UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE CEILÂNDIA

CURSO DE FARMÁCIA

CINTHIA DUARTE DOS SANTOS

Determinações séricas de fósforo inorgânico e o impacto da interferência de imunoglobulinas de origem monoclonal na metodologia colorimétrica

BRASÍLIA, 2020

CINTHIA DUARTE DOS SANTOS

Determinações séricas de fósforo inorgânico e o impacto da interferência de imunoglobulinas de origem monoclonal na metodologia colorimétrica

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Antonio Ferreira

Coorientador: Me. João Bosco Ferreira da Conceição

BRASÍLIA, 2020

Duarte dos Santos, Cinthia
DC517d Determinações séricas de fósforo inorgânico e o impacto da interferência de imunoglobulinas de origem monoclonal na metodologia colorimétrica / Cinthia Duarte dos Santos; orientador Eduardo Antonio Ferreira; co-orientador João Bosco Ferreira da Conceição. -- Brasília, 2020.
65 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2020.

1. Dosagem de fósforo inorgânico. 2. Gamopatias monoclonais. 3. Ensaio colorimétrico. 4. Pseudohiperfosfatemia. I. Antonio Ferreira, Eduardo , orient. II. Bosco Ferreira da Conceição, João , co-orient. III. Título.

CINTHIA DUARTE DOS SANTOS

Determinações séricas de fósforo inorgânico e o impacto da interferência de imunoglobulinas de origem monoclonal na metodologia colorimétrica

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eduardo Antonio Ferreira
(FCE/Universidade de Brasília)

Prof. Dr. Rodrigo Haddad
(FCE/Universidade de Brasília)

Prof. Dra. Vivian da Silva Santos
(FCE/Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, 2020

Dedico este trabalho à Deus, à minha amada mãe, Luciana que com todo o seu amor, inteligência e determinação, me criou e sempre me deu forças e suporte para lutar pelos meus objetivos. Ao meu querido pai, Carlos e ao meu amado companheiro, Jorge Leite.

Agradecimentos

Agradeço à Deus por ter me abençoado e guiado durante toda minha trajetória acadêmica. Por ter me dado forças e coragem para enfrentar todas as situações de adversidade encontradas nesta jornada, principalmente durante o período de realização desta monografia.

À minha querida mãe Luciana Duarte que com todo seu amor e proteção imensuráveis, me apoiou, aconselhou, me deu forças e me incentivou em todas as fases de minha graduação. E que neste momento tão aflito de confecção e preparação da defesa de minha monografia, tem me incentivado para finalização. Serei eternamente grata por ter uma mãe tão zelosa e carinhosa. Você é meu porto seguro.

Ao meu querido pai Carlos Eduardo por todo o amor e dedicação para comigo. Sua presença na minha vida fez toda a diferença para quem eu sou e para a minha formação acadêmica. Sou imensamente grata por ter você como meu pai.

Ao meu amado companheiro e parceiro de todos os momentos, Jorge Leite, que conheci no início de minha graduação e tornou-se o amor da minha vida. Agradeço por todo o seu carinho, apoio e paciência durante todos esses anos.

Aos meus queridos avós Neusa e Genésio, por todo amor, zelo e ajuda em minha criação. Vocês são muito importantes na minha vida.

Às minhas amadas e queridas tias: Elizabeth, Patrícia, Débora e Carol.

Aos meus tios: Rodrigo, Rogério, Rodrigo.

Aos meus amados e preciosos primos e primas: Rafael, Felipe, Júlia, Eduarda, Amanda e Heloísa. Vocês ocupam um lugar muito especial em meu coração.

Ao meu orientador e prof. Eduardo Antonio Ferreira, que desde o início da escolha do tema desta monografia, me orientou e auxiliou, sempre com paciência e disposto em ajudar.

Ao meu coorientador João Bosco Ferreira, que com seu conhecimento, paciência e disposição em ajudar, auxiliou na confecção desta monografia e, orientou-me em meu estágio obrigatório.

À minha querida profa. e orientadora de iniciações científicas, Maria Lucília, por toda a paciência em ensinar e por todo conhecimento disponibilizado no Instituto de Química.

À minha querida profa. Paula Melo Martins, que me proporcionou conhecimento e aprendizagem sobre a medicina tradicional indiana, dentre muitos outros aprendizados.

À Universidade de Brasília e todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal, proporcionando ensino de qualidade e várias situações nas quais pude me desenvolver social e pessoalmente.

A todos os colegas de graduação que contribuíram de alguma forma para mais uma etapa importante de minha vida.

Sumário

1. Introdução 16
2. Justificativa 17
3. Objetivos 18
   3.1. Gerais 18
   3.2. Específicos 18
4. Metodologia 18
   4.1. Levantamento dos dados 19
   4.2. Critérios de inclusão e exclusão 20
5. Resultados 21
6. Discussão 24
   6.1. Distribuição, importância clínica e homeostase do fósforo inorgânico 24
   6.2. Distúrbios do fósforo inorgânico 26
      6.2.1. Causas de hiperfosfatemia 28
   6.3. Hiperfosfatemia associada a Doença Renal Crônica (DRC) 30
   6.4. Tratamento da hiperfosfatemia 34
      6.4.1. Aglutinantes do fosfato e uso na Doença Renal Crônica 35
   6.5. Pseudohiperfosfatemia e patologias associadas a Gamopatia Monoclonal 36
   6.6. Dosagem de fósforo sérico pelo método colorimétrico e soluções para eliminação de paraproteínas 43
7. Considerações Finais 60
8. Referências Bibliográficas 62

RESUMO

Sendo importantíssimo em variadas funções metabólicas vitais ao organismo humano, o fosfato inorgânico configura-se como um mineral necessário para composição dos ossos, oxigenação dos tecidos e composição de moléculas de alta energia como a adenosina trifosfato, o ATP. Sua homeostase é dependente da regulação hormonal do cálcio, sendo estes, mantidos principalmente por fatores regulatórios como o hormônio da paratireoide (PTH) e pelo calcitriol ou vitamina D biologicamente ativa. Uma vez que disfunções do fosfato ocorrem, é possível utilizar a técnica de dosagem de fósforo inorgânico, pelo método colorimétrico baseado na reação entre íons de fosfato e molibdato de amônio. No entanto, tem sido relatado na literatura científica que esta metodologia sofre diferentes interferências. Nesse sentido, a presente revisão de literatura narrativa, teve como objetivo, estudar as interferências causadas por paraproteínas de origem monoclonal associadas a gamopatias monoclonais (GM), visto que, tais interferências são potentes geradoras de pseudohiperfosfatemia, condição na qual, o fosfato sérico está falsamente elevado. A revisão realizada nesta monografia mostrou que paraproteínas podem interferir no método colorimétrico devido a sua interação com o molibdato presente na mistura reacional, ocasionado turbidez da solução, elevando falsamente os níveis séricos de fósforo inorgânico.

Palavras-chaves: fósforo inorgânico, gamopatias monoclonais, ensaio colorimétrico, pseudohiperfosfatemia.

ABSTRACT

Being very important in several metabolic functions vital to the human organism, inorganic phosphate is configured as a mineral necessary for bone composition, tissue oxygenation and composition of high energy molecules like as adenosine triphosphate or ATP. Its homeostasis is dependent of the hormonal regulation of calcium, which are maintained principally by regulatory factors such as parathyroid hormone (PTH) and by biologically active calcitriol or vitamin D. Once phosphate dysfunctions occur, it is possible to quantify inorganic phosphorus by the colorimetric method based on the reaction between phosphate ions and ammonium molybdate. However, it has been reported in the scientific literature that this methodology suffers different interferences. In this sense, this narrative literature review aimed to study the interferences caused by monoclonal paraproteins associated with monoclonal gammopathies (GM), since such interferences are potent generators of pseudohyperphosphatemia, a condition in which the serum phosphate is falsely elevated. The review carried out in this monograph showed that paraproteins can interfere in the colorimetric method due to their interaction with the molybdate present in the reaction mixture, causing turbidity of the solution, falsely raising serum levels of inorganic phosphorus.

Key words: inorganic phosphorus, monoclonal gammopathies, colorimetric assay, pseudohyperphosphatemia.

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Causas de hipofosfatemia 27

Quadro 2. Condições que levam ao aumento da absorção renal de fosfato 29

Quadro 3. Classificação da DRC de acordo com a TFG 33

Quadro 4. Causas de hiperfosfatemia 34

Quadro 5. Aglutinantes do fosfato e critérios de uso 36

Quadro 6. Critérios para a estratificação das GM 42

Tabela 1. Artigos selecionados para compor os Resultados. 22

Tabela 2. Valores recomendados de fósforo e de PTH, conforme estágio de DRC . 33

Tabela 3. Concentração de fosfato no soro antes e depois da precipitação com PEG 46

Tabela 4. Concentração de IgG e fosfato no soro antes e depois da precipitação com PEG 47

Tabela 5. Dados laboratoriais ao longo do tempo 50

Tabela 6. Resultados de fósforo sérico com e sem filtração. 51

Tabela 7. Investigações laboratoriais do paciente após suspeita de pseudohiperfosfatemia 53

Tabela 8. Dados laboratoriais três meses antes e no momento da admissão hospitalar 55

Tabela 9. Parâmetros laboratoriais avaliados 57

Tabela 10. Diluição em série do fósforo sérico dosado no analisador AU 680 Beckman Coulter 58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma ilustrativo da seleção dos artigos científicos.....21

Figura 2. Homeostasia do cálcio e fósforo 26

Figura 3. Estrutura geral de uma imunoglobulina.....40

Figura 4. Ilustração da reação entre fosfato e molibdênio.....44

Figura 5. Eletroforese de proteína sérica em gel de agarose no analisador Sebia Hydrasys® proteínas. Linhas 1 e 4: pacientes com IgG kappa GM; Linhas 2 e 3: pacientes sem GM; Linhas 5 e 6: amostras após tratamento com PEG; Linha 7: controle 48

Figura 6. Eletroforese de proteínas séricas mostrando a banda M e sua quantificação 54

Figura 7. Medição de fósforo sérico em amostras diretas e diluídas usando os ensaios Roche cobas e ORTHO VITROS 56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP: Adenosina trifosfato

PTH (pg/mL): paratormônio, hormônio da paratireoide

GM: Gamopatia monoclonal

TFG (mL/min/1,73m2): Taxa de Filtração Glomerular

FGF23: Fator de crescimento de fibroblastos 23

Ca^{+2} (mg/dL): cálcio

GH (mcg/L): Hormônio do crescimento

IGF (µg/L): fator de crescimento semelhante à insulina

DRC: Doença Renal Crônica

DCNT: Doença Crônica Não Transmissível

DCV: Doença Cardiovascular

DMO: Distúrbios do Metabolismo Ósseo

eTFG: Estimativa da Taxa de Filtração Glomerular

RAC: Relação Albuminúria Creatininúria

EAS: Elementos anormais de sedimento

PCDT: Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas

TRS: Terapia renal substitutiva

GMSI: Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado

MGUS: *Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance*

Ig (mg/dL): imunoglobulina

MM: Mieloma Múltiplo

LOA: Lesão dos órgãos-alvo

MA: Mieloma assintomático

MMS: Mieloma múltiplo sintomático

AL: Amiloidose Sistêmica Primária

γ: gama

α: alfa

m: um

δ: delta

ε: épsilon

k: kappa - cadeia leve capa

l: lambda - cadeia leve lambda

MML: Mieloma múltiplo latente

IMWG: International Myeloma Working Group

OMS: Organização Mundial da Saúde

MMLL: Mieloma múltiplo latente de cadeias leves

IFE: Imunofixação

ANS: Acido aminonaftolsulfônico

PEG: Polietilenoglicol

Vitros 350: Analisador de química clínica - Ortho Clinical Diagnostics

Sebia Hydrasys®: Analisador de eletroforese em gel de agarose

Amicon (Merck Millipore): filtro de ultrafiltração

ADVIA 2400: analisador de química clínica - Siemens AG

kDa: kilodantons

Vitros 5600: analisador de química clínica - Ortho Diagnóstico Clínico

Amicon Ultracel 10K (Millipore): filtro de ultrafiltração para proteínas com peso molecular de 10 K

INTEGRA® 400 Plus: Analisador de química clínica. Roche Diagnostics

AU680: Analisador de química clínica. Beckman Coulter

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

1. INTRODUÇÃO

O fósforo é um mineral de extrema relevância que participa de diferentes funções metabólicas no organismo, ocorrendo na forma de fosfato e não em sua forma livre. Os fosfatos fornecem energia para a ativação de moléculas como a glicose, aminoácido e participam da síntese de nucleotídeos e fosfolipídios, além de ajudarem no processo de mineralização dos ossos (COMPRI-NARDY; STELLA; OLIVEIRA, 2009). O fosfato inorgânico é necessário na composição da estrutura óssea uma vez que, juntamente com o cálcio, forma o composto chamado hidroxiapatita, que confere resistência estrutural aos ossos (MOTTA, 2009). Sendo assim, o doseamento de fósforo inorgânico é de suma importância visto que, existem situações metabólicas que corroboram para o seu desequilíbrio.

O distúrbio do fósforo está relacionado, por exemplo, a sua diminuição sérica, ou seja, a hipofosfatemia. Neste cenário o paciente sofre depleção nas concentrações de fosfato, podendo ser causada por: perda pela via renal, redução da absorção intestinal e por perda intracelular (BURTIS; BRUNS, 2016). A hiperfosfatemia, no entanto, representa um aumento do fosfato inorgânico circulante no sangue, e essa condição é confirmada quando os níveis de fosfato estão acima dos valores de referência, para uma pessoa adulta: 2,5 - 4,5 mg/dL ou 0,81 - 1,45 mmol/L (LOVEKAR; CHEN, 2010). As causas que levam ao quadro de hiperfosfatemia estão relacionadas a três condições principais: suplementação aguda e maciça de fosfato, aumento na reabsorção renal e problemas renais. Respectivamente, a suplementação exógena por fosfato pode sobrecarregar a função renal, reduzindo assim sua excreção. No caso de hiperfosfatemia endógena, causada por síndrome de lise tumoral, rabdomiólise e hemólise maciça, pode haver um caso grave de necrose tecidual dos rins. O aumento de fosfato pela absorção intestinal pode estar associado às seguintes condições: hipoparatireoidismo, toxicidade por vitamina D, calcinose tumoral familiar e acromegalia. Já nos casos de insuficiência renal, o fosfato sofre aumento devido a redução da taxa de filtração glomerular (TFG) (MALBERTI, 2013).

A pseudohiperfosfatemia, no entanto, é um fenômeno observado em laboratório, caracterizado pelo fosfato inorgânico falsamente elevado em amostras de pacientes, que possuem condições clínicas tais como: mieloma múltiplo, macroglobulinemia de *Waldenstrom* ou outra gamopatia monoclonal. O resultado

falsamente elevado ocorre porque o método colorimétrico, utilizado comumente para mensurar o fosfato, sofre interferência de paraproteínas associadas a tais condições clínicas (MALBERTI, 2013). O método utilizado para quantificação de fósforo inorgânico no sangue é o colorimétrico – fosfomolibdato (RESENDE; VIANA; VIDIGAL, 2009). Tem sido observado que a presença de paraproteínas nas amostras de pacientes, pode ser um fator interferente para a determinação de fósforo pelo método baseado na reação com molibdato. Nesse sentido, o presente estudo representa uma revisão de literatura, sobre as interferências por paraproteínas no método colorimétrico para mensuração de fósforo inorgânico.

2. JUSTIFICATIVA

Ainda que laboratórios de análises clínicas utilizem da tecnologia mais robusta e atual disponível no mercado, para fornecer aos seus clientes um variado portifólio de exames de diagnóstico, certos testes ainda apresentam susceptibilidade a interferências na fase analítica, gerando resultados suspeitos. Nessa perspectiva, o presente estudo demonstra interesse em reunir e contextualizar, dados disponíveis na literatura, que abordem metodologias para solucionar problemas relativos à interferentes endógenos em amostras biológicas. Esta revisão de literatura criará uma atmosfera informativa, alertando a comunidade científica de que condições clínicas como gamopatias monoclonais, podem ser identificadas também, por meio de interferências em métodos analíticos automatizados, evitando que resultados falsamente positivos sejam reportados e que diagnósticos enviesados sejam transmitidos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos gerais

Esta monografia teve por objetivo principal, elucidar sobre as determinações séricas fósforo inorgânico pelo método colorimétrico, bem como, avaliar as paraproteínas como interferentes na dosagem deste elemento.

3.2. Objetivos específicos

- Estudar sobre a terapia da hiperfosfatemia;
- Levantar dados que exemplifiquem sobre as gamopatias monoclonais e sua associação a pseudohiperfosfatemia.
- Abordar e explicar, com base na literatura científica disponível, os prováveis mecanismos envolvidos na interferência de imunoglobulinas associadas a gamopatias no método de determinação de fósforo em amostras biológicas.
- Descrever as alternativas para eliminação de proteínas monoclonais associadas as gamopatias monoclonais.

4. METODOLOGIA

São amplas as finalidades de uma revisão de literatura: pode-se verificar o quanto já se conhece do assunto a ser estudado, ou seja, o quão evoluído o assunto se encontra, assim sendo possível identificar espaços vazios no conhecimento, orientando a pesquisa com o propósito de supri-los. Além do mais, a revisão de literatura também serve para discutir teorias existentes, que expliquem certos fenômenos, ajudando assim nas análises e interpretação de dados (GIL, 2019). Para o desenvolvimento deste trabalho foi realizada uma revisão da literatura do tipo narrativa.

Constituída por amplos conteúdos científicos, as revisões narrativas são adequadas as pesquisas que visam, a descrição do estado da arte de um determinado assunto já conhecido e estudado (ROTHER, 2007). Essa metodologia foi escolhida pelo fato de permitir o levantamento de informações abrangentes, que tragam a fundamentação teórica para construção do entendimento sobre o fenômeno das

interferências na dosagem de fósforo sérico, causadas por imunoglobulinas de origem monoclonal.

4.1. Levantamento dos dados

A revisão realizada abordou sobre pseudohiperfosfatemia e as interferências que imunoglobulinas de origem monoclonal, causam no método colorimétrico utilizado para dosagem de fósforo sérico em amostras de soro humano. Também abordou sobre as opções já estudadas e existentes, para solucionar tais interferências. Os dados foram coletados desde agosto de 2019 a outubro de 2020. A busca das referências bibliográficas foi realizada por meio do Portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/MEC (CAPES), tendo acesso a seguintes bases de dados: *PubMed.gov*, *Science Direct* e *Embase*. A fim de coletar outras obras que abordassem sobre o objeto de estudo, também foi utilizado a “busca por assunto” diretamente no portal CAPES, dessa forma, a pesquisa não ficaria restrita apenas as bases de dados específicas. Adicionalmente, foram consultados livros disponíveis na plataforma Minha Biblioteca UnB, que é um recurso digitalizado que a Universidade de Brasília fornece como biblioteca virtual.

O levantamento do material científico contou com o auxílio de descritores, adicionalmente, utilizou-se os “operadores booleanos”, um recurso que auxilia na recuperação de informações que venham a ser pertinentes para a composição do arcabouço teórico. Sendo assim, criaram-se sete combinações de descritores, juntamente com os operadores *booleanos: paraprotein AND Phosphorus AND pseudohyperphosphatemia, pseudohyperphosphatemia AND colorimetric, pseudohyperphosphatemia AND phosphorus AND interference, (molybdate assay) AND phosphorus AND paraprotein, elimination AND paraprotein AND phosphate AND interference, monoclonal gammopathy AND pseudohyperphosphatemia e (monoclonal gammopathy) AND phosphorus AND paraprotein* . Ressalta-se que os descritores foram determinados em inglês, visto que grande parte das publicações científicas sobre o tema, apresentaram-se neste idioma. Houve delimitação temporal, ou seja, os artigos, teses, livros dentre outros materiais consultados, foram coletados num espaço de tempo de 10 anos, a fim de coletar informações recentes.

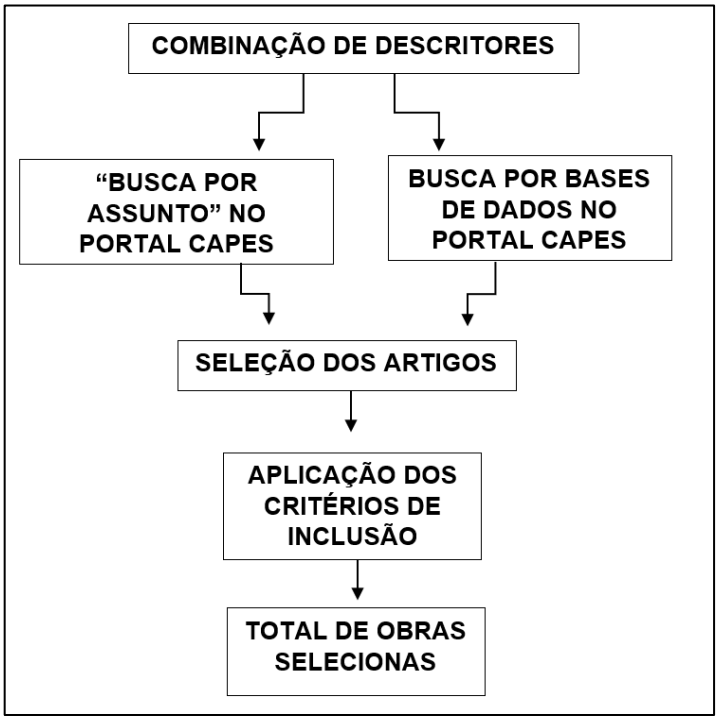
4.2. Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão foram baseados e delimitados, de forma a responder aos questionamentos associados aos objetivos desta monografia:

- Estudos que descrevessem as principais causas relacionadas a pseudohiperfosfatemia;
- Estudos que explicassem os principais mecanismos pelos quais as paraproteínas causassem interferência no método colorimétrico para dosagem fósforo sérico;
- Estudos que investigassem os tipos de imunoglobulinas associadas a interferência no método colorimétrico, bem como, as alternativas existentes para eliminação da interferência;
- Para os critérios de exclusão, os seguintes fatores foram considerados:
- Estudos que fossem em idiomas diferentes de português, inglês e espanhol;
- Publicações que não se enquadrassem dentro de um período de 11 anos;
- Estudos que não estivessem disponíveis para leitura na íntegra;
- Estudos duplicados;
- Exclusão de obras com títulos e resumos divergentes do objeto de estudo.

Após a busca do material científico verificou-se todas as obras que se encaixavam nos critérios de inclusão. As publicações elegidas foram lidas, estudadas, resumidas e posteriormente, foi realizada uma análise qualitativa dos dados obtidos. A análise qualitativa foi realizada por meio de discussão dos dados estudados. O fluxograma a seguir, foi esquematizado a fim de ilustrar como a seleção das obras foi realizada:

Figura 1. Fluxograma ilustrativo da seleção dos artigos científicos.



Fonte: Próprio autor, 2020.

5. RESULTADOS

Visto que uma revisão de literatura permite a discussão de teorias existentes, que explicam fenômenos, a presente monografia não apresentou um tópico específico para Revisão de Literatura e sim, um único tópico que levantou o arcabouço teórico necessário, para compor os dados a serem apresentados e, discutidos a diante na seção de Discussão. Dessa forma, a revisão de literatura foi realizada e será apresentada em forma de discussão.

A busca na literatura forneceu, em sua grande maioria, artigos contendo relato de caso. Foram selecionadas 14 obras, após aplicação dos critérios de inclusão e, posteriormente, realizou-se a análise dos dados. Todas as obras científicas estão elencadas na tabela 1 a seguir:

Tabela 1: Artigos selecionados para compor os Resultados

Nº	Tipo de obra	Título	Autor	Ano	Revista/Jornal
1	Artigo científico	*A 90-Year-Old Man with Hyperphosphatemia*	LOVEKAR, Shachi; CHEN, Joline L.t.	2010	*American Journal of Kidney Diseases*
2	Carta ao editor	*An unique encounter with paraprotenemia.*	PALLAVI, B. *et al.*	2019	*Journal of Laboratory Physicians*
3	Relato de caso	*Pseudohyperphosphatemia in a patient with relapsed multiple myeloma after bone marrow transplantation: A case report*	KRITMETAPAK, Kittrawee et al.	2019	*Journal Clinical Case Reports*
4	Artigo científico	*Effects of two types of medical contrast media on routine chemistry results by three automated chemistry analyzers*	PARK, Yu Jin *et al.*	2017	*Clinical Biochemistry (Official Journal of the Canadian Society of Clinical Chemists)*
5	Relato de caso	*Hyperphosphatemia in a 56-Year-Old Man with Hypochondrial Pain*	LOH, Tze Ping *et al.*	2010	*Clinical Chemistry (American Association of Clinical Chemistry)*
6	Artigo de revisão	*Hyperphosphataemia: treatment options*	MALBERTI, Fabio *et al.*	2013	*Drugs (Springer Link)*
7	Relato de caso	*IgA Monoclonal Gammopathy with Pseudohyperphosphatemia*	RANI, Priti et al.	2020	*Indian Journal of Clinical Biochemistry*
8	Relato de caso	*Unexpected test results in a patient with multiple myeloma*	JELINEK, A Gilbert *et al.*	2014	*Clinical Chemistry (American Association of Clinical Chemistry)*
9	Artigo científico	*Measurement of serum-phosphate concentration in immunoglobulin G monoclonal gammopathy after PEG-precipitation*	CHAKRABORTY, Sutirtha *et al.*	2015	*Clinica Chimica Acta (Journals Elsevier)*
10	Relato de caso	*Multiple Myeloma Presenting as Acute Renal Failure in the Absence of Other Characteristic Features*	GASTELUM, Zachary N *et al.*	2017	*Cureus Journal of Medical Science*
11	Relato de caso	*Pseudohyperphosphatemia in a patient with incidentally identified progression of smoldering myeloma*	FRANCIS, Elizabeth R. et al.	2018	*Clinica Chimica Acta (Journals Elsevier)*
12	Estudo de caso/Carta ao editor	*Pseudohyperphosphatemia in Waldenstrom's*	AMALNATH, Sd et al.	2013	*Indian Journal of Nephrology*

		Macroglobulinemia			
13	Relato de caso	*Severe hyperphosphatemia in a patient with chronic kidney disease and multiple myeloma–to strengthen the case toward renal replacement therapy?*	LATUS, Joerg *et al*.	2013	*Journal Clinical Case Reports*
14	Relato de caso/Carta ao editor	*The rapid resolution of pseudohyperphosphatemia in an IGA? multiple myeloma patient after therapy with a bortezomibcontaining regimen: Report of the first case*	PAMUK, Gulsumemel *et al*.	2015	*Journal of Cancer Research and Therapeutics*

Fonte: Próprio autor, 2020.

6. DISCUSSÃO

6.1. Distribuição, importância clínica e homeostase do fósforo inorgânico

Sendo largamente distribuído no organismo, o fosfato faz parte da composição de moléculas importantes ao nosso metabolismo. Mais da metade do fosfato total corpóreo está armazenado nos ossos (80 a 90%), cerca de 10 a 20 % do total compõe o fosfato intracelular, que forma moléculas de alta energia como a adenosina trifosfato (ATP), sendo essa molécula a responsável por manter atividades que demandam energia, tais como: contratilidade muscular, transporte ativo eletrolítico e função neurológica. Menos de 1 % do total compõe o fosfato extracelular, sendo responsável pela manutenção da concentração intracelular crítica (MOTTA, 2009). Seja no compartimento extracelular ou intracelular, os fosfatos desempenham importante papel nos metabolismos de moléculas variadas, além de comporem a estrutura óssea. De acordo Compri-nardy, Stella e Oliveira (2009), os fosfatos fornecem energia para a ativação de moléculas como a glicose e aminoácidos, e participam da síntese de nucleotídeos e fosfolipídios, além de ajudarem no processo de mineralização dos ossos. O fosfato inorgânico é essencial para a estrutura óssea, uma vez que, juntamente com o cálcio, forma o composto chamado hidroxiapatita que confere resistência estrutural aos ossos (MOTTA, 2009).

O fosfato é absorvido no trato gastrointestinal e excretado pelos rins. Parte do fosfato filtrado é excretado e parte reabsorvido, sendo que 80% é reabsorvido no túbulo contornado proximal (HILAL-DANHAN, 2015). Em suma, 60 a 80 % do fosfato da dieta é absorvido pelo intestino. O rim, quando em condições normais, irá regular de forma muito eficiente a concentração de fosfato por meio da excreção, sendo que seu valor de referência se encontra entre 2,5 - 4,5 mg/dL ou 0,81 - 1,45 mmol/L para um indivíduo adulto (LOVEKAR; CHEN, 2010). E mesmo que a ingestão de fosfato seja aumentada em até 130 mmol/dia (4.000 mg/dia), a excreção será suficiente para o balanceamento deste elemento (MALBERTI, 2013). De acordo com Loh, Saw e Sethi (2010), as variadas características do fosfato, no que diz respeito às suas funções, são essenciais ao organismo, sendo necessário que sua concentração plasmática se mantenha dentro da normalidade. A homeostase do fosfato está interligada a regulação hormonal do cálcio, e essa manutenção conta com diferentes hormônios que interagem em conjunto para este balanço. Segundo Hilal-Danhan,

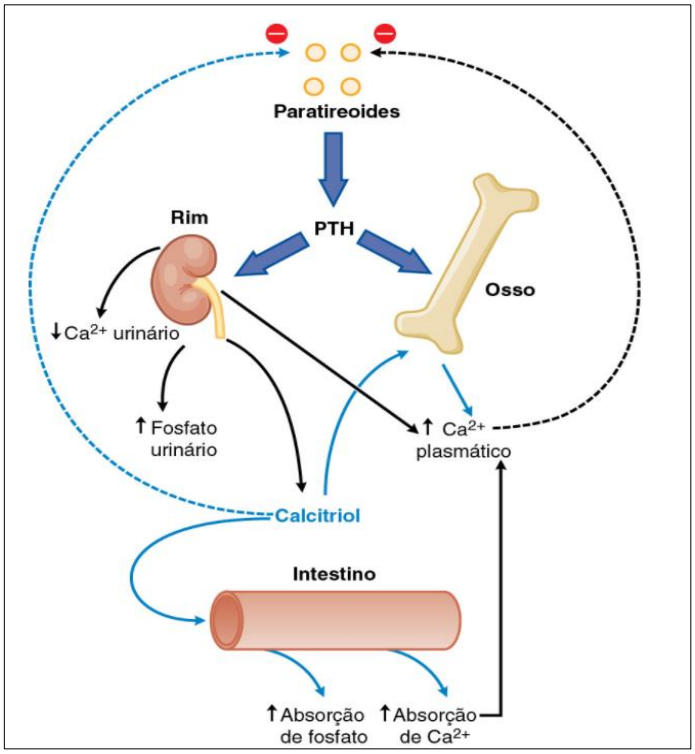
(2015), os fatores mais comumente relatados e mais necessários nesse controle são o paratormônio (PTH) e a vitamina D em sua forma ativa biologicamente (1,25-di-hidroxivitamina D_3 ou calcitriol). Estes então, irão atuar sobre os rins, intestino e osso. Outro hormônio que se destaca nesta rede de fatores regulatórios, de acordo com Martín et al. (2020), é o fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF23).

De natureza polipeptídica, o PTH é sintetizado e secretado pelas células da glândula paratireoide, e sua função primordial é manter a concentração constante de cálcio e fosfato no meio extracelular (HILAL-DANHAN, 2015). Basicamente, quando há diminuição de cálcio plasmático, as células da paratireoide que contém receptores sensíveis ao Ca^{+2}, secretam o PTH. O autor Martín et al. (2020) sintetiza a ação do PTH da seguinte forma: nos rins, o PTH promoverá aumento da fosfatúria e diminuição da eliminação de cálcio, contribuindo assim, para o aumento do cálcio plasmático. No osso, o PTH irá estimular, nos osteoclastos, a reabsorção óssea, promovendo o efluxo de cálcio e fosfato da matriz óssea, para o meio extracelular, culminando para o aumento do cálcio plasmático. A ação do PTH não para por aí, no intestino sua ação não é direta, ou seja, é dependente de um mecanismo secundário. Ainda de acordo com Martín et al. (2020), nos rins, o PTH vai estimular a enzima 1-α hidroxilase, que irá converter vitamina D em calcitriol, que no intestino, promoverá melhor absorção de cálcio e fosfato. Adicionalmente, no osso, o calcitriol também promoverá a reabsorção óssea, fazendo com que haja redistribuição do cálcio intracelular para o ambiente plasmático.

A conversão de vitamina D em calcitriol é um processo altamente regulado e complexo. Além da estimulação pelo PTH, essa conversão também é estimulada pela hipocalcemia, hipofosfatemia e calcitonina, sendo inibida pela presença da hiperfosfatemia, pelo próprio calcitriol e pelo fator de crescimento dos fibroblastos 23 FGF23 (MARTÍN et al., 2020). De acordo com (HILAL-DANHAN, 2015), a calcitonina pode ser caraterizada como um hormônio potente na inibição da reabsorção óssea, a fim de proteger o esqueleto quando ocorre uma espécie de “estresse por cálcio”, como crescimento, gravidez e lactação. Sendo assim, quando ocorre o aumento de cálcio plasmático, pela reabsorção óssea, por exemplo, a calcitonina é secretada, diminuindo a reabsorção e consequentemente, o cálcio plasmático. Entende-se então que, a presença da calcitonina configura-se como um importante estimulante para que a vitamina D seja convertida em calcitriol, por conseguinte, promoverá aumento da

absorção de cálcio no intestino, e nos ossos, estimulação da absorção óssea. O FGF23 é um hormônio de característica peptídica que é produzido pelos osteócitos e pelos osteoblastos, a partir do aumento dos níveis de fósforo e calcitriol (LU; FENG, 2011). Assim, nos rins, o FGF23 irá promover a fosfatúria e inibição da enzima 1 alfa hidroxilase, reduzindo assim, fosfato, cálcio e calcitriol (MARTÍN et al., 2020). A seguir, a figura 2 apresenta o esquema do mecanismo pelo qual ocorre a homeostasia do cálcio e regulação do fosfato:

Figura 2: Homeostasia do cálcio e fósforo.



Fonte: Adaptado de HILAL-DANHAN, 2015.

6.2. Distúrbios do fósforo inorgânico

Existem situações metabólicas que corroboram para o desequilíbrio do fosfato, que no geral, podem ser por causas agudas ou crônicas. Sendo caracterizada pela baixa concentração de fosfato no soro, abaixo dos valores de referência (< 2,5 mg/dL ou < 0,81 mmol/L,), ou baixa (2,0 – 2,5 mg/dL), ou moderada (1,0 – 2,0 mg/dL) e grave (<1,0 mg/dL), a hipofosfatemia vai estar ligada ao mecanismo da patologia associada (MARTÍN et al., 2020). Listam-se como principais mecanismos ligados a diminuição do fosfato no sangue: baixa suplementação na alimentação, perda pela via renal, alteração ou diminuição na absorção intestinal, deslocamento do fosfato extracelular

para compartimento intracelular (MAO; ONG, 2011). Os sinais da hipofosfatemia vão aparecer dependendo do grau da deficiência de fosfato. Se em concentrações plasmáticas, o fosfato estiver menor que 1,5 mg/dL ou menor que 0,48 mmol/L, sinais e sintomas podem ser notados na clínica (BURTIS; BRUNS, 2016). O autor Martín et al. (2020), explica que para que a hipofosfatemia seja clinicamente notada, deve haver a perda intracelular de fosfato, geralmente, isso é notado principalmente em pacientes hospitalizados, que passaram por cirurgias, e que possuem em seu histórico clínico, hipofosfatemia pré-existente. Por outro lado, casos em que o paciente apresenta queda aguda, mas sem redução significativa do fosfato intracelular, não apresenta sintomatologia.

A depleção nas concentrações plasmáticas de fosfato gera uma série de distúrbios em tecidos como o ósseo e hematopoiético. O fosfato é necessário para a composição da molécula de ATP e sua carência leva ao prejuízo no processo de glicólise. Outro desfecho grave pelo débito de fosfato é a redução da oxigenação tecidual, já que o fosfato faz parte da molécula 2-3 difosfoglicerato, responsável pela diminuição da afinidade da hemoglobina ao oxigênio. Outros prejuízos causados pelo baixo fosfato são: redução do débito cardíaco, fraqueza muscular e insuficiência respiratória aguda (BURTIS; BRUNS, 2016). O quadro 1 sintetiza algumas das causas que levam ao desenvolvimento da hipofosfatemia (MARTÍN et al., 2020):

Quadro 1. Causas de hipofosfatemia.

Causa	Mecanismo
Diminuição da absorção intestinal	Restrição de fósforo na alimentação, anorexia, desnutrição, déficit de vitamina D, ação de aglutinantes de fosfato ou de antiácidos, má absorção (diarreia crônica, ressecção intestinal, esteatorréia).
Perda renal	Hiperparatireoidismo primário ou secundário, doenças dos túbulos renais, déficit de vitamina D, Síndrome de Fanconi, cetoacidose diabética e respiratória, transplante renal, medicamentos (calcitonina, diuréticos, anticoncepcionais, corticosteroides).
Redistribuição do meio intracelular	Alcalose respiratória aguda.

Fonte: Adaptado de Martín e colaboradores, 2020.

A sintomatologia bem como o grau de hipofosfatemia são os fatores que vão nortear o tratamento. Se moderada, a hipofosfatemia é tratada pela suplementação oral de fosfato. Pacientes com sintomas graves e ainda com presença de fraqueza muscular respiratória, necessitam de administração parenteral de fosfato (BURTIS; BRUNS, 2016). O fosfato deve estar a nível intracelular verdadeiramente baixo para que tratamento seja iniciado da forma mais adequada, no entanto, pacientes com níveis de fosfato abaixo de 1 mg/dL necessitam de suplementação. Pacientes hospitalizados com hipofosfatemia grave, que apresentem insuficiência respiratória e convulsões, devem receber por via intramuscular, uma dose de 3 g ao dia de fosfato sódico ou potássico (MARIANO; MARTA; PATRICIA, 2012).

Outro distúrbio do fosfato é caracterizado como hiperfosfatemia, quadro no qual o paciente apresentará altas concentrações de fosfato sérico. As causas relacionadas a hiperfosfatemia estão relacionadas a suplementação, deficiência na excreção renal, sendo esta, a causa a mais frequente e ligada a doença renal crônica e aumento pela mobilização do fosfato intracelular para o meio extracelular (LOH; SAW; SETHI, 2010). Para melhor compreensão e visualização, abaixo estão elencadas as principais causas que levam ao desenvolvimento da hiperfosfatemia:

6.2.1. Causas de hiperfosfatemia

6.2.1.1 Suplementação endógeno/exógena

Como já citado, mesmo que a ingestão de fosfato seja aumentada, a excreção pela via renal, em condições normais, será suficiente para o seu balanceamento. Porém, quando o fosfato é suplementado seja por via exógena, por pacientes com problemas renais crônicos e desidratados, por exemplo, essa excreção torna-se reduzida. Sendo o principal ânion intracelular, o fosfato pode ser extravasado deste ambiente para o compartimento extracelular, isso devido a necrose tecidual atrelada a condições como: síndrome de lise tumoral, rabdomiólise, hemólise maciça e transfusão sanguínea, configurando-se assim, como suplementação exógena. Outras condições importantes que levam ao extravasamento do fosfato intracelular são: acidose lática e cetoacidose diabética. A sintomatologia clínica da hiperfosfatemia aguda pode ser identifica por: tetania, convulsões devido a hipocalcemia, nefropatia,

calcificação em tecidos moles pela complexação do cálcio ao fosfato, dentre outras manifestações (MALBERTI, 2013).

6.2.1.2 Aumento na absorção tubular

Pacientes que tenham a função renal normal podem apresentar hiperfosfatemia, devido ao aumento da reabsorção renal no túbulo proximal quando a excreção está reduzida. No entanto, pacientes com deficiência ou resistência ao paratormônio (PTH), ou do fator de crescimento FGF23, apresentarão diminuição da excreção renal e aumento na reabsorção. Essa condição acontecerá nos seguintes casos retratados no quadro 2 (MALBERTI, 2013).

Quadro 2. Condições que levam ao aumento da absorção renal de fosfato.

Condições clínicas que aumentam a absorção renal	Mecanismo
Hipoparatireoidismo	Deficiência na produção ou resistência ao PTH (pseudo-hipoparatireoidismo)
Toxicidade de Vitamina D	Permite o aumento da absorção de cálcio e fósforo nas células tubulares
Calcinose tumoral familiar	Condição rara e genética que eleva os níveis séricos de calcitriol

Fonte: Adaptado de MALBERTI, 2013.

6.2.1.3 Acromegalia

Nessa condição, haverá estímulo a reabsorção tubular direta devido a ação direta dos hormônios do crescimento (GH) e hormônio do crescimento semelhante ao fator de insulina (IGF) (MALBERTI, 2013).

6.2.1.4 Insuficiência Renal

Redução na taxa de filtração glomerular (TFG) pode acarretar a hiperfosfatemia, levando em consideração que 5 a 20% do fosfato é excretado na urina. Apesar disso, a concentração de fosfato no soro é mantida dentro da

normalidade ainda que haja insuficiência renal avançada, pois, há a diminuição da reabsorção tubular proximal influenciada pelos mecanismos regulatórios do PTH e FGF23 (MALBERTI, 2013). A hiperfosfatemia está associada a insuficiência renal, principalmente devido à doença renal aguda ou doença renal crônica (DRC), considerando a presença de uma taxa de filtração glomerular (TFG) <20 ml/min / 1,73 m^2 (MARTÍN et al., 2020).

6.3. Hiperfosfatemia associada a Doença Renal Crônica

Configurando-se como um problema de saúde pública global, uma doença crônica não transmissível (DCNT) prejudica o desenvolvimento humano. 72% das mortes registradas no Brasil no ano de 2007, estão relacionadas às DCNT, sendo elas: doenças cardiovasculares, respiratórias, diabetes, câncer e problemas renais (SCHMIDT et al., 2011). A doença cardiovascular (DCV), por exemplo, tem aumentado progressivamente, devido ao acúmulo de fatores de risco clássicos como a hipertensão e a diabetes. Somada a estes fatores, encontra-se a doença renal crônica (DRC), caracterizada pela alteração da função renal.

Na literatura, a DRC tem sido associada como um dos principais determinantes de risco de eventos cardiovasculares. Levando em consideração essa associação e que a DRC pode funcionar como fator importante no prognóstico da DCV, a morbimortalidade cardiovascular em pacientes com DRC é elevada (BRASÍLIA, 2014). Além disso, os distúrbios do metabolismo ósseo (DMO) podem aparecer com frequência na DRC. A confirmação desse distúrbio pode ser feita a partir da observação nas alterações nos níveis séricos de cálcio, fósforo, vitamina D e hormônio da paratireoide (PTH). Adicionalmente, observa-se alterações no metabolismo ósseo, como a remodelação óssea e calcificações extra esqueléticas, que contribuem com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, calcificações anormais e mortalidade (CONITEC, 2016). Nesse sentido, a avaliação da função renal torna-se de suma relevância.

Os rins são vitais em múltiplas funções, como a excreção de produtos advindos de diferentes metabolismos, produção de hormônios, controle do equilíbrio hidroeletrolítico do metabolismo acidobásico e da pressão arterial (BRASÍLIA, 2014). Nesse sentido, verificar a função excretora dos rins configura-se como prática essencial na avaliação da DRC. Na prática clínica, a função excretora renal pode ser

mensurada, principalmente, através da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2013). A estimativa da Taxa de Filtração Glomerular (eTFG) é obtida por meio de um cálculo realizado a partir da dosagem de creatinina no soro, idade, sexo e etnia do paciente e, apesar de ser apenas um cálculo de aproximação do valor real, fornece ao clínico, uma avaliação geral da função renal do paciente (SBPC, 2015). Considera-se então que para ser portador de DRC, qualquer indivíduo necessita, independente da causa, apresentar por pelo menos três meses consecutivos uma TFG < 60ml/min/1,73m² (SAÚDE et al., 2014).

A avaliação dos parâmetros bioquímicos que também se configuram como marcadores de dano renal parenquimatoso, é de suma relevância na verificação da condição fisiológica dos rins. Destacam-se como marcadores de dano renal: presença de albuminúria > 30 mg/24 horas ou Relação Albuminúria Creatininúria (RAC) > 30 mg/g; Hematúria de origem glomerular, confirmada pela presença de cilindros hemáticos ou dimorfismo eritrocitário no exame de Elementos Anormais de Sedimento (EAS). Uma avaliação mais aprofundada, verifica as alterações eletrolíticas ou qualquer outra irregularidade relacionada aos túbulos renais, que geralmente, estão associadas a patologias secundárias. Essas condições secundárias aparecem comumente em pacientes que apresentam acidose metabólica tubular e alterações constantes dos níveis séricos de eletrólitos urinários (BRASÍLIA, 2014). Alterações mais sérias como as que apresentam proteinúria ou suposição de doença glomerular, podem ser verificadas por biópsia renal. Além dessas técnicas, os raios X do abdome, bem como, ultrassonografia das vias urinárias são técnicas que também podem ser utilizadas na tentativa de detectar pacientes acometidos pela DRC (BRASÍLIA, 2014).

O manejo clínico do paciente com DRC está intimamente ligado ao estágio evolutivo da doença, determinado pelo valor da taxa de filtração glomerular (TFG). Tem sido reconhecido que a hiperfosfatemia eleva a mortalidade em pacientes com DRC na fase de pré-diálise: a relação que se estabelece é de que há aumento de 35% na mortalidade a cada miligrama na concentração de fósforo no sangue, de forma que ultrapasse os valores considerados normais (MARTÍN et al., 2020). Dessa forma, o manejo clínico do paciente que se enquadre nestas condições, torna-se diferenciado, sendo recomendado pelo Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas dos Distúrbios Mineral e Ósseo na Doença Renal Crônica (PCDT), cuidados adicionais ao paciente

com DRC distúrbios do metabolismo ósseo e mineral. O quadro 3 a seguir, aborda os estágios da DRC e seus respectivos valores de TFG:

Quadro 3. Classificação da DRC de acordo com a TFG.

Estágio	TFG (ml/min/1,73 m2)	Descrição
1	≥ 90	Lesão renal com TFG normal ou aumentada
2	60 – 89	Lesão renal com TFG levemente diminuída
3 (a e b)	45 – 59	TFG moderadamente diminuída
4	30 – 44	TFG gravemente diminuída
5	15 – 29	Falência renal
5 D	< 15 em diálise	Falência renal e terapia substitutiva

Fonte: Adaptado de CONITEC, 2016.

Neste caso, os valores do PTH, de fósforo e vitamina D devem ser considerados no tratamento, porém, apenas nos estágios evolutivos 3, 4 e 5 da DRC. Sendo assim, a meta terapêutica é manter estes parâmetros dentro da faixa da normalidade de acordo com o apresentado na tabela 2 (BRASÍLIA, 2014):

Tabela 2: Valores recomendados de fósforo e de PTH, conforme estágio de DRC.

Estágio DRC	Fósforo (mg/dL)	PTH (pg/mL)
3	3,0 - 4,6	35- 70
4	3,0 - 4,6	70 -110
5	3,5 - 5,5	150 – 300

Fonte: BRASÍLIA, 2014. (PTH - Paratormônio)

O diagnóstico da hiperfosfatemia é laboratorial, sendo que o ponto de corte utilizado para o fósforo sérico é 4,5 mg/dL; porém, nos pacientes em diálise, o nível sérico de fósforo de até 5,5 mg/dL é considerado aceitável. O cálcio sérico deve ser mantido dentro do limite da normalidade, geralmente entre 8,5 a 10 mg/dL (CONITEC, 2016).

6.4. Tratamento da hiperfosfatemia

Antes de iniciar o tratamento é necessário descobrir a causa associada a hiperfosfatemia. O quadro 4 a seguir, reúne as principais causas de hiperfosfatemia (BURTIS; BRUNS, 2016):

Quadro 4. Causas de hiperfosfatemia.

Excreção renal de fosfato diminuída	Laxantes ou enemas contendo fosfato
Diminuição da taxa de filtração glomerular	Aumento da carga extracelular de fosfato
Insuficiência renal (crônica e aguda)	Desvio transcelular
Aumento da reabsorção tubular	Acidose lática
Hipoparatireoidismo	Acidose respiratória
Pseudo-hipoparatireoidismo	Cetoacidose diabética não tratada
Acromegalia	Lise celular
Ingestão de etidronato dissódico	Rabdomiólise
Aumento da ingestão de fosfato	Hemólise intravascular
Administração oral ou intravenosa	Terapia citotóxica
Leucemia	Linfoma

Fonte: Adaptado de BURTIS; BRUNS, 2016.

Além da causa que a origina, a hiperfosfatemia deve ser classificada em aguda ou crônica, para que seja delimitado o melhor tratamento (MARTÍN et al., 2020). Para hiperfosfatemia aguda, pode-se aumentar a excreção urinária de fosfato em pacientes com função renal preservada (MARTÍN et al., 2020), pois, nestes casos, o fosfato pode ser eliminado e balanceado dentro de 6 a 12 horas (MALBERTI, 2013). Em caso de suplementação por fosfato, é necessário identificar e suspender a fonte. Nas situações graves de níveis séricos elevados, utiliza-se da hemodiálise, que por sua vez, elimina o fosfato de forma eficaz (MARTÍN et al., 2020). Caso a hiperfosfatemia culmine para a hipocalcemia, deve-se administrar gluconato de cálcio por via intravenosa (MARIANO; MARTA; PATRICIA, 2012). Hiperfosfatemia ligada a causas crônicas como a Doença Renal Crônica (DRC) na fase pré-diálise, recomenda-se a restrição

de fósforo em até 900 mg/dia e se, a hiperfosfatemia ainda persistir, deve-se utilizar em terapia combinada, os ligantes de fósforo que reduzirão os fósforos na urina de 24 horas e no sangue (MARTÍN et al., 2020).

6.4.1. Aglutinantes do fosfato e uso na Doença Renal Crônica

Pacientes com Doença Renal Crônica (DRC) podem utilizar o *carbonato de cálcio*, bem como, o *acetato de cálcio* a fim de diminuir a absorção de fosfato (HILAL-DANHAN, 2015). Estes dois medicamentos compõem a classe dos ligantes à base de cálcio, porém, existe outra classe: a dos ligantes que não são à base de cálcio, são eles: hidróxido de alumínio, carbonato de lantânio, carbonato de magnésio, cloridrato de sevelâmero e carbonato de sevelâmero. Todos são eficazes na redução do fósforo sérico, no entanto, para a escolha do medicamento algumas características devem ser consideradas como: capacidade de absorção, tolerabilidade gastrointestinal bem como, custo-eficácia (MALBERTI, 2013).

Em suma, a ação farmacológica dos ligantes de fosfato estão relacionadas a sua ligação física ao conteúdo do trato gastrointestinal (PIERCE et al., 2010). Geralmente, os aglutinantes orais do fosfato disponíveis, possuem um mecanismo de ação semelhante: ligam-se a uma resina ou então, diretamente ao trato gastrointestinal onde formam um complexo insolúvel. Ambos os mecanismos fazem com que haja para menor oferta de fosfato para absorção e dessa forma, o fosfato será excretado nas fezes (HUTCHISON et al., 2011). Os ligantes que têm uma base de cálcio ou magnésio ligam-se ao fosfato ionicamente (HUTCHISON et al., 2011). O Sevelamer é um aglutinante do fosfato não associado ao cálcio nem a metais como o alumínio. É composto por polímeros de poli (cloridrato de alilamina), ou seja, aminas diversas que quando no intestino, ficam parcialmente protonadas, interagindo com o fosfato por meio de ligações iônicas e de hidrogênio. No trato digestivo também ocorre ligação com o fosfato presente, contribuindo para queda dos níveis séricos de fosfato (HUTCHISON et al., 2009).

O Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas dos Distúrbios Mineral e Ósseo na Doença Renal Crônica (PCDT) de 2016, delimita critérios de inclusão para o uso destes medicamentos, considerando o estágio da DRC e os níveis séricos de fósforo

e cálcio. Abaixo, está disposto no quadro 5, os critérios para uso dos medicamentos citados:

Quadro 5. Aglutinantes do fosfato e critérios de uso.

Medicamento	Critério de inclusão para uso		
Carbonato de cálcio	*Estágio DRC*	Níveis de fósforo (mg/dL)	Níveis de cálcio (mg/dL)
	Não dialítica	>4,5	Dentro da faixa da normalidade: 8,5 a 10
	Dialítica	>5,5	Dentro da faixa da normalidade: 8,5 a 10
Sevelamer	*Não dialítica*	>4,5	Cálcio sérico corrigido para albumina acima do normal
	Dialítica	>5,5 em programa regular de (TRS)	Cálcio sérico corrigido para albumina acima do normal ou PTH abaixo de 150 pg/mL

Fonte: Adaptado de CONITEC, 2016. (DRC - Doença Renal Crônica; TRS - Terapia renal substitutiva; PTH - Paratormônio).

Em suma, o tratamento tem como meta terapêutica alcançar a diminuição da absorção do fosfato intestinal por uma dieta pobre em fosfato e uso, se necessário, de aglutinantes de fosfato.

6.5. Pseudohiperfosfatemia e patologias associadas as Gamopatias Monoclonais

Diferentemente dos distúrbios relacionados ao fosfato, discutidos anteriormente, há outra causa de hiperfosfatemia que tem sido descrita na literatura científica. No entanto, tal causa reflete o aumento falso do fosfato no soro. Considera-se como pseudohiperfosfatemia, a condição na qual o fosfato encontra-se em uma falsa concentração elevada, ou seja, na realidade, os níveis séricos de fosfato não estão verdadeiramente elevados (MALBERTI, 2013). A ocorrência de pseudohiperfosfatemia tem sido relatada em pacientes, cuja amostras de soro, possuíam paraproteínas associadas a patologias como: mieloma múltiplo,

Macroglobulinemia de Waldenström e gamopatia monoclonal (KRITMETAPAK et al., 2019).

De acordo com Drexler et al. (2000, apud RANI et al., 2020) as denominadas Gamopatias Monoclonais (GM) constituem uma classe de doenças de origem hematológica, podendo variar do estado benigno como a Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado (GMSI), em inglês *Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS*), para produção de células malignas e distúrbios linfoides, como o que ocorre nos casos de mieloma múltiplo e *Macroglobulinemia de Waldenström.* A principal característica das GM é a multiplicação de um único clone de plasmócitos, que secretam imunoglobulinas (Ig) ou fragmentos de Ig monoclonal, as chamadas proteína M ou paraproteína (HUNGRIA et al., 2013). Dessa forma, as gamopatias monoclonais também podem ser denominadas de paraproteinemias e disproteinemias (CONITEC, 2016).

Consideradas como doenças graves, as Gamopatias de Significado Indeterminado (GMSI) são as que possuem maior prevalência (61%) (CONITEC, 2016). Ocorrem em 3%-5% das pessoas acima de 70 anos e 1%-3% das pessoas acima de 50 anos. Ao ano, há o risco de 1% de progressão de GMSI para mieloma múltiplo sintomático, amiloidose, macroglobulinemia de Waldenström (BRASÍLIA, 2014). Já o Mieloma Múltiplo (MM) ocorre em 18 % dos casos de GM (CONITEC, 2016). Levando em consideração que aproximadamente 80% do mieloma múltiplo é originado de GMSI de imunoglobulina não IgM (GMSI não de IgM) e 20% de imunoglobulina de cadeia leve, pode-se inferir que a GMSI, quase sempre, é precursora de mieloma múltiplo (RAJKUMAR et al., 2014). O Mieloma Múltiplo pode ser derivado de uma GMSI. Sendo caracterizado por proliferação clonal de plasmócitos malignos dentro da medula óssea, geralmente, detectado por aparecimento de paraproteína sérica e/ou urinária além de, presença de acometimento ou lesão dos órgãos-alvo (LOA). Configura-se como uma patologia de causas associadas a diferentes agentes infecciosos, como vírus, no entanto, o mecanismo da patogênese não está totalmente elucidado. MM é um câncer raro, sendo 1 % representante de todos os tipos de câncer, porém, dentro do âmbito de neoplasias hematológicas, é o mais frequente (13%). Acomete pessoas de aproximadamente 70 anos (HUNGRIA et al., 2013).

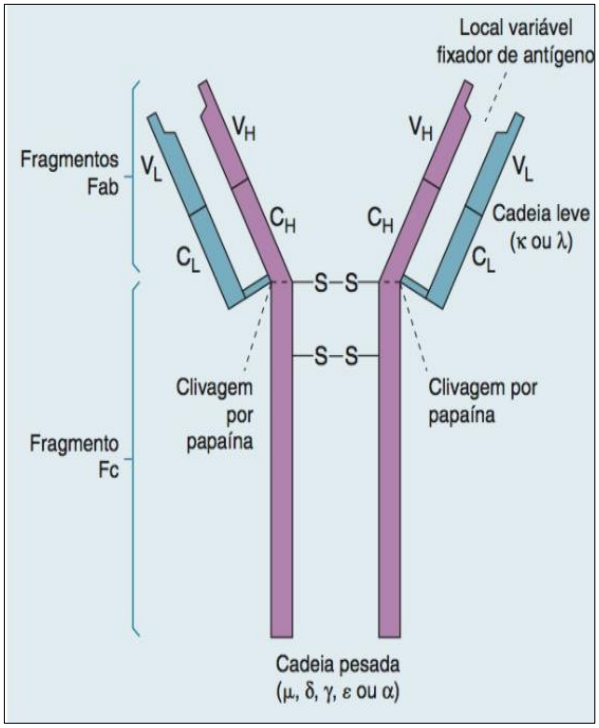
A condição de mieloma assintomático (MA) gera o risco de progressão para mieloma múltiplo sintomático (MMS) ou amiloidose (AL) cerca de 10% ao ano durante os primeiros 5 anos, 3% ao ano nos próximos 5 anos e, depois, de 1% a 2% ao ano, resultando numa probabilidade cumulativa de progressão de 73% aos 15 anos. Para que haja a progressão, são determinados alguns fatores de risco essenciais: proteína-M sérica maior que 3 g/dL; plasmocitose clonal na medula óssea acima de 10% ou taxa de cadeias leves livres anormal (até 0,125 ou maior ou igual a 8). A probabilidade de progressão em 5 anos é de 25%, 51% e 76%, respectivamente, se um, dois ou três fatores de risco estiverem presentes ao diagnóstico. O paciente irá apresentar mieloma múltiplo sintomático, quando for detectado os seguintes parâmetros: detecção de proteína monoclonal no soro ou na urina, acometimento de ossos ou partes moles por infiltração plasmocitária medular e lesão de órgão alvo (LOA) (BRASÍLIA, 2014).

Os linfócitos T e B, células do sistema imune adaptativo, são originados das células progenitoras do tipo linfoide, a partir das células tronco pluripotentes da medula óssea. Após serem maturados na medula óssea, os linfócitos B entram na circulação sanguínea e se estabelecem nos órgãos linfoides secundários (JðNIOR et al., 2010). Fisiologicamente, a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos, proliferação, bem como a secreção das imunoglobulinas, ocorre mediante a exposição do anticorpo a antígenos (LONGO, 2015). As imunoglobulinas são produzidas pelos plasmócitos e são responsáveis, por reagir a determinados antígenos em resposta à defesa do sistema imune. São proteínas que funcionam como anticorpos e em sua estrutura, possuem sítios de ligação altamente específicos para uma variedade de antígenos (BURTIS; BRUNS, 2016).

As imunoglobulinas (Ig) são glicoproteínas e todas possuem uma estrutura básica: são formadas por duas cadeias pesadas e duas cadeias leves idênticas. São divididas nas seguintes classes: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE, sendo que a mais predominante das Ig, é a IgG (70 a 75 %) (BURTIS; BRUNS, 2016). Constituem-se como cadeias pesadas as chamadas: gama (γ) na IgG, alfa (α) na IgA, mu (m) na IgM, delta (δ) na IgD e épsilon (ε) na IgE, e como cadeias leves – capa (kappa = κ) ou lambda. Tanto as cadeias leves quanto as pesadas, possuem regiões variáveis, o que vai determinar a especificidade da imunoglobulina, e regiões constantes, ou seja, a

região onde haverá correspondência para todos os anticorpos (IgA, IgG, etc.) (FAILACE, 2018).

Figura 3: Estrutura geral de uma imunoglobulina.



Fonte: Adaptado de FAILACE, 2018.

Em estado patológico, os plasmócitos, que se encontram em crescente expansão, passam a secretar imunoglobulinas anômalas, as chamadas paraproteínas, devido a gamopatias monoclonais. As paraproteínas podem ser do tipo Ig intactas, polímeros de Ig, cadeias leves livres ou cadeias pesadas de Ig ou fragmentos de Ig (BURTIS; BRUNS, 2016). Os plasmócitos associados as GM podem ser encontrados na medula óssea, circulação periférica ou nos tecidos moles e, destaca-se como achado em comum no diagnóstico das GM, a presença de paraproteína monoclonal na urina ou no sangue (RANI et al., 2020). Nesse sentido, torna-se crucial, pesquisar, quantificar e caracterizar o componente monoclonal de estudo, para diagnosticar o tipo de gamopatia, além disso, outros exames são necessários para o êxito diagnóstico: verificar o quanto a medula óssea já foi preenchida pelo infiltrado plasmocitário e identificar possível dano orgânico relacionado, ou seja, se há indícios de hipercalcemia, anemia, insuficiência renal e lesões ósseas (FARIA; SILVA, 2007). As imunoglobulinas também podem ser de origem policlonal, ou seja, secretadas por mais de um clone de plasmócitos. Nesse sentido, Hungria et al. (2013) ressaltam que é de suma importância diferenciar se o aumento das imunoglobulinas é policlonal ou monoclonal, sendo que, no primeiro

caso, está relacionado a casos de resposta inflamatória, já no segundo caso, está relacionado a condições potencialmente ou malignas.

A sintomatologia das gamopatias, no geral, faz com que o paciente possa apresentar: fraqueza, dor óssea, fraturas patológicas, hipercalcemia, perda de peso, insuficiência renal e infecções recorrentes. E, apesar do quadro sintomático ser muito semelhante e comum entre as GM, há a necessidade de diferenciá-las já que, existem categorias como Gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI), Mieloma Múltiplo Assintomático e Mieloma Múltiplo Latente (MML), que por apresentarem perfil clínico um pouco diferente, necessitam de exames e diagnósticos mais específicos (CONITEC, 2016). Baseado nas recomendações do *International Myeloma Working Group (IMWG)* e da Organização Mundial da Saúde, a seguir, no quadro 6, estão definidos os critérios diagnósticos para neoplasias de células plasmáticas de acordo com o disposto nos Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas em Oncologia para o diagnóstico de.

Inteirasse que para diagnóstico de Mieloma Múltiplo Assintomático (MMA), deve ocorrer proteína monoclonal sérica > 3,0 g/dL, presença de plasmócitos monoclonais na MO >10% e/ou plasmocitoma e ausência de dano orgânico relacionado ao MM. No caso de Mieloma Múltiplo Sintomático (MMS), se a proteína monoclonal não for detectada, a plasmocitose medular precisa ser > 30% ou plasmocitoma deve ser documentado por biópsia. Ainda no caso de MMA, se a lesão óssea decorre de plasmocitoma solitário ou somente osteoporose, sem fratura, a plasmocitose medular precisa ser > 30% (HUNGRIA et al., 2013). No quadro 6, está sintetizado os critérios de estratificação das gamopatias monoclonais.

As técnicas para detectar, quantificar e caracterizar as imunoglobulinas constituem-se como importante estratégia para a triagem, diagnóstico e monitoramento das gamopatias (RANI et al., 2020). A fim de detectar a presença de paraproteína no soro ou na urina, faz-se necessário a utilização de uma técnica sensível e específica, com a finalidade de auxiliar na identificação do tipo de cadeia pesada e leve presente (HUNGRIA et al., 2013). A eletroforese em gel de agarose pode ser utilizada para detecção e triagem a fim de verificar a presença de paraproteínas (CONITEC, 2016). De acordo com Rani et al. (2020), geralmente, utiliza-se da técnica de eletroforese de imunofixação (IFE) para realizar a caracterização das proteínas M. E as metodologias da turbidimetria e ou nefelometria,

com frequência, são solicitadas para a quantificação de imunoglobulinas. Segundo Hungria et al. (2013), a eletroforese por zona de capilar, configura-se como a mais utilizada para detecção de proteína M, sendo superior quando comparada a técnica de gel em agarose, pelo motivo de além de identificar a banda monoclonal, permitir a quantificação da paraproteína.

Quadro 6. Critérios para a estratificação das GM

Tipo de GM	Critérios Diagnóstico
Mieloma múltiplo sintomático (MMS)	Proteína monoclonal no soro ou urina; Infiltração medular por plasmócitos clonais ou plasmocitoma ósseo ou de partes moles; Lesão de órgão alvo (LOA): hipercalcemia (cálcio total acima de 11,5 mg/dL), insuficiência renal (creatinina acima de 2 mg/dL), anemia (hemoglobina abaixo de 10 g/dL ou 2 g/dL abaixo do limite inferior normal), doença óssea (lesões líticas, osteopenia grave ou fraturas), amiloidose, hiper viscosidade e infecções de repetição (dois ou mais episódios/ano)
Mieloma múltiplo latente (MML)	Proteína monoclonal no soro com dosagem igual ou superior a 3 g/dL ou infiltração medular por plasmócitos igual ou superior a 10%; Ausência de lesão de órgão alvo;
Mieloma múltiplo latente de cadeias leves (MMLL)	Proteína monoclonal na urina de 24 h igual ou superior a 500 mg/dL ou infiltração medular por plasmócitos igual ou superior a 10%; Ausência de cadeias pesadas na imunofixação; Ausência de lesão de órgão alvo
Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado (GMSI)	Proteína monoclonal sérica abaixo de 3 g/dL; Plasmocitose clonal na medula óssea < 10% e mínima infiltração medular à biópsia; Ausência de doença linfoproliferativa de células B; Ausência de lesão de órgão alvo, como definido anteriormente, ou sinais e sintomas relacionados a doenças por plasmócitos ou linfócitos

Fonte: Adaptado de BRASÍLIA, 2014. (GM – Gamopatia Monoclonal).

Os tipos de paraproteínas se apresentarão de formas distintas para cada tipo de gamopatia. Para o Mieloma Múltiplo, a paraproteína do tipo IgG vai estar > 3 g/dL e do tipo IgA acima de 2,5 g/dL. No caso de Mieloma Múltiplo Latente, os tipos de proteína-M são IgG ou IgA, no entanto, se a paraproteína for do subtipo IgM, nomeia-se a condição de macroglobulinemia de *Waldentrom* latente e, na grande maioria dos casos de GMSI, as paraproteínas são (70%) do tipo IgG, 15 % IgM, 12% IgA e 3% biclonal (CONITEC, 2016).

No contexto desta revisão de literatura, que aborda sobre a presença de paraproteínas associadas a gamopatias, os autores Lovekar e Chen (2010) relatam que embora, estudos passados relatem pseudohiperfosfatemia em pacientes com paraproteinemia do tipo IgG, a associação ao tipo IgA também tem sido observada. Ainda, a partir da literatura analisada, é possível conhecer que a forma mais comumente relatada de paraproteína é a IgG (52%), logo após, tem-se a IgA (21%), paraproteína de cadeia leve (16%), IgD (2%), biclonal (2%) E IgM (1%) (RANI et al., 2020).

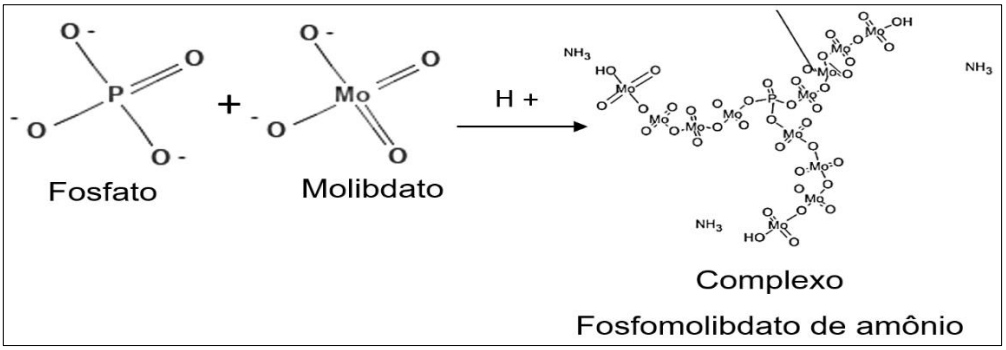
6.6. Dosagem de fósforo inorgânico pelo método colorimétrico e soluções para eliminação das paraproteínas

Os resultados e laudos emitidos por laboratórios clínicos, devem, indubitavelmente, apresentar precisão e exatidão. É de conhecimento que, a ocorrência de erros nas fases pré e pós-analíticas, nas análises clínicas é iminente ao processamento das amostras e emissão dos laudos, no entanto, tais erros podem ser evitados ou minimizados, por meio da atenção e experiência dos profissionais na área. Apesar disso, certas interferências que ocorrem na fase analítica, mais precisamente a fase na qual os exames são executados, são mais difíceis de se prever, sendo necessário, as reconhecer antecipadamente (PARK et al., 2017).

O método utilizado para quantificação de fósforo inorgânico no sangue é o colorimétrico – fosfomolibdato (RESENDE; VIANA; VIDIGAL, 2009). Baseado na ação de íons de fosfato com o molibdato de amônio, a medição de fosfato inorgânico por essa metodologia é a mais comumente utilizada (LOH et al., 2010). É importante frisar que todos os métodos utilizados para quantificação de fosfato inorgânico estão baseados nesse tipo de reação e são mensurados espectrofotometricamente (BURTIS; BRUNS, 2016). Na reação, ocorre que os íons de fosfato reagem com o molibdato de amônio na presença de ácido sulfúrico para formar um complexo

chamado fosfomolibdato de amônio. A absorbância deste complexo na região UV é medida num comprimento de onda de 340 nm (KRITMETAPAK et al., 2019).

Figura 4: Ilustração da reação entre fosfato e molibdênio



Fonte: Adaptado de NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2020.

O doseamento de fosfato sérico pelo método direto de molibdato de amônio, tem sido descrito como o que mais sofre interferências por paraproteínas, quando comparado com o método de molibdato modificado (LOVEKAR; CHEN, 2010). No método modificado, o complexo de fosfomolibdato de amônio pode ser reduzido e para isso, é possível utilizar diversos agentes redutores como: hidroquinona, ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfônico (ANS), p-semidina (N-fenil-fenil-hidrazina), sulfato amônio-ferroso, cloreto de estanho e metol (metil-p-aminofe-nol sulfato) (MOTTA, 2009). O analisador de química clínica Vitros® da empresa *Ortho Clinical Diagnostics*, realiza a dosagem de fósforo inorgânico pela reação entre o fosfato e o reagente de molibdato de amônio, no entanto, o complexo formado é reduzido a azul de molibdênio. De acordo com Chakraborty et al. (2015), o equipamento possui a tecnologia de micro slides, onde a reação para ocorre em distintas microcamadas, sendo que a primeira, é destinada a ultrafiltração de proteínas, assim, impedindo que as paraproteínas interfiram no analito a ser mensurado.

Provavelmente, há dois mecanismos envolvidos na pseudohiperfosfatemia associada a gamopatias, o primeiro, seria a ligação das paraproteínas ao molibdato, ocasionando turbidez da mistura de reação. Esse mecanismo acarretaria a absorção de luz reduzindo sua transmitância, elevando falsamente a concentração de fosfato. (LOVEKAR; CHEN, 2010). A explicação da interferência nos casos de metodologias como nefelometria, turbidimetria ou ensaios colorimétricos, estaria baseada na turbidez da amostra, gerada pela precipitação de proteínas junto aos reagentes no momento da execução do teste (PALLAVI et al., 2019). Para que haja a interação

entre os íons de fosfato e o molibdato de amônio, o ambiente precisa estar ácido para que ocorra a reação química. Por isso, os autores Jelinek e Bachmann (2014), relatam que seria justamente o baixo pH do meio reacional, que ocasionaria a precipitação das paraproteínas, gerando assim, o aumento da turbidez da solução e consequentemente, dispersão da luz. Um segundo mecanismo seria a ligação direta de imunoglobulinas ao fósforo (LOVEKAR; CHEN, 2010). A possível explicação da interferência nos imunoensaios, seria que as paraproteínas interagiriam com os anticorpos presentes no reagente, elevando assim o analito mensurado (PALLAVI et al., 2019). Nesse contexto, entende-se que em analisadores de "química úmida", a falsa alta absorbância está relacionada a reação que ocorre entre as paraproteínas com o molibdato de amônio, que irão turvar a solução, aumentando falsamente o fosfato (CHAKRABORTY et al., 2015).

Lovekar e Chen (2010) citam formas de remoção das paraproteínas a fim de se eliminar a interferência ocasionada no método de dosagem de fósforo inorgânico pela reação com molibdato de amônio. O procedimento de desproteinização pode ser alcançado com precipitação utilizando ácido ou filtração. A diluição é um método que também tem sido empregado para redução de paraproteínas no soro. Pamuk et al. (2015) recomenda a utilização de 200 microlitros de ácido sulfossalicílico e 2 mL de soro para desproteinização e remoção de proteínas. Em seu relato de caso, o autor Amalnath et al. (2013), revela falha na tentativa de desproteinização do soro de um paciente diagnosticado com macroglobulinemia de Wandestron, com um nível muito alto de IgM sérica: 39,7 g/L, valor de referência <5 g/L. No entanto, sugere a técnica de precipitação para remoção de paraproteína. De acordo com BERTH et al. (2004, apud CHAKRABORTY et al., 2015, p. 212), na rotina, a técnica de desproteinização do soro não é comumente utilizada e as interferências causadas por proteínas continuariam mesmo após a remoção.

Um interessante estudo foi conduzido por Chakraborty et al. (2015), a fim de verificar a eficiência na eliminação de paraproteína do tipo IgG, por meio de precipitação com PEG (polietilenoglicol) 6000. Além disso, também se testou a diluição da amostra após precipitação e, dosagem da amostra após ultrafiltração de proteínas. O procedimento foi realizado em duas etapas distintas. Na primeira etapa, utilizou-se 20 amostras de pacientes sem suspeitas de gamopatia monoclonal. O fosfato sérico presente em amostra de soro tratado com PEG e não tratado, foi

mensurado em um analisador de química úmida, pelo método de fosfomolibdato de amônio. IgG foi quantificada por imunoturbidimetria. Na segunda etapa, 12 amostras de pacientes com pseudohiperfosfatemia e presença de IgG-kappa no soro foram coletadas. No entanto, as amostras foram divididas em duas partes: a primeira, consistiu em 250 microlitros de soro que foram tratados com uma solução de PEG a 25%, posteriormente centrifugada a 3000 x g durante 15 minutos. O sobrenadante obtido dessa centrifugação, foi diluído a fim de corrigir qualquer presença de paraproteína que pudesse ter ficado. A segunda parte não sofreu qualquer pré-tratamento. Após, as amostras tratada e não tratada, foram dosadas no equipamento Vitros 350 (Ortho Clinical Diagnostics, Rochester, EUA), pelo método de fosfomolibdato de amônio, onde o complexo, por sua vez, foi reduzido em azul de molibdênio. A eletroforese de proteínas foi realizada em uma amostra de paciente com GM antes e depois do tratamento com PEG e após, comparada a uma amostra de paciente sem gamopatia. Na tabela 3 é possível visualizar o antes e depois dos resultados de fósforo obtidos com PEG para amostras com pseudohiperfosfatemia:

Tabela 3: Concentração de fosfato no soro antes e depois da precipitação com PEG.

Número	IgG (g/L)	Fosfato (mmol/L)		mmol/L
		Normal	PEG	Vitros
1	103.9	3.2	2.1	2.2
2	48.4	4.6	1.1	1.1
3	115	7.3	1.2	1.3
4	56.8	4.9	1.0	1.0
5	76.6	3.2	0.9	1.0
6	144.4	6.6	1.2	1.2
7	93.7	5.7	0.6	0.6
8	83	3.8	1.4	1.4
9	61.3	3.6	1.1	1.0
10	94	6.1	1.7	1.6
11	87.5	4.5	2.3	2.2
12	132.7	5.8	1.0	0.9
Média	91.44	4.93	1.29	1.30
Mediana	90.60	4.75	1.11	1.16

Fonte: Adaptado de Chakraborty et al., 2015. (IgG – imunoglobulina G; PEG – polietilenoglicol).

Na tabela 4, visualizam-se as concentrações de IgG e de fosfato em amostras sem suspeita de GM, antes e depois do tratamento com PEG, dosadas no analisador de química úmida:

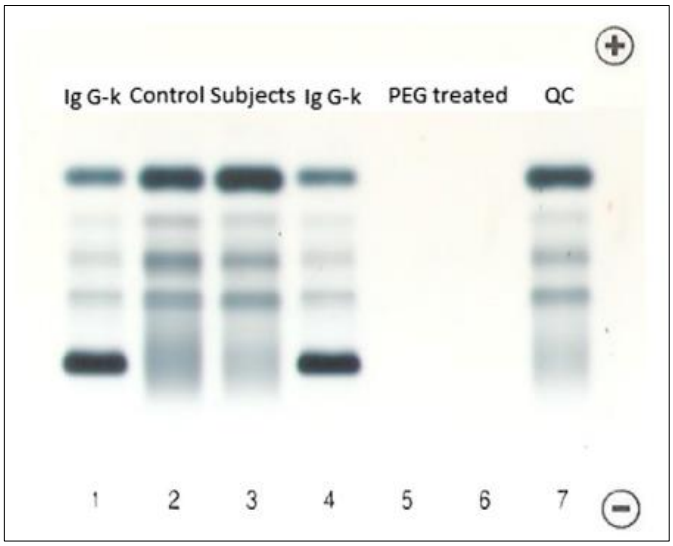
Tabela 4. Concentração de IgG e fosfato no soro antes e depois da precipitação com PEG

	IgG (g/L)		Fosfato (mmol/L)	
Número	**Normal**	**Depois de tratada com PEG**	**Normal**	**Depois do tratamento com PEG**
1	19.7	< 0.4	2.8	2.9
2	18.8	< 0.4	1	1.1
3	16.8	< 0.4	1.9	2
4	13.3	< 0.4	1	1.1
5	11.2	< 0.4	1.5	1.6
6	9.1	< 0.4	1.2	1.3
7	24	< 0.4	2.1	2.1
8	23	< 0.4	4.1	4.1
9	17.8	< 0.4	0.7	0.7
10	16	< 0.4	1.4	1.4
11	14.7	< 0.4	1.7	1.7
12	14.6	< 0.4	1.3	1.3
13	12.8	< 0.4	1.3	1.3
14	10.7	< 0.4	1.5	1.5
15	9.5	< 0.4	1.1	1.1
16	7.8	< 0.4	1.2	1.2
17	15.3	< 0.4	1.4	1.3
18	12.4	< 0.4	1.4	1.3
19	13	< 0.4	1.3	1.2
20	8.2	< 0.4	1.3	1.2
Média			1.56	1.57
Mediana			1.35	1.3

Fonte: Adaptado de Chakraborty et al., 2015. (PEG – polietilenoglicol).

A eletroforese mostrou a eliminação completa de proteínas após tratamento com PEG:

Figura 5: Eletroforese de proteína sérica em gel de agarose no analisador Sebia Hydrasys® proteínas. Linhas 1 e 4: pacientes com IgG κ GM; Linhas 2 e 3: pacientes sem GM; Linhas 5 e 6: amostras após tratamento com PEG; Linha 7: controle.



Fonte: Chakraborty et al., 2015. (GM – Gamopatia Monoclonal; PEG – Polietilenoglicol).

Diante do exposto no estudo acima, é possível entender que técnica de ultrafiltração, como a disponível no equipamento de "química seca" Vitros 350, permite a filtração de proteínas como a imunoglobulina IgG, sendo que o filtrado fica livre de interferência pelo fato de as proteínas ficarem retidas no filtro. Os resultados de fósforo sérico então, são estimados de forma precisa e exata. No entanto, essa opção configura-se como mais custosa para aquisição. O polietilenoglicol (PEG) consiste em um polímero composto por óxido de etileno que precipita proteínas (CHAKRABORTY et al., 2015). As imunoglobulinas no soro terão sua solubilidade afetada na presença de PEG, que atuará como uma esponja inerte, absorvendo a água de hidratação presente nas proteínas, o que culminará em sua precipitação. O PEG no soro, possui especificidade de precipitação com imunoglobulinas e seus complexos (FAHIE-WILSON et al., 2013). O uso de PEG 6000 apresenta-se como solução efetiva, acessível e rentável para eliminação de paraproteínas, além não influenciar como interferente na reação do fosfato (CHAKRABORTY et al., 2015).

Em outros dois relatos de caso, de diferentes autores, foram discutidos o uso de filtração como forma efetiva na remoção de paraproteínas. Em ambos os casos, o filtro *Amicon (Merck Millipore),* foi utilizado como material para a filtração.

Na obra dos autores Lovekar e Chen (2010), *A 90-Year-Old Man With Hyperphosphatemia*, é relatado um caso de pseudohiperfosfatemia associada a

gamopatia monoclonal. O relato é de um de paciente idoso, 90 anos, sexo masculino, que em dezembro de 2008, precisou ser avaliado devido a intervalo nefrótico de proteinúria, caracterizando um possível início de doença renal crônica. Em suma, o paciente, ao ser avaliado, realizou uma série de exames adicionais, que estão dispostos na tabela 4. No entanto, um parâmetro específico, chamou atenção: notou-se o aumento nível de fósforo de 5,0 mg/dL (1,61 mmol/L). Em seu histórico clínico, além de outras condições descritas, constava o diagnóstico de gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI), em 2006, devido a uma investigação de dores nas costas e anemia. Após realizada biópsia da medula óssea, observou-se presença de 10% -15% de infiltrado de células plasmáticas, porém, durante os 3 anos seguintes, o paciente encontrava-se clinicamente estável sem evidência de progressão para mieloma múltiplo.

Em estudos laboratoriais realizados após 7 meses, notou-se melhora espontânea na proteinúria detectada anteriormente em dezembro de 2008. Porém, a concentração de fósforo sérico aumentou para 9,9 mg/dL (3,20 mmol/L) e o paciente seguia sem sintomas ou sinais de hiperfosfatemia. Assim, conduziu-se uma pesquisa das causas que poderiam estar associadas a uma possível hiperfosfatemia. Incluíram-se exames para rabdomiólise, hipoparatireoidismo e hemólise. Essas possíveis causas foram descartadas, já que o paciente não apresentou sintomas ou evidências clínicas dessas doenças. O paciente então, foi instruído a diminuir ingestão de proteínas. Após, o nível de fósforo sérico repetido foi de 9,1 mg/dL (2,94 mmol/L), ainda elevado. Os resultados dos testes realizados no paciente estão dispostos na tabela 5 a seguir:

Tabela 5. Dados laboratoriais ao longo do tempo.

Parâmetro	29/5/08	10/12/08	11/02/08	08/07/09	Valor de referência
Análises no soro					
Hemoglobina (g/dL)	11.6	10.0	11.0	10.2	13.5-18
Creatinina sérica (mg/dL)	1.03	1.14	1.40	1.31	0.8-1.3
eGFR (mL/mim/1.73 m^2)	68	60	48	51	
Cálcio (mg/dL)	8.9	8.3	8.4	9.0	8.4-10.2
Fósforo (mg/dL)		5.0	6.2	9.9	2.5-4.5
25 hidroxivitamina D D_3 (ng/mL)				22.4	30-60
1,25 Diidroxivitamina D (pg/mL)				36	25-66
Paratormônio (pg/mL)				25	11-80
Albumina (g/dL)		3.0	3.3	3.6	3.5-4.8
Cálcio livre (mg/dL)				4.5	3.8-5.3
Ácido úrico (mg/dL)				7.2	3.4-7.0
Creatina quinase (U/L)				79	39-259
Tirotrofina (µUI/mL)				2.44	0.35.5.5
Análises na urina					
Proteína urinária 24 h (mg)	2,043				
Creatinina urinária 24 h (mg)	580				
Proteína urina isolada “spot” (mg/L)	3,000	2,188	1,201	574	
Creatina urina isolada “spot” (mg/L)	1,000	372	570	569	
Eletroforese e imunofixação do soro					
IgA (mg/dL)	79			53	70-400
IgG (mg/dL)	2,580			4,060	700-1,600
IgM (mg/dL)	41			22	46-304
κ	1,880			5,220	574-1,276
λ	183			166	269-638
Razão K:λ	15.7			31.4	1.0-2.5
Análise cadeias leves					
λ	72	67.6		56.1	5.7-26.3
κ	71.3	83.7		147.0	3.3-19.4
Razão K:λ	0.99	1.24		2.62	0.26-1.65

Fonte: Adaptado de Lovekar; Chen, 2010. (eGFR– Estimativa da Taxa de Filtração Glomerular; λ – lambda; κ – kappa; K:λ – razão entre kappa e lambda).

Dessa forma, desconfiou-se de pseudohiperfosfatemia sendo necessária a condução de estudos adicionais investigativos. Assim, uma amostra de soro do paciente foi testada novamente para dosagem de fósforo, porém, dessa vez, dividiu-se a amostra 2 porções. Na primeira porção, o soro foi centrifugado por 6-8 minutos e dosado no analisador de química clínica ADVIA 2400 analisador clínico (Siemens AG). A segunda parte do sangue foi filtrada usando um Filtro Amicon Ultra 30000 (Millipore), que provavelmente removeria proteínas com peso molecular >30 kDa. O sangue filtrado passou por centrifugação por 6-8 minutos e testado no mesmo analisador. Os resultados iniciais e após o tratamento da amostra, para dosagem de fósforo estão listados na tabela 6:

Tabela 6: Resultados de fósforo sérico com e sem filtração.

Parâmetro	08/07/09	10/07/09	31/07/09	16/11/09
Creatinina sérica (mg/dL)	1.31		1.15	1.65
eGRF (mL/min/1.73 m^2)	51		60	39
Fósforo (antes da filtração)	9.9	9.1	6.2	12.9
Fósforo (pós filtração) (mg/dL)		4.1	3.9	4.8

Fonte: Adaptado de Lovekar; Chen, 2010. (eGFR– Estimativa da Taxa de Filtração Glomerular).

Após a condução do tratamento da amostra, ficou evidente que o método para dosagem de fosfato pelo equipamento Advia 2400, sofria interferência por paraproteínas do tipo IgG, visto que, essa imunoglobulina sofreu elevação da data de 29 de maio de 2008 até a data de 8 de julho de 2009 (2,580 – 4,060 mg/dL). O diagnóstico foi de pseudohiperfosfatemia associada à GMSI com possível progressão para MM.

O filtro Amicon (Merck Millipore) é uma tecnologia que utiliza membranas de celulose filtrante e pode ser utilizado para realizar a concentração de proteínas, antígenos, anticorpos, enzimas ou ácidos nucléicos em amostras biológicas. O filtro para filtração de proteínas de tamanho > 30 kD, foi utilizado para a filtração de IgG no relato de caso descrito. Levando em consideração que a filtração permitiu a remoção completa da IgG (vide figura) e de que os níveis séricos de fosfato voltaram a

normalidade, o filtro Amicon torna-se também, uma boa alternativa para retirada de paraproteínas do soro. É possível notar a efetividade do uso de filtração para remoção de paraproteínas, também no relato de caso a seguir.

O paciente, homem de 56 anos, com histórico de câncer de cólon, chegou ao departamento de emergência médica apresentando perda de peso além de relatar dor abdominal forte. Investigações laboratoriais iniciais revelaram uma anemia macrocítica normocrômica, quadro configurado devido as resultados de: hemoglobina, 71 g/L (intervalo de referência, 126-169 g/L); volume corpuscular médio, 98,0 fL (intervalo de referência, 80,1–96,7 fL); concentração média de hemoglobina corpuscular, 320 g/L (intervalo de referência, 308-384 g/L)]. Parâmetros bioquímicos como: creatinina sérica, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, e os valores de bilirrubina estavam dentro dos limites de referência. A concentração de proteína total foi de 113 g/L (referência intervalo, 65-82 g/L), e a concentração de albumina foi de 33 g/L (intervalo de referência, 38-48 g/L). A concentração de fosfato, no entanto, aumentou acentuadamente em 14.99 mg/dL (4,84 mmol/L) (intervalo de referência: 2.63-4,49 mg/dL ou 0,85-1,45 mmol/L). As concentrações de cálcio total e corrigido foram 1,98 mmol/L e 2,20 mmol/L (intervalo de referência para ambos, 2,15-2,55 mmol/L), respectivamente, e o magnésio a concentração foi de 0,76 mmol/L (intervalo de referência, 0,75-1,07 mmol/L). Os índices analíticos (lipemia, bilirrubina e hemólise) estavam dentro dos limites aceitáveis. O único medicamento que o paciente estava tomando era atenolol para hipertensão.

Assim como no primeiro relato de caso, neste, suspeitou-se de pseudohiperfosfatemia quando o quadro clínico do paciente não condizia com hiperfosfatemia, assim, a interferência analítica foi considerada e consequentemente, as investigações para pseudohiperfosfatemia se iniciaram.

Após ser dosado pelo método colorimétrico, baseado na reação de fosfomolibdato/UV no analisador Advia 2400 (Siemens Healthcare Diagnostics), o fosfato foi dosado novamente na plataforma Vitros 5600 (Ortho Diagnóstico Clínico), pela conversão do complexo de fosfomolibdato em heteropolimolibdato azul para medição. Respectivamente, os resultados foram de 3,81 mmol/L (Advia 2400) e 1,28 mmol/L (Vitros 5600). A quantificação de imunoglobulina também foi realizada e mostrou os seguintes resultados: IgA, 0,21 g/L (intervalo de referência, 0,80-4,00 g/L); IgG, 108,30 g/L (intervalo de referência, 5,00-15,00 g/L); e IgM, 0,13 g/L (intervalo de

referência intervalo, 0,80-2,00 g/L). Posteriormente, a mesma amostra foi então submetida para ultrafiltração com um Amicon Ultracel 10K (Millipore), centrifugado em 1811 x *g* por 30 min e então medido novamente com os 2 analisadores. A redução dos níveis de fosfato foi visivelmente para 1,15 mmol/L em o Advia 2400 e menos para 1,09 mmol/L no Vitros 5600. As concentrações de IgG e proteína total em o ultrafiltrado também foram medidas. A concentração de IgG foi de 0,05 g/L com o instrumento INTEGRA® 400 Plus (Roche Diagnostics), e a concentração total de proteína foi de 0 g/L com Advia 2400.

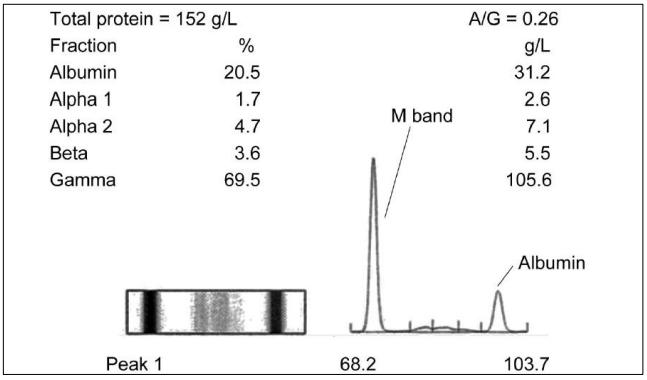
Tabela 7. Investigações laboratoriais do paciente após suspeita de pseudohiperfosfatemia

Parâmetro/analisador	Antes da desproteinização	Depois da desproteinização
Fosfato inorgânico, mmol/L		
Advia 2400	3.81	1.15
Vitros 5600	1.28	1.09
IgG, g/L		
Integra 400 Plus	108.3	<0.05
Proteína total, g/L		
Advia 2400	113	0

Fonte: Adaptado de Loh et al., 2010

A discrepância entre os resultados de fosfato obtidos com o Advia 2400 e Vitros 5600 pode ser visualizada de forma clara neste estudo. A capacidade do instrumento Vitros 5600 para medir a concentração de fosfato sérico em uma amostra com paraproteinemia, mais próxima de seu estado desproteinizado, pode ser atribuída à eficácia da tecnologia MicroSlide, de multicamadas em lâmina de reação. A reação é integrada e acontece em várias camadas, sendo capaz de filtrar moléculas grandes, como proteínas, lipídios e hemoglobina. Neste cenário, a propagação camadas pareciam ser eficazes na remoção de IgG, que de outra forma interferiria com o fosfato medição. Ao fim da investigação, o eventual diagnóstico para o paciente era de mieloma múltiplo, de acordo com a proteína sérica caracterizada na eletroforese:

Figura 6: Eletroforese de proteínas séricas mostrando a banda M e sua quantificação



Fonte: Loh et al., 2010

A remoção de paraproteínas nos casos clínicos relatados foi eficiente com a utilização de filtração. Técnicas como precipitação e utilização de equipamentos que utiliza da “química seca” para dosagem de fosfato inorgânico, também foram efetivas. Nas análises de química clínica o método por química úmida, o qual utiliza reagentes e amostra em estado líquido são comumente utilizados, no entanto, o método por química seca, configura-se como uma moderna ferramenta de análise química. Opta-se por trabalhar com o reagente dissolvido em solução nos casos de química úmida, e reagentes não dissolvidos, secos, o que constituí a química seca (GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ, 2012). Entretanto, a diluição de amostras contendo elevada concentração de imunoglobulinas também foi testada.

No caso clínico relatado por FRANCIS, Elizabeth R. et al: *Pseudohyperphosphatemia in a patient with incidentally identified progression of smoldering myeloma*, é descrito como foi realizada a intervenção de remoção de paraproteínas, da amostra de um paciente que, inicialmente, apresentava gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI).

O relato traz uma paciente de 62 anos, diagnosticada com GMSI em 2007, que tinha a proteína IgG-kappa monoclonal na concentração de 13.870 mg/L e infiltrado de células plasmáticas da medula óssea de 6%. Em maio de 2014, as concentrações de paraproteína aumentaram progressivamente, com IgG atingindo 42.810 mg/L e 12% as células plasmáticas da medula óssea. Como tal, ela foi diagnosticada como GMSI com progressão para Mieloma Latente (SMM). Em fevereiro de 2018, ela foi hospitalizada devido a concentrações de fósforo sérico elevadas. Testes laboratoriais no último acompanhamento em novembro de 2017 (3 meses antes da hospitalização) e no momento da hospitalização estão mostrados na tabela 8:

Tabela 8: Dados laboratoriais três meses antes e no momento da admissão hospitalar

Variável	Intervalo de referência	Resultados do paciente 3 meses antes (20/11/2017)	Resultados do paciente no momento da admissão 19/02/2018)
Hemoglobina (g/L-g/dL)	117-150 11,7-15,0	119	112
Creatinina (mg/L-mg/dL)	6-10 0,6-1	7,1	5,2
Cálcio (mg/L-mg/dL)	84-102 8,4-10,2	93 9,3	88 8,8
Magnésio (mg/L-md/dL)	16-26 1,6-2,6	21 2,1	21 2,1
Potássio (mmol/L)	3,5-5,0	4,0	4,3
Ácido úrico (mg/L-mg/dL)	27-64 2,7-6,4	41 4,1	43 4,3
Albumina (g/L – g/dL)	35-52 3,4-5,2	39 3,9	35 3,5
LDH (u/L)	135-250	229	157
Fosfato (mg/L – mg/dL)	25-45 2,5-4,5	60 6,0	162 16,2
25-hidroxi vitamina D (µg/L)	30-100	n/a	40
Paratormônio (ng/L)	15-65	n/a	35,5
IgG (mg/L – mg/dL)	7000-16.000 700-1600	36.570 3657	43.220 4322
Kappa livre no soro (mg/L – mg/dL)	3.3-19.4 0,33-1,94	245 24,5	869 86,9
Relação kappa/lambda (	0,26-1,65	79,1	413,7
Fosfato na urina (g/24 h-mg/24h)	0,4-1,3 400-1300	n/a	0,344 344

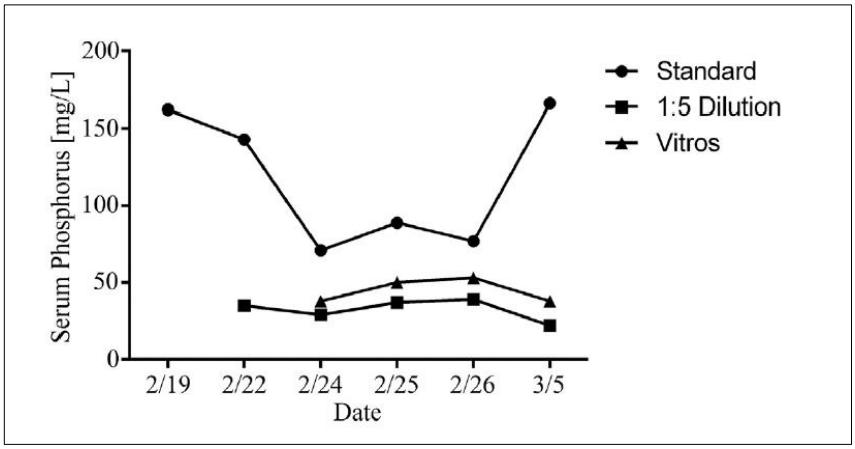
Fonte: Adaptado de Francis et al., 2018. (LDH – Lactato desidrogenase).

Antes do último acompanhamento, os resultados de fósforo sérico medidos no equipamento Ortho Vitros estavam normais (janeiro de 2017 - agosto de 2018). Depois disso o laboratório mudou o sistema analítico de Ortho Vitros para Roche Cobas, e as concentrações de fósforo sérico foram significativamente elevadas, variando entre 60 e 145 mg/L, respectivamente em novembro de 2017 e fevereiro de 2018 (referência intervalo, 25 - 45 mg/l). Devido ao quadro de hiperfosfatemia extrema, a paciente foi

internada. Após a admissão, seu kappa/livre de soro a proporção lambda aumentou de 79,10 (valor de três meses atrás) para 413,71 e livre concentração de cadeia leve kappa de 245,2 mg/L a 868,8 mg/L. Então, a paciente foi diagnosticada com SMM de progressão para MM.

Além disso, seu fósforo sérico foi aumentado para 162 mg/l pelo Roche cobas ensaio de fosfomolibdato na admissão (Tabela 7). Diante de variações significativas na medição de fosfato, entre duas plataformas de fornecedores distintos, testes adicionais foram solicitados para descartar interferência no método de dosagem de fosfato. Assim, as concentrações séricas de fósforo foram medidas por ambos os métodos Roche cobas e Ortho Vitros. No analisador Cobas, a amostra foi dosada duas vezes: a primeira sem diluição (representada no gráfico por "*standar*d") e a segunda, com diluição, utilizando o fator de diluição 5 (1:5) (representada por "*1:5 Dilution*"). No equipamento Vitros, a amostra foi dosada sem diluição.

Figura 7: Medição de fósforo sérico em amostras diretas e diluídas usando os ensaios Roche cobas e ORTHO VITROS



Fonte: Fonte: Francis et al., 2018

Os resultados indicaram que o fósforo no soro estava falsamente elevado, e que era devido à interferência que o método utilizado no analisador Cobas, sofria. Portanto, a intervenção terapêutica para diminuir o fósforo sérico foi interrompida, e a paciente recebeu alta sem sequelas, seguindo por tratamento de quimioterapia para MM em regime ambulatorial.

A diluição em série empregada para resolução de paraproteinemia neste relato de caso, foi efetiva, visto que, os níveis séricos de fosfato reduziram após diluição. Neste contexto, quando comparada a tecnologia de química seca, a diluição torna-se tão efetiva quanto a tecnologia de filtração empregada por Vitros. Apesar dos

resultados de diluição serem promissores na tentativa de eliminação de paraproteínas, conforme evidenciado por Francis et al, 2018, Chakraborty et al. (2015), ressalta que, com a diluição do soro, utilizando solução salina, é possível diminuir e até mesmo eliminar as paraproteínas, no entanto, essa prática pode não reproduzir resultados precisos e nem exatos, se o analisador pretender quantificar as paraproteínas, uma vez que não há como prever o comportamento de imunoglobulinas monoclonais nas diferentes concentrações promovidas pela diluição.

Um estudo de interferência de paraproteinemia em um caso de pseudohiperfosfatemia, conduzido por Rani et al. (2020), elucidou as soluções empregadas na tentativa de eliminação de paraproteína do soro, uma delas foi a diluição em série da amostra, que não foi eficaz. No relato de caso, após ser admitida no ambulatório, a paciente de 55 anos com histórico clínico de dor lombar durante 6 meses e fraqueza, realizou uma série de exames, dentre eles o radiológico, que evidenciou osteoporose generalizada e laboratoriais que revelaram os seguintes parâmetros listados na tabela 9:

Tabela 9: Parâmetros laboratoriais avaliados

Número	Parâmetro	Resultado
1	Bilirrubina total	0,7 mg/dL
2	Bilirrubina direta	0,2 mg/dL
3	Bilirrubina indireta	0,5 mg/dL
4	ALT	11,7 U/L
5	AST	18,7 U/L
6	ALP	75,4 U/L
7	Proteína total	9,1 g/dL
8	Albumina	3,2 g/dL
9	Globulina sérica	5,9 g/dL
10	Relação A:G	0,5
11	Ureia	48,6 mg/dL
12	Creatinina	1,3 mg/dL
13	Ácido úrico	8,5 mg/dL
14	Cálcio	9,3 mg/dL
15	Fósforo	15,2 mg/dL
16	Sódio	130,9 meq/L
17	Potássio	5,1 meq/L
18	Cloro	92,4 meq/L
19	Ferritina	166 ng/mL
20	eGRF	47 ml/min/1,7 m^2
21	Ensaio de cadeias leves livres no soro	Kappa = 21,5 (limítrofe) Lambda = 3540 (aumento) Razão K:λ = 0,006 (queda)

Fonte: Adaptado de Rani et al. 2020. (ALT – Alanina aminotransferase; AST – Aspartato aminotransferase; ALP – Fosfatase alcalina; eGRF – Estimativa da Taxa de Filtração Glomerular).

Os exames bioquímicos evidenciaram elevação grave nos níveis de fósforo sérico 15,2 mg/dL, no entanto, tal elevação não condizia com a condição clínica do paciente, uma vez que causas de hiperfosfatemia, como insuficiência renal, hiperparatireoidismo, síndrome de lise tumoral foram descartadas com base nos achados clínicos. Outra forte evidência de que não havia causas concretas de hiperfosfatemia, foi a de que os níveis séricos de cálcio não estavam baixos, como seria de esperar com os níveis de fosfato sérico observados em caso de hipoparatireoidismo. Além disso, a função renal estava preservada. A proteína de Bence-Jones estava ausente na urina.

Foi realizada uma biópsia de medula óssea, que revelou discrasia de células plasmáticas, também foi solicitada a eletroforese de proteínas séricas, que revelou presença de uma banda anormal, nítida e discreta em região da beta-globulina com subsequente imunofixação, revelando gamopatia monoclonal do tipo IgA com cadeia pesada lambda. A quantificação de IgA não foi feita. Não foi evidenciado na amostra a presença de hemólise, icterícia ou lipemia. Todo esse quadro clínico fez com que a equipe médica interpretasse a situação como pseudohiperfosfatmia, devido à interferência da paraproteína. Por isso, tentou-se retirar a paraproteína do soro a fim de, posteriormente, quantificar o fósforo inorgânico.

Inicialmente a amostra foi processada no analisador automático AU 680 de Beckman Coulter, revelando os resultados alterados para fósforo inorgânico. Após diluições em série da mesma amostra, a dosagem de fósforo foi executada no mesmo equipamento, mas os resultados não apresentaram linearidade e reprodutibilidade, conforme pode-se visualizar na tabela 10:

Tabela 10: Diluição em série do fósforo sérico dosado no analisador AU 680 Beckman Coulter.

Diluição	Valor esperado (mg/dL)	Valor obtido (mg/dL)
Direta	16	16
2	8	4,66
4	4	1,70
8	2	0,58
16	1	0,30

Fonte: Adaptado de Rani et al. 2020.

Em seguida, a mesma amostra foi testada para fósforo inorgânico em outro laboratório, no analisador de multicamadas (Vitros 250, Ortho Clinical Diagnostics, USA), baseado em tecnologia de filme. Após, o resultado para fósforo inorgânico foi de 6,9 mg/dL. A recuperação obtida para o fosfato neste analisador foi excelente, descartando assim qualquer possível interferência.

A tecnologia MicroSlide VITROS® proporciona um ambiente reacional completo e integrado presente em um fino filme. As camadas que ficam entre um único filme fino, que se assemelha em tamanho a um selo postal, possuem funcionalidades diferentes, mas que agem de forma integrada: camadas de espalhamento e filtração da amostra, de reagente seco e limpeza. A tecnologia permite que a reação química ocorra em domínios separados, contribuindo para melhor qualidade do desempenho do sistema, resultados seguros, interferências de substâncias reduzida, dentre outras melhorias.

Pode-se inferir, após a discussão do estudo conduzido por Rani et al. (2020), que as imunoglobulinas de origem monoclonal se comportam de maneiras diferentes após diluição em série, visto que os resultados de fósforo sérico após diluições do soro, não foram precisos. Esse achado vai de encontro com o disposto pelo autor Chakraborty et al. (2015), de que as diluições em série não fornecem resultados reprodutíveis uma vez que, em diferentes concentrações, as imunoglobulinas podem reduzir e até mesmo serem eliminadas. Em suma, a abordagem de utilizar diluição em série na tentativa de eliminação de paraproteínas, pode ser utilizada, no entanto, essa técnica precisa ser mais praticada e estuda, verificando assim, o comportamento das imunoglobulinas em diferentes concentrações do soro, sendo possível prever qual seria o impacto dessas diferentes concentrações na dosagem verdadeira de fósforo sérico.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de ser um tema específico e pouco comum, com a utilização das combinações de descritores, foi possível encontrar obras que trouxessem uma discussão satisfatória referente aos questionamentos desta monografia. Nesse sentido, os artigos selecionados e estudados trouxeram explicações plausíveis para compreensão do mecanismo interferente, que paraproteínas de origem monoclonal, ocasionam principalmente, no método colorimétrico, muito utilizado para dosagem de fósforo inorgânico. Entretanto, as explicações foram breves e pouco detalhadas, de acordo com o que foi possível de se encontrar nas obras selecionadas. As formas de eliminação ou redução de paraproteínas no soro, descritas nas diferentes obras analisadas, no entanto, foram satisfatórias no que diz respeito ao entendimento e conhecimento, das formas já testadas e que foram eficazes no procedimento de desproteinização.

O equipamento Vitros® da *Ortho Clinical Diagnostics*, pode ser bastante eficaz na remoção de paraproteínas do soro. Todas as etapas da reação ocorrem em diferentes domínios de um pequeno filme fino, o que permite que as proteínas fiquem retidas nas primeiras camadas, impossibilitando que ocasionem interferência na dosagem de fósforo inorgânico. Além disso, as reações químicas ocorrem na presença de reagentes secos, não sendo necessária a preparação ou desperdício de reagentes. Apesar de ser uma forma eficiente, configura-se como a menos rentável, a curto prazo, considerando os outros métodos estudados. Uma forma mais acessível seria a utilização de precipitação das paraproteínas utilizando polietilenoglicol (PEG) 6000, visto que é um polímero de fácil aquisição e que de acordo estudos, é eficaz na eliminação de paraproteínas. O filtro Amicon Ultra da *Merck Milipore* é constituído por uma membrana de celulose regenerada, promove alta recuperação de moléculas > 90% e ultrafiltração. Pode ser utilizado na concentração de antígenos, anticorpos, enzimas e microrganismos, também purificação de substâncias encontradas em culturas ou lisados celulares. Sua versatilidade e capacidade de filtração, configura-se como uma boa opção na concentração de paraproteínas, deixando o soro livre de interferentes.

No decorrer da busca pela literatura, não foi possível encontrar obras no idioma português, em nenhuma das bases de dados utilizadas, o que mostra que o Brasil,

apesar de ter normas direcionadas para diagnóstico e tratamento de Mieloma Múltiplo e outras gamopatias monoclonais, não promove ou, promove poucos estudos relacionados a interferentes associados as gamopatias monoclonais em amostras biológicas. Nesse sentido, a presente monografia sustenta a ideia de que mais estudos nessa área devem ser desenvolvidos e conduzidos, visto que, a detecção de interferência por paraproteínas pode ajudar no diagnóstico precoce de gamopatias monoclonais que podem se tornar doenças malignas como o Mieloma Múltiplo. Além disso, o uso de aglutinantes de fosfato sérico nos casos de pseudohiperfosfatemia associada as GM, deve ser imediatamente descontinuado, uma vez que, o fosfato, na maioria das vezes, não está verdadeiramente elevado.

Diante do exposto nesta revisão, a importância da construção de um fluxograma que sinalize como proceder em casos de interferências ocasionadas por paraproteínas, torna-se evidente. Este fluxograma constituiria uma importante ferramenta que contribuiria para auxiliar técnicos e analistas dos laboratórios de análises clínicas, em como eliminar as paraproteínas do soro, desde as formas mais simples e rentáveis até as formas mais robustas.

Em suma, o tema sobre a detecção precoce de gamopatias monoclonais, configura-se como uma importante atualização aos profissionais de laboratórios, o que contribuiu para evitar a liberação de laudos diagnósticos enviesados, promovendo maior segurança à vida do paciente.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Compri-Nardy, Mariane B.; STELLA, Mércia Breda; OLIVEIRA, Carolina de. Práticas de Laboratório de Bioquímica e Biofísica: Uma Versão Integrada. 1º edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda; 2009. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-1963-6/cfi/177!/4/2@100:0.00. Acesso em: 2 nov. 2019.

Motta, Valter T. Bioquímica Clínica para o Laboratório: princípios e interpretações. 5º Edição. Rio de Janeiro: Medbook; 2009. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786557830260/cfi/0!/4/2@100:0.00. Acesso em: 24 out. 2020.

Burtis, Carl A.; Bruns, David E. Tietz: Fundamentos de Química Clínica e Diagnóstico Molecular. 7º edição. Rio de Janeiro: Elsevier; 2016.

Lovekar, Shachi; Chen, Joline L.t.. A 90-Year-Old Man With Hyperphosphatemia. American Journal Of Kidney Diseases [Internet]. 2010 out [citado em 2 nov. 2019]; 57 (2): 342-346. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20951488/

Malberti, Fabio *et al*. Hyperphosphataemia: treatment options. Drugs [Internet]. 2013 abril [citado em 3 nov.2019]; 73 (7): 673-688. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s40265-013-0054-y

Resende, Letícia Maria Henriques; Viana, Luciana de Gouvêa; Vidigal, Pedro Guatimosim. Protocolos Clínicos dos Exames Laboratoriais [Internet]. Minas Gerais: Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais, 2009 [citado em 2 nov 2019]. Disponível em: http://www.uberaba.mg.gov.br/portal/acervo/saude/arquivos/oficina_10/protocolos_exames_laboratoriais.pdf.

Gil, Antonio Carlos. Métodos e Técnicas de Pesquisa Social [Internet]. São Paulo: Atlas; 2019 [citado em 23 set 2019] Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788597020991/cfi/6/54!/4/30/2@0:0.

Hilal-Dandan, Randa *et al* (org.). Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman [Internet]. Porto Alegre: Amgh; 2015 [citado em 3 set 2020]. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580555066/cfi/6/12!/4/22@0:56.7.

Loh, Tze Ping *et al*. Hyperphosphatemia in a 56-Year-Old Man with Hypochondrial Pain. Clinical Chemistry [Internet]. 2010 junho [citado em 01 junho 2020]; 56 (6): 892-895, Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20511470/

Martín, Antonia García et al. Phosphate disorders and the clinical management of hypophosphatemia and hyperphosphatemia. Endocrinología, Diabetes y Nutrición (English Ed.) [Internet]. 2020 março [citado em 23 out 2020]; 67 (3): 205-215. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.endien.2020.04.006

Lu, Yongbo; Feng, Jian Q. FGF23 in Skeletal Modeling and Remodeling. Current Osteoporosis Reports [Internet]. 2011 março [citado em 02 nov 2020]; 9 (2): 103-108. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s11914-011-0053-4

Mao, Z.; Ong, A. C. M.. Spurious hypophosphatemia associated with monoclonal paraproteinemia. Qjm, [Internet]. 2011 junho [citado em 02 nov 2020]; 105 (7): 693-696. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1093/qjmed/hcr104

Mariano, Rodríguez Portillo; Marta, Albalate Ramón; Patricia, De Sequera Ortiz. Trastornos del calcio, el fósforo y el magnesio. Revista de Nefrologia, [Internet]. 2012 dez [citado em 23 out 2020]; 201-219. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3265/Nefrologia.2010.pub1.ed80.chapter2797

Schmidt, Maria Inês et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. The Lancet, [Internet]. 2011 junho [citado em 15 nov 2019]; 377 (9781): 1949-1961. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(11)60135-9

Brasília. Ministério da Saúde. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas em Oncologia [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde, 2014 [citado em 4 out 2019]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolos_clinicos_diretrizes_terapeuticas_oncologia.pdf

Foundation, National Kidney. GFR (Glomerular Filtration Rate): a key to understanding how well your kidneys are working [Internet]. Nova Iorque: National Kidney Foundation, 2013 [citado em 11 nov 2020]. Disponível em: https://www.kidney.org/sites/default/files/docs/11-10-1813_abe_patbro_gfr_b.pdf

ANDRIOLO, Adagmar *et al*. Passo a passo para implantação da estimativa da taxa de filtração glomerular (eTFG) no Laboratório**.** Publicações técnicas. [Internet]. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Patologia Clínica; 2015 [citado em 11 nov 2020]. Disponível em: http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/padronizacao_eTFG_4nov2015.pdf

Saúde, Ministério da et al (org.). Diretrizes Clínicas para o Cuidado ao Paciente com Doença Renal Crônica – DRC no Sistema Único de Saúde. Biblioteca Virtual em Saúde Brasil [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2014 [citado em 8 out 2019]. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_clinicas_cuidado_paciente_renal.pdf

Pierce, D. et al. The effect of sevelamer carbonate and lanthanum carbonate on the pharmacokinetics of oral calcitriol. Neph Dialy Transplant [Internet]. 2010 out [citado em 13 nov 2020]; 26 (5): 1615-1621. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfq598

Hutchison, Alastair J. et al. Oral phosphate binders. Kidney International [Internet.]. 2009 maio [citado em 13 nov 2020]; 75 (9): 906-914. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1038/ki.2009.60

Kritmetapak, Kittrawee et al. Pseudohyperphosphatemia in a patient with relapsed multiple myeloma after bone marrow transplantation: a case report. Clinical Case Reports [Internet]. 2019 junho [citado em 28 out 2020]; 7 (7): 1426-1429. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1002/ccr3.2264

Hungria, Vânia Tietsche de Moraes *et al*. Tratado de Hematologia: Distúrbios dos Plasmócitos e Doenças Correlatas. [Internet]. São Paulo: Atheneu; 2013 [citado em 11 nov 2020]. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4498495/mod_resource/content/1/Tratado-hematologia%20cap%2057.pdf

Rajkumar, S Vincent et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. The Lancet Onco, [Internet]. 2014 nov [citado em 3 nov 2019]; 15 (12): 538-548. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045(14)70442-5

Mesquita Júnior, Danilo et al. Sistema Imunitário – Parte II Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. Revis Brasil de Reuma [Internet]. 2010 set [citado em 05 out 2020]: 552-580. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/rbr/v50n5/v50n5a08.pdf

Longo, Dan (org.). Hematologia e Oncologia de Harrison. [Internet]. Porto Alegre: Amgh Editora Ltda; 2015 [citado em 5 out 2020]. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580554564/cfi/3!/4/4@0.00:0.00

Failace, Renato (ed.). Fundamentos em Hematologia de Hoffbrand. [Internet]. Porto Alegre: Artmed Editora Ltda; 2018 [citado em 6 out 2020]. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582714515/cfi/368!/4/4@0.00:22.7

Rani, Priti et al. IgA Monoclonal Gammopathy with Pseudohyperphosphatemia. Indi Jour Of Clinic Biochem [Internet]. 2020 junho [citado em 2 nov 2020]:1-5. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s12291-020-00911-8

Faria, Rosa Malena D.; SILVA, Roberta O. Paula e. Gamopatias monoclonais: critérios diagnósticos e diagnósticos diferenciais. Revi Brasil de Hemato e Hemote [Internet]. 2007 março [citado em 3 nov 2019]; 29 (1): 17-22. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842007000100005

Park, Yu Jin et al. Effects of two types of medical contrast media on routine chemistry results by three automated chemistry analyzers. Clinic. Biochem. [Internet]. 2017 agosto [citado em 3 nov 2020]; 50 (12): 719-725. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.02.023

Pallavi, B. et al. An unique encounter with paraprotenemia. Jour Of Lab Physi [Internet]. 2019 outubro [citado em 3 nov 2019]; 11 (04): 391-393. Disponível em: http://dx.doi.org/10.4103/jlp.jlp_120_19

Jelinek, A. G.; BACHMANN, L. M.. Unexpected Test Results in a Patient with Multiple Myeloma. Clini Chem [Internet]. 2014 outubro [citado em 2 nov 2019]; 60 (11): 1375-1378. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2013.213884

Chakraborty, Sutirtha et al. Measurement of serum-phosphate concentration in immunoglobulin G monoclonal gammopathy after PEG-precipitation. Clinic. Chim. Acta, [Internet]. 2015 fevereiro [citado em 3 nov 2020]; 440: 211-213. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2014.11.028

Pamuk, Gulsumemel et al. The rapid resolution of pseudohyperphosphatemia in an IGAκ multiple myeloma patient after therapy with a bortezomib-containing regimen: report of the first case. Jour Of Canc Rese And Therap, [Internet]. 2015 [citato em 5 nov 2020]; 11 (4): 1043-1043. Disponível em: http://dx.doi.org/10.4103/0973-1482.157333

Amalnath, Sd et al. Pseudohyperphosphatemia in Waldenstrom′s Macroglobulinemia. Indi Jour Of Nephro [Internet]. 2013 [citado em 7 nov 2020]; 23 (6): 465-465. Disponível em: http://dx.doi.org/10.4103/0971-4065.120351

Fahie-Wilson, Michael et al. Determination of prolactin: the macroprolactin problem. Best Pract & Rese Clini Endocri & Metabo [Internet]. 2013 outubro [citado em 16 nov 2020]; 27 (5): 725-742. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2013.07.002

Francis, Elizabeth R. et al. Pseudohyperphosphatemia in a patient with incidentally identified progression of smoldering myeloma. Clinic Chim Acta [Internet]. 2018 dezembro [citado em 2 nov 2019]; 487: 306-308. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2018.10.016.

Governo do Estado do Ceará. Secretaria da Educação. Química Analítica Qualitativa e Quantitativa: textos de apoio [Internet]. Ceará: Governo do Estado do Ceará; 2012 [citado em 7 nov 2020]. Disponível em: https://www.seduc.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/37/2012/06/quimica_analitica__qualitativa_e_quantitativa.pdf