentemente envolvendo os cromossomos 11 e 14. Neste estudo, ganhos nessas regiões foram comuns a todos os pacientes, com a região 14q exibindo o maior número de alterações. O *IGH* também está associado a rearranjos com perda de 4p, 6q e 8p. Destes, apenas o 8p foi observado como perda comum entre os pacientes, regiões nas quais diferem das encontradas na literatura. A região 8p11.22 encontrada no estudo não apresentava genes drivers, enquanto na literatura a perda de regiões, ou a deleção do 8p inteiro, está mais associada a alterações com efeito no oncogene *MYC* (Walker *et al.*, 2010; Smetana *et al.*, 2014).

No que diz respeito a perdas, a deleção perda parcial ou total do cromossomo 13 é a alteração mais frequente no MM, afetando 50% dos pacientes, embora não tenha sido detectada em nossos resultados (Lee *et al.*, 2021).

Deleções em 17p estão presentes em 10% dos pacientes, são consideradas de alto risco devido à perda do gene supressor de tumor *TP53*. No entanto, neste estudo, não foi identificada a ausência dessa região, sendo identificado apenas um caso de LOH (Clarke SE, Fuller KA, Erber WN, 2024).

Não foram identificados a presença de LOH em todos os pacientes, bem como similaridade entre as alterações. Embora Hervé *et al.* (2009), tenham descrito LOH em 16q em 38,3% dos casos, associando-a a um prognóstico desfavorável devido à redução significativa da expressão do gene supressor de tumor *WWOX*, nossos achados diferem. (Jenner *et al.*, 2007; Hervé *et al.*, 2009). Por outro lado, a frequência de **LOH** em 5% dos pacientes recém-diagnosticados, como relatado por Beksac, Balli e Akcora Yildiz (2020), assemelha-se mais com os nossos resultados (Beksac, Balli e Akcora Yildiz, 2020). Além disso, Pawlyn *et al.* (2018) sugerem que LOH relacionada à deficiência de recombinação homóloga contribui para a instabilidade genômica, aumentando à medida que a doença progride (Pawlyn *et al.*, 2018).

A análise de CNVs revelou alterações frequentes nas regiões 8p22 e 10q26.13, as quais apresentam *drivers* como os *MSR1* e *DMBT1*, respectivamente.

O gene *DMBT1* (*Deleted in Malignant Brain Tumors 1*), identificado como um supressor tumoral em neoplasias cerebrais e epiteliais, desempenha funções na imunidade

inata, diferenciação epitelial e angiogênese. Alterações em sua expressão já foi descrita em diversos tumores, incluindo carcinoma espinocelular cervical, carcinoma papilar de tireoide e câncer gástrico, onde apresenta expressão elevada (Zhang et al., 2019; Gan et al., 2021; Koopaie et al., 2022). Contudo, não há correlação prévia de *DMBT1* com o mieloma múltiplo (MM).

Por outro lado, *MSR1* (*Macrophage Scavenger Receptor 1*), localizado em 8p22, também não possui alterações descritas no MM, embora sua deleção seja associada a mau prognóstico em outros tipos de câncer, como carcinoma hepatocelular, carcinoma espinocelular oral, câncer de próstata e adenocarcinoma gástrico (Gudgeon et al., 2022; Sanvicente et al., 2024). Esse gene desempenha funções inflamatórias importantes e é expresso em macrófagos. Estudos recentes associam macrófagos relacionados a tumores (*tumor-associated macrophages*, TAMs) ao crescimento tumoral, destacando seu papel na evasão imunológica, angiogênese e metástase. A proteína *MSR1* foi identificada como marcador relevante nesses macrófagos e associada a prognóstico desfavorável. Entretanto, ainda não há terapias específicas direcionadas ao receptor *MSR1* (Gudgeon et al., 2022; Sanvicente et al., 2024). A presença de *MSR1* no MM pode estar relacionada ao recrutamento de monócitos pelo microambiente tumoral, promovendo tumorigênese. O acúmulo de TAMs pode impactar negativamente a resposta terapêutica e os desfechos clínicos (Beider et al., 2014). Ao dividir os pacientes por estratificação de risco, observou-se que, no grupo ISS1, houve ganho de *MSR1* em 3 de 6 pacientes e de *HERC2* em 5 de 6. O gene *HERC2* (*HECT and RLD Domain Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase 2*), relacionado à estabilidade genômica, regulação do ciclo celular e reparo de DNA, é um modulador da proteína p53. Este gene já foi associado ao câncer de mama, devido à degradação do gene *BRCA1*, e ao carcinoma hepatocelular, no qual promoveu evasão imunológica por meio da sinalização *JAK2/STAT3* (Wu et al., 2010; Cubillos-Rojas et al., 2016; Liu et al., 2023). No entanto, ainda não foi estabelecida uma relação entre *HERC2* e MM.

Ainda no grupo ISS1, foram identificados os ganhos nas vias de sinalização do transdutor de sinal da Janus quinase e do ativador da transcrição (*JAK-STAT*), onde foram identificados os ganhos de genes drivers *OSMR*, *CRLF2*, *CCND1*, *RAF1*, *PRLR*, *PIK3R2*, *PIK3R1*, *PIK3CB*, *PIK3CA*, *PDGFRB*, *LIFR*, *JAK3*, *JAK2*, *IL7R*, *IL6ST*, *HRAS*, *AKT2* e *CSF2RA*, e na via e via do gene-I induzível por ácido retinoico como receptor (*RIG-I-like receptor*) onde foram identificados os ganhos de genes drivers *TRAF6*, *TRAF2*, *AZI2*, *RELA*, *MAP3K1*, *IRF7* e *DDX58*.

A via de sinalização *JAK-STAT* está envolvida na regulação de vários processos

celulares, incluindo proliferação, sobrevivência, modulação da resposta imune, desempenhando papel na patogênese, na progressão em uma variedade de doenças imunomediadas e processos de malignidade. No MM a ativação sustentada por essa via é característica e contribui para a progressão da doença, estando associada a um alto grau de infiltração da medula óssea (Lee *et al.*, 2013; Beldi-Ferchiou *et al.*, 2017; Ogiya *et al.*, 2020).

Identificamos ganhos dos genes drivers *JAK2* e *JAK3*, onde alterações nestes são frequentemente associadas a malignidades hematológicas, como *JAK2* na trombocitose hereditária e em neoplasias mieloproliferativas, e *JAK3* no transtorno de imunodeficiência combinada grave e câncer de células renais de células claras. O envolvendo *JAK2* é importante para a sobrevivência e proliferação de células tumorais no MM, sendo importante alvo terapêutico e já observado que a inibição de *JAK-STAT* aumenta a citotoxicidade de células MM mediada por DARA (De Vos *et al.*, 2000; Agashe *et al.*, 2022).

A via *RIG-I-like receptor* é responsável por supervisionar o RNA aberrante presente nas células. A via possui função anti-infecção por meio da ativação de efeitos inflamatórios, está envolvida no desenvolvimento do câncer através da ativação da via *NF-κB* que pode levar a progressão do tumor. Essa via também possui outros mecanismos que podem estar associados à supressão do tumor e, também, no seu desenvolvimento. Estratégias terapêuticas visando a via *RIG-I* na terapia tumoral estão sendo exploradas, como a utilização de vírus modificados que atuam em *RIG-I* para regulação positiva de fatores pró-apoptóticos (Du *et al.*, 2023).

Os ganhos na via *RIG-I* foram observados nos grupos ISS1 e ISS3, tendo ambos os grupos ganhos também associados a infecções virais, como apenas a herpes no grupo ISS1 e no grupo ISS3 herpes de HIV. Assim não descartando a possibilidade desses ganhos estarem associados. No grupo ISS3 os genes drivers presentes na via foram *AZI2*, *TRAF6*, *TRAF2*, *RELA* e *DDX58*.

Ainda sobre ganhos no ISS1 foi observado o ganho da via de transdução olfativa, com o ganho de genes drivers *OR51F2*, *OR2D2*, *OR1M1*, *CNGA4*, *OR13C4*, *OR52I2*, *OR8K5*, *OR5B17*, *OR10H2*, *OR1L1*, *OR1J2*, *GNG7*, *OR51I2*, *OR52E8*, *OR8K1*, *OR9G1*, *OR10G7*, *OR7G3*, *PRKACA*, *OR4C5*, *OR52N1* e *OR4C15*.

A via de transdução olfativa ainda não foi associada ao MM, porém tem sido associada com o câncer, onde vários estudos demonstraram que os receptores olfativos são expressos de forma anormal. Já foram relatadas alterações no câncer colorretal, onde sua ativação da via pode levar à inibição da proliferação celular e indução de apoptose

(Weber *et al.*, 2017). No câncer de próstata, *OR51E1* e *OR51E2* demonstraram suprimir a proliferação celular e promover a morte (Pronin; Slepak, 2021). Sendo descrito também no câncer de mama, tumores epiteliais e no câncer gástrico, no qual foi identificadas alterações em *OR4C15*, porém seus impactos ainda não foram descritos (Zang *et al.*, 2012; Asadi *et al.*, 2021; Martin *et al.*, 2022). A relação entre a via olfatória e o câncer é complexa, mas se destaca seu potencial como possível biomarcador ou alvo terapêutico (Martin *et al.*, 2022).

Dentre as perdas no grupo ISS1, não foram observados genes comuns entre os pacientes, mas destaca-se as vias identificadas como, a via de Reparo por excisão de nucleotídeo que apresentou as perdas dos genes drivers *CUL4B*, *ERCC5* e *RFC1*, e a via de replicação de DNA que apresentou apenas a perda do driver *RFC1*. Ambas as vias podem ser associadas aos hallmarks do câncer como, instabilidade genômica, evasão à apoptose, proliferação, angiogênese e metástase. O transportador de folato reduzido 1 (*RFC1*) é o gene comum nas duas vias e correlacionado com a susceptibilidade ao câncer devido a sua capacidade de inibição da progressão tumoral, já foi descrita sua regulação negativa no câncer colorretal e podendo ser previsto como provável biomarcador e possível alvo terapêutico (Misbah *et al.*, 2024).

Vias associadas aos hallmarks do câncer também podem ser visualizadas nas perdas do grupo ISS2, onde as vias de Ativação química de receptores de carcinogênese teve perda genes drivers *UGT2A1*, *MTOR*, *GSTM5*, *JUN*, *PIK3CD*, *UGT2A2*, *UGT2B10*, *UGT2A3* e *PIK3R3*, e a via Chemical carcinogenesis-DNA adducts que teve a perda dos mesmo genes com exceção de *JUN* e *PIK3CD*. Ambas as vias impactam na instabilidade genômica, evasão da apoptose e proliferação celular desregulada. O *Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase (MTOR)* já foi descrito estimulando a sobrevivência e a resistência das células malignas no MM, demonstrando ser um alvo terapêutico promissor com diversos inibidores sendo estudados no âmbito da doença (Wang *et al.*, 2024).

Além das vias, no grupo ISS2 também foi identificada a perda comum do gene Occludin (*OCN*) entre os pacientes. Ainda não foram relatadas sua relação com o MM, entretanto foi descrito no carcinoma renal de células claras, câncer de próstata e no carcinoma urotelial da bexiga. A redução de *OCN* está associada à inibição da proliferação e à promoção da apoptose (Jia *et al.*, 2023).

Na comparação entre as CNVs presentes por grupo, foi possível identificar que o grupo ISS2 apresentou características diferentes e significativas, como a prevalência de um menor número de ganhos e um maior número de LOH. Entretanto, dentro da classificação clínica o ISS 2, apresenta alta heterogeneidade pois são constituídos por pacientes remanescentes que não se enquadram nos demais riscos e classificados como pacientes intermediários. Por mais que fatores de prognóstico como ISS e AC sejam

avaliados de forma independente e que quando combinadas projetam melhor estratificação dos pacientes, nosso estudo sugere que os pacientes desse grupo apresentam características diferenciais no número e classificação de CNVs (Schavgouledze *et al.*, 2023).

Apesar da identificação de vias e genes relevantes nos pacientes com MM, o impacto de prognóstico continua relacionado aos genes identificados continua um mistério no MM. Com isso o estudo dará continuidade com a avaliação de sobrevida associadas aos genes e correlacionando com a sua expressão, sendo assim possível apontar os biomarcadores para cada grupo e conseqüentemente a realização de um painel para classificação de pacientes.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, a caracterização do perfil clínico epidemiológico e estratificação dos pacientes participantes foram realizadas e permitiram traçar um perfil dos pacientes com MM no Estado do Ceará. Os participantes são caracterizados como pacientes, em sua maioria, do sexo masculino, com média de idade de 62,78 anos, sendo de grande maioria com prognóstico de alto risco de acordo com o ISS. Os pacientes também apresentaram características clínicas clássicas e relevantes como anemia e insuficiência renal, em grupos de risco mais elevados.

A partir da técnica de aCGH foi possível identificar a média 20,18 de CNAs por paciente na população assim como também os ganhos e perdas das principais vias e genes relacionados. Confirmando alterações na via JAK-STAT que são estudadas no MM e reforçando sua importância como alvo terapêutico. Os ganhos na via *RIG-I-like receptor*, surgem como pontos a serem mais explorados tendo em vista que podem estar ligados a vias de infecções virais encontradas consequentemente associadas a outras características clínicas dos pacientes. Os ganhos na via de sinalização olfativa no MM são um achado inédito e deve ser mais explorado. Dentre os genes identificados destaca-se o *MSRI* que apesar de ainda não ter sido relatado no MM apresenta uma grande associação com o microambiente tumoral da doença, dessa forma podendo ser considerado um potencial biomarcador.

Também foram notadas características relevantes a respeito do grupo de risco ISS 2, onde a presença de um maior número de LOH e um menor número de ganhos foram estatisticamente significativos e podem representar uma característica única deste grupo.

Ademais, o estudo mostrou que a grande heterogeneidade genética presente no MM se estende até dentro dos grupos de estratificação clínica, mas também revelou novos achados como as vias de sinalização olfativa e *RIG-I* como receptor associadas ao MM, assim como o gene *MSRI*. Sugerindo novos pontos a serem explorados dentro dessa malignidade.

7 CONCLUSÃO

A partir dessa pesquisa, conclui-se que as vias de sinalização JAK-STAT e RIG-I-like receptor, estão fortemente relacionadas ao MM, estando presentes nos grupos ISS 1 e ISS 3. Além disso os genes *HERC2* e *MSR1* surgem como prováveis biomarcadores para o grupo ISS 1, assim como o gene *OCN* para o grupo ISS 2, que além disto apresentou um maior número de LOH e menor número de ganhos, representando assim um diferencial dos demais grupos. O grupo ISS 3 não apresentou marcadores específicos devido à alta heterogeneidade, mas sua associação com as vias de sinalização JAK-STAT e RIG-I-like receptor reforça a importância das mesmas como possíveis alvos terapêuticos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agashe, Ruchi P et al. “JAK: Not Just Another Kinase.” *Molecular cancer therapeutics* vol. 21,12 (2022): 1757-1764. doi:10.1158/1535-7163.MCT-22-0323

ALBAGOUSH, Sara A. e SHUMWAY, Cameron e AZEVEDO, Alexandre M. Multiple Myeloma. *StatPearls*, 30 Jan 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534764/>>. Acesso em: 1 out 2023.

Asadi, Maryam et al. “Investigation of olfactory receptor family 51 subfamily j member 1 (OR51J1) gene susceptibility as a potential breast cancer-associated biomarker.” *PloS one* vol. 16,2 e0246752. 10 Feb. 2021, doi:10.1371/journal.pone.0246752

ATTAL, Michel e colab. A prospective, randomized trial of autologous bonemarrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *Intergroupe Francais du Myélome. N Engl J Med*, v. 335, n. 2, 1996.

ATTAL, Michel e colab. Isatuximab plus pomalidomide and low-dose dexamethasone versus pomalidomide and low-dose dexamethasone in patients with relapsed and refractory multiple myeloma (ICARIA-MM): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 study. *The Lancet*, v. 394, n. 10214, 2019.

ATTAL, Michel e colab. Lenalidomide Maintenance after Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine*, v. 366, n. 19, 2012.

BARRETO, Igor Valentim e colab. Kinase Inhibition in Multiple Myeloma: Current Scenario and Clinical Perspectives. *Pharmaceutics*. [S.l.: s.n.], 2022

BARWICK, Benjamin G. e colab. Cell of origin and genetic alterations in the pathogenesis of multiple myeloma. *Frontiers in Immunology*. [S.l.]: Frontiers Media S.A., 2019

Beider, Katia et al. “Multiple myeloma cells recruit tumor-supportive macrophages through the CXCR4/CXCL12 axis and promote their polarization toward the M2 phenotype.” *Oncotarget* vol. 5,22 (2014): 11283-96. doi:10.18632/oncotarget.2207

BEJJANI, Bassem A. e SHAFFER, Lisa G. Application of array-based comparative genomic hybridization to clinical diagnostics. *Journal of Molecular Diagnostics*. [S.l.]: Association of Molecular Pathology. , 2006

Beksac M, Balli S, Akcora Yildiz D. Drug Targeting of Genomic Instability in Multiple Myeloma. *Front Genet*. 2020 Apr 9;11:228. doi: 10.3389/fgene.2020.00228. PMID: 32373151; PMCID: PMC7179656.

Beldi-Ferchiou, Asma et al. “Abnormal repression of SHP-1, SHP-2 and SOCS-1 transcription sustains the activation of the JAK/STAT3 pathway and the progression of the disease in multiple myeloma.” *PloS one* vol. 12,4 e0174835. 3 Apr. 2017, doi:10.1371/journal.pone.0174835

BERGSAGEL, P. Leif e colab. Cyclin D dysregulation: An early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. *Blood*, v. 106, n. 1, p. 296–303, 2005.

BERNARDES, Adriana Targa. MIELOMA MÚLTIPLO: CONCEITO, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO. , 2007. . Acesso em: 27 set 2023.

BHATT, Parva e KLOOCK, Colin e COMENZO, Raymond. Relapsed/Refractory Multiple Myeloma: A Review of Available Therapies and Clinical Scenarios Encountered in Myeloma Relapse. *Current Oncology*. [S.l: s.n.]. , 2023

BIRD, Sarah e colab. Sex Differences in Multiple Myeloma Biology but not Clinical Outcomes: Results from 3894 Patients in the Myeloma XI Trial. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, v. 21, n. 10, 2021.

Bordini, Jessica et al. “Erythroblast apoptosis and microenvironmental iron restriction trigger anemia in the VK*MYC model of multiple myeloma.” *Haematologica* vol. 100,6 (2015): 834- 841. doi:10.3324/haematol.2014.118000

BOYD, Kevin D. e colab. Mapping of chromosome 1p deletions in myeloma identifies FAM46C at 1p12 and CDKN2C at 1p32.3 as being genes in regions associated with adverse survival. *Clinical Cancer Research*, v. 17, n. 24, 2011.

BRINGHEN, Sara e colab. Carfilzomib, cyclophosphamide, and dexamethasone in patients with newly diagnosed multiple myeloma: A multicenter, phase 2 study. *Blood*, v. 124, n. 1, 2014.

CARDONA-BENAVIDES, Ignacio J. e DE RAMÓN, Cristina e GUTIÉRREZ, Norma C. Genetic abnormalities in multiple myeloma: Prognostic and therapeutic implications. *Cells*, v. 10, n. 2, p. 1–28, 2021.

CASTANEDA, Omar e BAZ, Rachid. Multiple Myeloma Genomics - A Concise Review. *Acta medica academica*. [S.l.]: NLM (Medline). , 1 Abr 2019

CEJALVO, María J. e DE LA RUBIA, Javier. Which therapies will move to the front line for multiple myeloma? *Expert Review of Hematology*, v. 10, n. 5, 2017.

CHEN, Liang e colab. Bortezomib, epirubicin, and dexamethasone (PAD) results in superior free-progression survival compared to bortezomib, cyclophosphamide, and dexamethasone (VCD) treatment in non-transplantation newly diagnosed multiple myeloma patients aged between 50 to 65: a retrospective single-center analysis in non-transplant patients. *Annals of Translational Medicine*, v. 10, n. 12, 2022.

CHESI, M. e BERGSAGEL, P. L. Advances in the pathogenesis and diagnosis of multiple myeloma. *International journal of laboratory hematology*, v. 37 Suppl 1, n. S1, p. 108–114, 1 Maio 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25976968/>>. Acesso em: 1 out 2023.

CHILD, J. Anthony e colab. High-Dose Chemotherapy with Hematopoietic Stem-Cell Rescue for Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine*, v. 348, n. 19, p. 1875–1883, 8 Maio 2003.

Clarke SE, Fuller KA, Erber WN. Chromosomal defects in multiple myeloma. *Blood Rev*. 2024 Mar;64:101168. doi: 10.1016/j.blre.2024.101168. Epub 2024 Jan 4. PMID: 38212176.

CORRE, Jill e AVET-LOISEAU, Hervé. The impact of genomics on the management of myeloma. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. [S.l.: s.n.]. , 2011

Croft, James et al. “Copy number evolution and its relationship with patient outcome-an analysis of 178 matched presentation-relapse tumor pairs from the Myeloma XI trial.” *Leukemia* vol. 35,7 (2021): 2043-2053. doi:10.1038/s41375-020-01096-y

Cubillos-Rojas, Monica et al. “The HERC2 ubiquitin ligase is essential for embryonic development and regulates motor coordination.” *Oncotarget* vol. 7,35 (2016): 56083-56106. doi:10.18632/oncotarget.11270

CUNHA JÚNIOR, Ademar Dantas Da e colab. Obesity as a Possible Risk Factor for Progression from Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance Progression into Multiple Myeloma: Could Myeloma Be Prevented with Metformin Treatment? *Advances in Hematology*. [S.l.: s.n.]. , 2021

CURADO, Maria Paula e colab. Epidemiology of multiple myeloma in 17 Latin American countries: an update. *Cancer Medicine*, v. 7, n. 5, p. 2101–2108, 1 Maio 2018.

D’AGOSTINO, Mattia e colab. Second Revision of the International Staging System (R2-ISS) for Overall Survival in Multiple Myeloma: A European Myeloma Network (EMN) Report Within the HARMONY Project. *Journal of Clinical Oncology*, v. 364, 2022.

DAVIES JJ, WILSON IM, LAM WL. Array CGH technologies and their applications to cancer genomes. *Chromosome Res.* 2005;13(3):237-48. doi: 10.1007/s10577-005-2168-x. Erratum in: *Chromosome Res.* 2005;13(4):423.

DE FREITAS, Anderson Santos e BARBOZA PINTO, Helber. Sequenciamento NGS: Status e Perspectivas. *BIOINFO - Revista Brasileira de Bioinformática e Biologia Computacional*, 2021.

DE OLIVEIRA SANTOS, Marceli. Estimativa/2020 – Incidência de Câncer no Brasil. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 66, n. 1, 2020.

De Vos, J et al. “JAK2 tyrosine kinase inhibitor tyrphostin AG490 downregulates the mitogen- activated protein kinase (MAPK) and signal transducer and activator of transcription (STAT) pathways and induces apoptosis in myeloma cells.” *British journal of haematology* vol. 109,4 (2000): 823-8. doi:10.1046/j.1365-2141.2000.02127.x

DECIMONI, T.; SOUZA MARINHEIRO, P.; MOREIRA CAVALCANTE, E. Comparação dos perfis dos pacientes dos ensaios clínicos e análise de custos do tratamento medicamentoso em pacientes refratários a lenalidomida em mieloma múltiplo na saúde – Saúde Suplementar Brasileira. *JORNAL DE ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA E FARMACOECONOMIA*, [S. l.], v. 1, n. s. 2, 2023. DOI: 10.22563/2525-7323.2023.v1.s2.p.97. Disponível em: <https://ojs.jaff.org.br/ojs/index.php/jaff/article/view/788>. Acesso em: 18 nov. 2024.

DERMAN, Benjamin A. e colab. Sex differences in outcomes in multiple myeloma. *British Journal of Haematology*, v. 192, n. 3, p. e66–e69, 1 Fev 2021. Acesso em: 1 out 2023.

DIMOPOULOS, Meletios A. e colab. Elotuzumab plus Pomalidomide and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine*, v. 379, n. 19, 2018.

Du, Guangyuan et al. “Retinoic acid-inducible gene-I like receptor pathway in cancer: modification and treatment.” *Frontiers in immunology* vol. 14 1227041. 16 Aug. 2023, doi:10.3389/fimmu.2023.1227041

DU, Zhaohui e colab. A meta-analysis of genome-wide association studies of multiple myeloma among men and women of African ancestry. v. 4, n. 1, 2020. Disponível em: <<http://ashpublications.org/bloodadvances/article-pdf/4/1/181/1551416/advancesadv2019000491.pdf>>. Acesso em: 1 out 2023.

FERGUSON, Ian D. e colab. The surfaceome of multiple myeloma cells suggests potential immunotherapeutic strategies and protein markers of drug resistance. *Nature Communications*, v. 13, n. 1, p. 1–17, 2022.

FUKAMI, Maki e MIYADO, Mami. Next generation sequencing and array-based comparative genomic hybridization for molecular diagnosis of pediatric endocrine disorders. *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, v. 22, n. 2, p. 90, 2017.

Gan, Xiao-Xiong et al. “Significance of DMBT1 in Papillary Thyroid Carcinoma Concurrent With Hashimoto's Thyroiditis.” *Frontiers in oncology* vol. 11 680873. 4 Aug. 2021, doi:10.3389/fonc.2021.680873

GARRIDO, David Israel e colab. Comparative survival analysis using the International Stratification Score (ISS) in newlydiagnosed multiple myeloma in the Uruguayan population. *Medicine and Pharmacy Reports*, v. 94, n. 1, p. 48–52, 2021.

GLAESER, Andressa Barreto e colab. Microarray-Based Comparative Genomic Hybridization, Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification, and High-Resolution Karyotype for Differential Diagnosis Oculoauriculovertebral Spectrum: A Systematic Review. *Journal of Pediatric Genetics*, v. 09, n. 03, p. 149–157, Set 2020.

GLOBOCAN, Global Cancer Observatory. *Cancer Today*. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/today/home>>. Acesso em: 19 jun 2023.

GONSALVES, Wilson I. e colab. Utilization of hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of multiple myeloma: a Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus statement. *Bone Marrow Transplantation*, v. 54, n. 3, p. 353–367, 9 Mar 2019.

GREIPP, Philip R. e colab. International staging system for multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology*, v. 23, n. 15, p. 3412–3420, 2005.

Gudgeon, Jack et al. “The role of macrophage scavenger receptor 1 (MSR1) in inflammatory disorders and cancer.” *Frontiers in immunology* vol. 13 1012002. 17 Oct. 2022, doi:10.3389/fimmu.2022.1012002

HAMEED, Abdul e colab. Bone Disease in Multiple Myeloma: Pathophysiology and Management. *Cancer Growth and Metastasis*, v. 7, p. CGM.S16817, 2014.

HARI, P. N. e colab. Is the international staging system superior to the Durie-Salmon staging system? A comparison in multiple myeloma patients undergoing autologous transplant. *Leukemia*, v. 23, n. 8, p. 1528–1534, 2009.

HEIL, Caiti Smukowski. Loss of Heterozygosity and Its Importance in Evolution. *Journal Of Molecular Evolution*, [S.L.], v. 91, n. 3, p. 369-377, 8 fev. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00239-022-10088-8>.

HOCHANE, Mazene e colab. Low-dose pesticide mixture induces senescence in normal mesenchymal stem cells (MSC) and promotes tumorigenic phenotype in premalignant MSC. *Stem Cells*, v. 35, n. 3, 2017.

HOVHANNISYAN, Galina; HARUTYUNYAN, Tigran; AROUTIOUNIAN, Rouben; LIEHR, Thomas. DNA Copy Number Variations as Markers of Mutagenic Impact. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 20, n. 19, p. 4723, 24 set. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20194723>.

Ivyna Bong, Pau Ni et al. “Identification of novel pathogenic copy number aberrations in multiple myeloma: the Malaysian context.” *Molecular cytogenetics* vol. 7,1 24. 1 Apr. 2014, doi:10.1186/1755-8166-7-24

JACKSON, Graham H. e colab. Lenalidomide maintenance versus observation for patients with newly diagnosed multiple myeloma (Myeloma XI): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, v. 20, n. 1, 2019.

Jenner, Matthew W et al. “Gene mapping and expression analysis of 16q loss of heterozygosity identifies WWOX and CYLD as being important in determining clinical outcome in multiple myeloma.” *Blood* vol. 110,9 (2007): 3291-300. doi:10.1182/blood-2007-02-075069

Jia, Zongming et al. “OCLN as a novel biomarker for prognosis and immune infiltrates in kidney renal clear cell carcinoma: an integrative computational and experimental characterization.” *Frontiers in immunology* vol. 14 1224904. 22 Sep. 2023, doi:10.3389/fimmu.2023.1224904

KADAM AMARE, Pratibha e colab. Cytogenetic Abnormalities in Multiple Myeloma: Incidence, Prognostic Significance, and Geographic Heterogeneity in Indian and Western Populations. *Cytogenetic and Genome Research*, v. 162, n. 10, 2023.

KAZANDJIAN, Dickran. Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy. *Seminars in Oncology*, v. 43, n. 6, p. 676–681, 2016.

KEARNEY, Hutton M.; THORLAND, Erik C.; BROWN, Kerry K.; QUINTERO-RIVERA, Fabiola; SOUTH, Sarah T.. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genetics In Medicine*, [S.L.], v. 13, n. 7, p. 680-685, jul. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1097/gim.0b013e3182217a3a>.

KIM, Hae In e LIM, Hyesol e MOON, Aree. Sex differences in cancer: Epidemiology, genetics and therapy. *Biomolecules and Therapeutics*. [S.l.: s.n.], 2018

Koopae, Maryam et al. “Evaluation of CSTB and DMBT1 expression in saliva of gastric cancer patients and controls.” *BMC cancer* vol. 22,1 473. 30 Apr. 2022, doi:10.1186/s12885-022-09570-9

KOSMALA, Aleksander e BLEY, Thorsten e PETRITSCH, Bernhard. Imaging of Multiple Myeloma Bildgebende Diagnostik des Multiplen Myeloms. *Fortschr Rontgenstr*, v. 191, n. 9, p. 805–816, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1055/a-0864-2084>>.

KUMAR, Shaji K. e colab. Multiple myeloma. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 3, n. 1, p. 17046, 21 Dez 2017.

KYLE, Robert A. e colab. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings*, v. 78, n. 1, p. 21–33, 2003.

LANDGREN, Ola e colab. Prevalence of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance Among Men in Ghana. *Mayo Clinic Proceedings*, v. 82, n. 12, 2007.

LAWRENCE, Michael S. e colab. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature*, v. 505, n. 7484, 2014.

Lee, Chansu et al. "TNF α mediated IL-6 secretion is regulated by JAK/STAT pathway but not by MEK phosphorylation and AKT phosphorylation in U266 multiple myeloma cells." *BioMed research international* vol. 2013 (2013): 580135. doi:10.1155/2013/580135

Lee, Nuri et al. "Prognostic value of integrated cytogenetic, somatic variation, and copy number variation analyses in Korean patients with newly diagnosed multiple myeloma." *PloS one* vol. 16,2 e0246322. 5 Feb. 2021, doi:10.1371/journal.pone.0246322

Liu, Yunzhi et al. "HERC2 promotes inflammation-driven cancer stemness and immune evasion in hepatocellular carcinoma by activating STAT3 pathway." *Journal of experimental & clinical cancer research : CR* vol. 42,1 38. 1 Feb. 2023, doi:10.1186/s13046-023-02609-0

LUO, Saiqun; SU, Tao; ZHOU, Xiang; HU, Wei-Xin; HU, Jingping. Chromosome 1 instability in multiple myeloma: aberrant gene expression, pathogenesis, and potential therapeutic target. *The Faseb Journal*, [S.L.], v. 36, n. 6, p. 1-2, 17 maio 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.202200354>.

MARINAC, Catherine R. e colab. Dissecting racial disparities in multiple myeloma. *Blood Cancer Journal*. [S.l: s.n.], 2020

Martin, Alexandra L et al. "Olfactory Receptor OR2H1 Is an Effective Target for CAR T Cells in Human Epithelial Tumors." *Molecular cancer therapeutics* vol. 21,7 (2022): 1184-1194. doi:10.1158/1535-7163.MCT-21-0872

MARTÍNEZ-CLIMENT, Jose A et al. "Integrative oncogenomic analysis of microarray data in hematologic malignancies." *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* vol. 576 (2010): 231-77. doi:10.1007/978-1-59745-545-9_13

MATEOS, María Victoria e colab. Insights on Multiple Myeloma Treatment Strategies. *HemaSphere*. [S.l: s.n.], 2019

MAURA, Francesco e colab. Reconstructing the evolutionary history of multiple myeloma. *Best practice & research. Clinical haematology*, v. 33, n. 1, p. 101145, 1 Mar 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/389821/>. Acesso em: 1 out 2023.

MEDICAL MASTERCLASS CONTRIBUTORS; EDITED BY JOHN FIRTH e FIRTH, John. *Haematology: multiple myeloma*. , 16 Jan 2019, p. 58–60.

MIELCZAREK, Magda; FRĄSZCZAK, Magdalena; ZIELAK-STECIWKO, Anna E.; NOWAK, Błażej; HOFMAN, Bartłomiej; PIERŚCIŃSKA, Jagoda; KRUSZYŃSKI, Wojciech; SZYDA, Joanna. An effect of large-scale deletions and duplications on transcript expression. *Functional & Integrative Genomics*, [S.L.], v. 23, n. 1, 23 dez. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10142-022-00946-5>.

MIKHAEL, Joseph R. e colab. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: Updated mayo stratification of myeloma and risk-adapted therapy (msmart) consensus guidelines 2013. *Mayo Clinic Proceedings*, v. 88, n. 4, 2013.

Misbah, Md et al. “Identification of expression profiles and prognostic value of RFCs in colorectal cancer.” *Scientific reports* vol. 14,1 6607. 19 Mar. 2024, doi:10.1038/s41598-024-56361-2

MORAES, Elisane Silveira e colab. Análise de indivíduos com leucemia: Limitações do sistema de vigilância de câncer. *Ciencia e Saude Coletiva*, v. 22, n. 10, 2017.

MOREAU, P. e colab. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, v. 28, 2017.

MOREAU, Philippe e colab. Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without daratumumab before and after autologous stem-cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma (CASSIOPEIA): a randomised, open-label, phase 3 study. *The Lancet*, v. 394, n. 10192, 2019.

MOREAU, Philippe e colab. Isatuximab, carfilzomib, and dexamethasone in relapsed multiple myeloma (IKEMA): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *The Lancet*, v. 397, n. 10292, 2021.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. SEER*Explorer: An interactive website for SEER cancer statistics [Internet].

NEUSE, Carl Jannes; LOMAS, Oliver C.; SCHLIEMANN, Christoph; SHEN, Yu Jia; MANIER, Salomon; BUSTOROS, Mark; GHOBRIAL, Irene M.. Genome instability in multiple myeloma. *Leukemia*, [S.L.], v. 34, n. 11, p. 2887-2897, 10 jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-020-0921-y>.

Ogiya, Daisuke et al. “The JAK-STAT pathway regulates CD38 on myeloma cells in the bone marrow microenvironment: therapeutic implications.” *Blood* vol. 136,20 (2020): 2334-2345. doi:10.1182/blood.2019004332

Ozkurt, Zübeyde Nur et al. “Thrombopoietic cytokines and platelet count in multiple myeloma.” *Platelets* vol. 21,1 (2010): 33-6. doi:10.3109/09537100903360007

PADALA, Sandeep Anand e colab. Epidemiology, Staging, and Management of Multiple Myeloma. *Medical sciences (Basel, Switzerland)*, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2021.

PALUMBO, Antonio e colab. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, v. 33, n. 26, p. 2863–2869, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26240224/>>. Acesso em: 1 out 2023.

PANTOJA, LFSK e colab. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DE SOBREVIDA GLOBAL DE PACIENTES COM MIELOMA MULTIPLO ATENDIDOS EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA ONCOLÓGICO DO NORTE DO BRASIL. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, v. 43, 2021.

PAWLYN, Charlotte e DAVIES, Faith E. Review Series ADVANCES IN MULTIPLE MYELOMA Toward personalized treatment in multiple myeloma based on

molecular

characteristics. [S.l.: s.n.], 2019. Disponível em: <<http://ashpublications.org/blood/article-pdf/133/7/660/1552469/blood825331.pdf>>.

Pawlyn, Charlotte et al. “Loss of heterozygosity as a marker of homologous repair deficiency in multiple myeloma: a role for PARP inhibition?.” *Leukemia* vol. 32,7 (2018): 1561-1566. doi:10.1038/s41375-018-0017-0

PEPE, Camila e colab. Impacto econômico do mieloma múltiplo no sistema privado de saúde do Brasil. *Jornal Brasileiro de Economia da Saúde*, v. 10, n. 1, p. 9–14, Abr 2018.

PERROT, Aurore e colab. Development and validation of a cytogenetic prognostic index predicting survival in multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology*, v. 37, n. 19, 2019.

Pronin, Alexey, and Vladlen Slepak. “Ectopically expressed olfactory receptors OR51E1 and OR51E2 suppress proliferation and promote cell death in a prostate cancer cell line.” *The Journal of biological chemistry* vol. 296 (2021): 100475. doi:10.1016/j.jbc.2021.100475

PUŁA, Anna e colab. The significance of mrna in the biology of multiple myeloma and its clinical implications. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 21, 2021.

RACK, Katrina e VIDREQUIN, Sebastien e DARGENT, Jean Louis. Genomic profiling of myeloma: The best approach, a comparison of cytogenetics, FISH and array-CGH of 112 myeloma cases. *Journal of Clinical Pathology*, v. 69, n. 1, 2016.

RAJKUMAR, S. Vincent e colab. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The Lancet. Oncology*, v. 15, n. 12, p. e538–e548, 1 Nov 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25439696/>>. Acesso em: 1 out 2023.

RAJKUMAR, S. Vincent e KUMAR, Shaji. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clinic proceedings*, v. 91, n. 1, p. 101–119, 1 Jan 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26763514/>>. Acesso em: 1 out 2023.

RAJKUMAR, S. Vincent e LANDGREN, Ola e MATEOS, María Victoria. Smoldering multiple myeloma. *Blood*, v. 125, n. 20, p. 3069–3075, 14 Maio 2015. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25838344/>>. Acesso em: 28 set 2023.

RAJKUMAR, S. Vincent. Multiple myeloma: 2022 update on diagnosis, risk stratification, and management. *American Journal of Hematology*, v. 97, n. 8, p. 1086–1107, 23 Ago 2022.

RAJKUMAR, S. Vincent. Multiple myeloma: Every year a new standard? *Hematological Oncology*, v. 37, n. S1, p. 62–65, 1 Jun 2019.

RAJKUMAR, S. Vincent. Updated Diagnostic Criteria and Staging System for Multiple Myeloma. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*, v. 36, p. e418–e423, 2016.

RANIERI, Annaluisa et al. “Combined aCGH and Exome Sequencing Analysis Improves Autism Spectrum Disorders Diagnosis: A Case Report.” *Medicina (Kaunas, Lithuania)* vol. 58,4 522. 7 Apr. 2022, doi:10.3390/medicina58040522

RICARDO, PC e colab. MIELOMA MÚLTIPLO COM MANIFESTAÇÕES ATÍPICAS – RELATO DE CASO. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, v. 43, 2021.

RICHARDSON, Paul G. e colab. Bortezomib or High-Dose Dexamethasone for Relapsed Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine*, v. 352, n. 24, p. 2487–2498, 16 Jun 2005.

RIGGS, Erin Rooney; ANDERSEN, Erica F.; CHERRY, Athena M.; KANTARCI, Sibel; KEARNEY, Hutton; PATEL, Ankita; RACA, Gordana; RITTER, Deborah I.; SOUTH, Sarah T.; THORLAND, Erik C.. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the american college of medical genetics and genomics (acmg) and the clinical genome resource (clingen). *Genetics In Medicine*, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 245-257, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/s41436-019-0686-8>.

RUSSELL, Stephen J. e RAJKUMAR, S. Vincent. Multiple myeloma and the road to personalised medicine. *The Lancet Oncology*, v. 12, n. 7, p. 617–619, 2011.

SAAD, Ayman e colab. Hematopoietic Cell Transplant Comorbidity Index Is Predictive of Survival after Autologous Hematopoietic Cell Transplantation in Multiple Myeloma. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, v. 20, n. 3, p. 402- 408.e1, Mar 2014.

SAADOUNE, Chaimaa e colab. Multiple Myeloma: Bioinformatic Analysis for Identification of Key Genes and Pathways. *Bioinformatics and Biology Insights*, v. 16, 2022.

Sanvicente, Adrián et al. “In Silico Transcriptomic Expression of MSR1 in Solid Tumors Is Associated with Responses to Anti-PD1 and Anti-CTLA4 Therapies.” *International journal of molecular sciences* vol. 25,7 3987. 3 Apr. 2024, doi:10.3390/ijms25073987

Schavgoulidze, Anais et al. “Heterogeneity in long-term outcomes for patients with Revised International Staging System stage II, newly diagnosed multiple myeloma.” *Haematologica* vol. 108,5 1374-1384. 1 May. 2023, doi:10.3324/haematol.2021.280566

SHAH, Nina et al. B-cell maturation antigen (BCMA) in multiple myeloma: rationale for targeting and current therapeutic approaches. *Leukemia* vol. 34,4 (2020): 985-1005. doi:10.1038/s41375-020-0734-z

SHENG, Xinge e colab. Bioinformatics Analysis of the Key Genes and Pathways in Multiple Myeloma. *International Journal of General Medicine*, v. 15, 2022.

Silvestris, Franco et al. “Negative regulation of erythroblast maturation by Fas-L(+)/TRAIL(+) highly malignant plasma cells: a major pathogenetic mechanism of anemia in multiple myeloma.” *Blood* vol. 99,4 (2002): 1305-13. doi:10.1182/blood.v99.4.1305

SMETANA J, Frohlich J, Zaoralova R, et al. Genome-wide screening of cytogenetic abnormalities in multiple myeloma patients using array-CGH technique: a Czech multicenter experience. *Biomed Res Int*. 2014;2014:209670. doi:10.1155/2014/209670

SOUTH, Sarah T.; LEE, Charles; LAMB, Allen N.; HIGGINS, Anne W.; KEARNEY, Hutton M.. ACMG Standards and Guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. *Genetics In Medicine*, [S.L.], v. 15, n. 11, p. 901-909, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1038/gim.2013.129>.

TSANG, Matthew e colab. Multiple myeloma epidemiology and patient geographic distribution in Canada: A population study. *Cancer*, v. 125, n. 14, 2019.

VOGELSBERG, Antonio e SCHÜRCH, Christian M. e FEND, Falko. [Multiple myeloma from the pathologist's perspective]. *Der Radiologe*, v. 62, n. 1, p. 12–19, 1 Jan 2022. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34661686/>>. Acesso em: 1 out 2023.

VOORHEES, Peter M. e colab. Depth of Response to Daratumumab (DARA), Lenalidomide, Bortezomib, and Dexamethasone (RVd) Improves over Time in Patients (pts) with Transplant- Eligible Newly Diagnosed Multiple Myeloma (NDMM): Griffin Study Update. *Blood*, v. 134, n. Supplement_1, 2019.

VU, T. e colab. Characteristics of exceptional responders to lenalidomidebased therapy in multiple myeloma. *Blood Cancer Journal*, v. 5, n. 10, 2015.

Walker, Brian A et al. "A compendium of myeloma-associated chromosomal copy number abnormalities and their prognostic value." *Blood* vol. 116,15 (2010): e56-65. doi:10.1182/blood-2010-04-279596

WALKER, Brian A.; LEONE, Paola E.; CHIECCHIO, Laura; DICKENS, Nicholas J.; JENNER, Matthew W.; BOYD, Kevin D.; JOHNSON, David C.;

GONZALEZ, David;

DAGRADA, Gian Paolo; PROTHEROE, Rebecca K. M.. A compendium of myeloma- associated chromosomal copy number abnormalities and their prognostic value. *Blood*, [S.L.],

v. 116, n. 15, p. 56-65, 14 out. 2010. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2010-04-279596>

WALLINGTON-BEDDOE, Craig T. e MYNOTT, Rachel L. Prognostic and predictive biomarker developments in multiple myeloma. *Journal of hematology & oncology*, v. 14, n. 1,

1 Dez 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34556161/>>. Acesso em: 1 out 2023.

Wang, Linhui et al. “Update on kidney injury caused by multiple myeloma.” *Annals of hematology*, 10.1007/s00277-024-05860-3. 28 Jun. 2024, doi:10.1007/s00277-024-05860-3

Wang, Yanmeng et al. “Targeting mTOR signaling pathways in multiple myeloma: biology and implication for therapy.” *Cell communication and signaling : CCS* vol. 22,1 320. 11 Jun. 2024, doi:10.1186/s12964-024-01699-3

WATERHOUSE, David e colab. Cancer incidence in the rural community of Tecumseh, Michigan: A pattern of increased lymphopietic neoplasms. *Cancer*, v. 77, n. 4, p. 763–770, 1996.

Weber, Lea et al. “Activation of odorant receptor in colorectal cancer cells leads to inhibition of cell proliferation and apoptosis.” *PloS one* vol. 12,3 e0172491. 8 Mar. 2017, doi:10.1371/journal.pone.0172491

WEISS, Brendan M. e colab. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood*, v. 113, n. 22, p. 5418–5422, 28 Maio 2009. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1182/blood-2008-12-195008>>. Acesso em: 1 out 2023.

Wu, Wenwen et al. “HERC2 is an E3 ligase that targets BRCA1 for degradation.” *Cancer research* vol. 70,15 (2010): 6384-92. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-1304

ZAMAGNI, Elena e TACCHETTI, Paola e CAVO, Michele. Imaging in multiple myeloma: How? When? *Blood*. 2019.

Zang, Z., Cutcutache, I., Poon, S. et al. Sequenciamento do exoma do adenocarcinoma gástrico identifica mutações somáticas recorrentes em genes de adesão celular e remodelação da cromatina. *Nat Genet* 44, 570–574 (2012). <https://doi.org/10.1038/ng.2246>

Zhang, Chun-Xiao. “The protective role of DMBT1 in cervical squamous cell carcinoma.”

The Kaohsiung journal of medical sciences vol. 35,12 (2019): 739-749.
doi:10.1002/kjm2.12117

ZHANG, Ya e colab. Isolated coagulopathy without classic CRAB symptoms as the initial manifestation of multiple myeloma: A case report. *World Journal of Clinical Cases*, v. 10, n. 12, 2022.

ANEXO 1: COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO PROJETO AO COMITÊ DE ÉTICA

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ¿CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DE PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MULTIPLO POR HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA COMPARATIVA EM MATRIZ (aCGH-Array)¿

Pesquisador: Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes

Versão: 1

CAAE: 55696122.8.0000.5054

Instituição Proponente: Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: [010496/2022](#)

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Informamos que o projeto ¿CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DE PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MULTIPLO POR HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA COMPARATIVA EM MATRIZ (aCGH-Array)¿, que tem como pesquisador responsável Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes, foi recebido para análise ética no CEP UFC - Universidade Federal do Ceará / PROPESQ-UFC em 09/02/2022 às 16:11.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE **Município:** FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comape@ufc.br

ANEXO 2: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Nome: _____ Idade _____

Data de Nascimento ____/____/____ Sexo () M () F

Naturalidade: _____ Procedência _____

Endereço _____

Telefones: _____ Profissão _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: “CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DE PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MÚLTIPLO POR HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA COMPARATIVA EM MATRIZ”

NOME DO INVESTIGADOR PRINCIPAL: DRA CAROLINE AQUINO MOREIRA-NUNES

NATUREZA E PROPÓSITO DO ESTUDO

O objetivo da pesquisa é conhecer melhor as características da doença a qual você é portador. Nós vamos analisar a idade, sexo e outras características clínicas em portadores da sua doença, bem como informações do seu prontuário. Serão coletadas amostras do seu sangue para estudo do seu material genético e será avaliada a presença de alterações nesse material, juntamente com a sua resposta ao tratamento realizado, gerando resultados que favoreçam uma melhor compreensão do surgimento e progressão desta doença.

PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS E RESPONSABILIDADES

Nós vamos analisar a idade, sexo e outras características clínicas em portadores da sua doença, bem como informações do seu prontuário. Serão coletadas 5mL de amostra do seu sangue através de punção venosa em tubos de tampa roxa (EDTA) para estudo do seu material genético (DNA e RNA). Serão também coletados

1 mL de medula óssea que serão obtidas no momento do seu exame diagnóstico. Para a punção e/ou biópsia da crista íliaca (osso da bacia situado abaixo da cintura), o paciente fica em decúbito lateral e a área a ser puncionada é limpa com solução antisséptica e anestesiada com anestésico local. A agulha de aspiração é inserida, através da pele, na cavidade medular removendo a parte líquida da medula óssea. Após o procedimento, o paciente fica deitado de costas e monitorado durante 5-10 minutos. Nos materiais coletados, sangue e medula óssea será avaliado a presença de alterações genéticas nesse material, juntamente com a sua resposta ao tratamento realizado, gerando resultados que favoreçam uma melhor compreensão do surgimento e progressão desta doença. Os exames realizados para análise do seu material genético buscarão identificar o seu perfil genético relacionado ao processo do mieloma múltiplo.

É de sua responsabilidade: comparecer nas datas e horários informados com o propósito de verificar os procedimentos e dados do estudo, sem, no entanto, violar a condição de que tais informações são confidenciais. Você concordando em assinar o presente termo, fica autorizado por você, participante da pesquisa, o armazenamento do material em biorrepositório dentro da nossa instituição por 5 anos, onde serão realizados os estudos necessários. Após o fim do prazo do presente estudo, os pesquisadores poderão necessitar de uma extensão do mesmo. Assim, fica autorizado por você a permanência do armazenamento das amostras para futuros estudos no material genético, onde você e/ou seus descendentes poderão ter acesso às informações. Nós pesquisadores, a cada necessidade de extensão ou novas avaliações no seu material genético, submeteremos o novo estudo ao comitê de ética da nossa instituição.

Seus dados clínicos e resultados obtidos com este projeto serão publicados em revistas científicas e apresentados em congressos e reuniões científicas, sendo mantido o sigilo quanto à sua identidade. A qualquer momento você poderá ter acesso aos resultados encontrados na pesquisa.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento em que desejar. Neste caso, você deve informar imediatamente sua decisão ao pesquisador responsável ou a qualquer membro de sua equipe, sem necessidade de qualquer explicação e sem que isto venha interferir no seu atendimento nesta instituição. Independentemente de seu desejo e consentimento, sua participação no estudo poderá ser interrompida, em função da ocorrência de qualquer doença que, a critério médico, prejudique a continuação de sua participação no estudo, do não cumprimento das normas

estabelecidas, de qualquer outro motivo que, a critério do pesquisador, seja do interesse de seu próprio bem-estar ou dos demais participantes e, por fim, da suspensão do estudo como um todo. O Laboratório de Farmacogenética do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) comunicará, em tempo oportuno, sempre que houver alguma informação adicional que possa influenciar seu desejo de continuar participando no estudo e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme sua solicitação.

DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES QUANTO À PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Os registros relacionados à sua identidade serão mantidos em sigilo, a não ser que haja obrigação legal de divulgação. Você não será identificado por ocasião da publicação dos resultados obtidos. Contudo, o(s) monitor(es) do estudo, auditor(es), membros do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, ou autoridades do(s) órgão(s) regulamentar(es) envolvido(s) terão direito de ter acesso aos registros originais de dados clínicos de sua pessoa, coletados durante a pesquisa, na extensão em que for permitido pela Lei e regulamentações aplicáveis, como o propósito de verificar os procedimentos e dados do estudo, sem, no entanto, violar a condição de que tais informações são confidenciais.

RISCOS OFERECIDOS AO PARTICIPANTE

Não existem riscos físicos adicionais a você pela sua participação nesta pesquisa. Os materiais utilizados nessa pesquisa serão somente aqueles considerados excedentes dos coletados para exames laboratoriais de rotina para o diagnóstico da sua doença. Os riscos físicos e inconvenientes não serão diferentes daqueles previstos durante os procedimentos normais para a obtenção de amostras biológicas para o diagnóstico da sua doença.

Os riscos relacionados à coleta de sangue são mínimos, podendo ocorrer dor leve e formação de mancha roxa no local por pequena saída de sangue mancha arroxeadada (equimose) ao redor do local da punção, a qual desaparece em poucos dias sem cuidados maiores e sem necessidade de intervenção terapêutica.

Os prováveis riscos e efeitos adversos (efeitos danosos) de se realizar uma coleta de medula óssea incluem: sangramento e dor no local onde a agulha foi inserida, um inchaço debaixo da pele que contém sangue (hematoma),

sonolência.

Para minimizar os possíveis riscos e desconfortos, as coletas de material biológico serão conduzidas no ambulatório clínico do hospital, e somente serão coletadas no momento dos exames diagnósticos para o seu atendimento clínico. Caso haja algum tipo de intercorrência dentro desses procedimentos de coleta você será pronto atendido no ambulatório para reverter quaisquer desconfortos ou efeitos adversos.

BENEFÍCIOS OFERECIDOS AO PARTICIPANTE

A participação no estudo é voluntária, não existindo nenhuma remuneração para os participantes. Seu seguimento ambulatorial e seu tratamento será conduzido da mesma forma independente da participação nessa pesquisa. Os benefícios oferecidos por esta pesquisa incluem a determinação do perfil das Leucemias Agudas em adultos (câncer no sangue) no Ceará. Esses resultados contribuirão para o desenvolvimento de métodos diagnósticos (métodos capazes de identificar sua doença), terapias farmacológicas (tratamento com novos medicamentos) e para o entendimento dos pacientes acometidos com Mieloma Múltiplo. Suas dúvidas quanto à sua doença e a pesquisa serão respondidas a qualquer momento pela equipe responsável.

CONTATOS E PERGUNTAS

Caso surja algum imprevisto ou dúvidas, você deverá entrar em contato direto com o pesquisador responsável pelo estudo: Dra. Caroline Aquino Moreira-Nunes (85- 991980227), no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (Laboratório de Farmacogenética), localizado na Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo ou pelo telefone: 3366-8255.

ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344. (Horário: 08:00-12:00 horas). Somente assine este termo se você tiver a certeza de que recebeu todos os esclarecimentos e informações para decidir conscientemente sobre a sua participação neste estudo.

ASSINATURAS

Autorizo o acesso dos membros da equipe de pesquisadores às minhas informações de saúde, nas condições estabelecidas e descritas nos itens acima.

Não renunciei a qualquer direito legal que eu venha a ter ao participar deste estudo.

Eu, por fim, declaro que li cuidadosamente todo este documento, denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após a assinatura, tive oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo e sobre o referido estudo, recebendo explicações que responderam por completo às minhas dúvidas e reafirmando estar livre e espontaneamente decidido a participar do estudo, ficando munido de uma via do documento assinado pelo pesquisador responsável.

Assinatura do voluntário	
Nome de quem está obtendo o TCLE	Assinatura
Nome Testemunha (quando aplicável)	Assinatura

TELEFONES PARA CONTATO

Prof. Dra. Caroline Aquino Moreira-Nunes (Investi Principal)	(85) 3366.8201
---	----------------

**ANEXO 3 - QUESTIONÁRIO CLÍNICO PARA PACIENTES
PORTADORES DE MIELOMA MÚLTIPLO**

ID: _____ Data da coleta: ____ / ____ / ____

Nome: _____ Prontuario: _____

Início dos sintomas (tempo):	
Ocupação (ou ocupação anterior, se aposentado):	
Manipulação ou exposição a corantes, derivados de petróleo, agentes químicos em geral/ agrotóxicos. (sim ou não; se SIM, QUAIS?)	

SINAIS E/OU SINTOMAS	Sim	Não
Dor nos ossos		
Anemia		
Insuficiência renal		
Hipercalcemia		
Perda de peso		
Febre		

Etnia	
Branco	
Negro	
Pardo	
Indígena	
Asiático	

Observações: _____
