

Artigo/Article

Determinação da expressão da molécula de adesão CD56 em plasmócitos no mieloma múltiplo através de estudo imuno-histoquímico
CD56 adhesion molecule expression by plasma cells in multiple myeloma immunohistochemistry

Ana L. Coradazzi¹
Lucilene S. R. Resende²
Francisco A. M. Neto³
Maria R. D. O. Latorre⁴
Maura M. Bacchi⁵
Lígia Niero-Melo²

O papel das moléculas de adesão celular, na fisiopatologia do mieloma múltiplo (MM), tem sido alvo de vários estudos nos últimos anos. A expressão de CD56 pelos plasmócitos tumorais está associada a comportamento clínico menos agressivo da doença, e sua perda tem sido descrita na fase de leucemização plasmocitária. A determinação da expressão da molécula CD56 pelos plasmócitos tumorais pode ser obtida através de citometria em fluxo, revelando positividade em 55% a 78% dos casos. No presente estudo, objetivamos verificar a expressão da molécula CD56 por plasmócitos tumorais na medula óssea de portadores de MM, utilizando o estudo imuno-histoquímico das amostras histológicas obtidas ao diagnóstico. Analisamos as amostras de medula óssea de vinte portadores de MM, e realizamos o estudo imuno-histoquímico para determinação da expressão das cadeias leves kappa e lambda e da molécula CD56 pelos plasmócitos tumorais. A expressão da molécula CD56 foi importante em três casos, moderada em seis, discreta em quatro e negativa em sete. O estudo imuno-histoquímico mostrou-se válido para determinação da expressão de CD56 por plasmócitos tumorais em portadores de MM, fornecendo resultados semelhantes aos descritos para os obtidos por citometria em fluxo. Através do estudo imuno-histoquímico, foi possível observar variações da expressão da molécula CD56. Rev. bras. hematol. hemoter. 2003;25(3):155-160.

Palavras-chave: Mieloma múltiplo; CD56; moléculas de adesão; imuno-histoquímica.

¹Depto. de Hematologia e Oncologia Clínica, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, Brasil.

²Depto. de Clínica Médica (Hematologia), Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, Brasil.

³Depto. de Patologia, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, Brasil.

⁴Depto. de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil.

⁵Depto. de Patologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, Brasil.

Correspondência para: Ana Lucia Coradazzi
Departamento de Hematologia e Oncologia Clínica – Hospital Amaral Carvalho
Rua Dona Silvéria, 150 – Centro
17201-000 – Jaú-SP – Brasil
Tel: (14) 6201399 – Fax: (14) 6201399 – E-mail: segalla@netsite.com.br

Introdução

O mieloma múltiplo (MM) caracteriza-se pela proliferação neoplásica de um único clone plasmocitário, produtor de imunoglobulinas monoclonais, de origem em tecidos linfóides secundários e manifestação essencialmente medular.¹ As células tumorais expressam os mesmos antígenos de membrana dos plasmócitos normais e, funcionalmente, comportam-se como eles: têm baixa atividade proliferativa e são capazes de sintetizar proteínas. No entanto, a fenotipagem completa dos plasmócitos tumorais demonstra grande heterogeneidade na expressão de marcadores associados à linhagem B e à diferenciação celular,^{2,3} além de moléculas de adesão celular, especialmente CD56.

Apesar do processo de diferenciação plasmocitária ocorrer principalmente no microambiente medular, há indícios de que a transformação neoplásica ocorra numa fase mais precoce da diferenciação celular, provavelmente nas células pré-B.² O desenvolvimento da neoplasia dependeria, portanto, do retorno das células precursoras à medula óssea, onde o processo de diferenciação seria então finalizado. O retorno à medula óssea parece ocorrer através da expressão de moléculas de adesão pelas células precursoras, essenciais para sua comunicação com as células do microambiente medular.

Há estreita correlação entre citocinas e moléculas de adesão na medula óssea: citocinas podem regular a adesão celular, a qual pode, por sua vez, regular a resposta celular a citocinas.⁴ É necessário, portanto, que a célula precursora permaneça no microambiente medular, onde sofrerá ação de citocinas como a IL-6, essenciais para sua diferenciação.⁵

A ligação de células tumorais a células estromais desencadeia a produção e secreção de IL-6 pelo próprio estroma (secreção parácrina) e pelo clone tumoral (secreção autócrina), o que torna a adesão celular um evento fundamental para o desenvolvimento neoplásico.^{6,9} A IL-6 promove também a perda gradativa de moléculas de adesão, o que propiciaria a migração de células tumorais para a circulação quando a carga tumoral fosse "excessiva" (leucemia plasmocitária). Os plasmócitos tumorais circulantes, quando distantes do microambiente medular e, portanto, da ação da IL-6, voltam a expressar moléculas de adesão, principalmente CD56, o que permite sua ligação a sítios metastáticos extramedulares.⁶

Em termos de propriedades adesivas, o microambiente da medula óssea é altamente organizado para capturar precursores circulantes das células tumorais, sendo capaz de oferecer, a estas células, condições favoráveis para sua diferenciação e expansão clonal, levando ao crescimento progressivo e disseminação da doença.⁴ O grau de infiltração medular por plasmócitos tumorais estaria, portanto, relacionado à maior ou menor expressão de moléculas de adesão na superfície plasmocitária.

Assim, a identificação de tais moléculas na superfície celular plasmocitária, bem como o estudo de suas características, poderiam contribuir de forma significativa para a compreensão da fisiopatologia do MM e, conseqüentemente, para sua abordagem terapêutica. Nosso objetivo é verificar o comportamento fisiopatológico do MM pela determinação da expressão da molécula de adesão CD56 por plasmócitos tumorais, utilizando o estudo imuno-histoquímico.

Materiais e métodos

Foram estudadas vinte amostras de medula óssea (coágulos e/ou fragmentos ósseos), obtidos ao diagnóstico, de pacientes portadores de MM acompanhados pela Disciplina de Hematologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, e pelo Departamento de Hematologia e Oncologia Clínica do Hospital Amaral Carvalho, em Jaú. Os prontuários médicos dos pacientes foram analisados, verificando-se a presença de dados clínicos e laboratoriais, de acordo com os critérios clássicos para diagnóstico de MM: presença de, pelo menos, 10% de plasmócitos ao esfregaço de medula óssea (ou demonstração histológica de plasmocitoma), associada a: i) proteína monoclonal sérica, ii) proteína monoclonal urinária, ou iii) lises ósseas.¹⁰

As amostras foram submetidas ao estudo imuno-histoquímico para determinação da expressão da molécula de adesão CD56, e das cadeias leves de imunoglobulina kappa e lambda. A técnica utilizada para o estudo foi realizada de acordo com a descrição de Gown, Wever e Battifora,¹¹ padronizada pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp. Foram desparafinizados cortes de 4 mm a 5 mm (micrótomo Leica RM 2145), imediatamente antes da realização do método imuno-histoquímico, sendo posteriormente hidratados e lavados com solução salina tamponada (SST). Após a desparafinização, os

cortes foram incubados em forno de microondas convencional por 15 minutos, em solução tampão de citrato, pH 6,0. Os cortes foram então incubados com anticorpos monoclonais anti-CD56 (Serotec, EUA) diluídos, sendo incubados *overnight* em refrigerador caseiro, à temperatura de 4°C. Após lavagem em SST, as lâminas foram incubadas durante sessenta minutos com anticorpo biotilado secundário anti-IgG (Vector, EUA). Objetivando definir a diluição ideal para análise do CD56, realizamos estudo piloto em 14 casos, utilizando as diluições 1:25, 1:50, 1:100 e 1:150. Os cortes foram incubados com o complexo ABC (Vector, EUA) por 45 minutos. Para visualização, as lâminas foram tratadas com solução de 3,3 diaminobenzidina (DAB) a 1 mg/ml, em SST, em solução de H₂O₂ a 0,1%. Os cortes foram contracorados com hematoxilina. As lâminas foram repetidamente analisadas à microscopia óptica por duas médicas citologistas, às cegas, até que um padrão uniforme de classificação fosse definido. A mesma técnica foi utilizada para o estudo da expressão das cadeias leves de imunoglobulinas kappa e lambda (Dako, Dinamarca), a qual foi classificada apenas quanto à presença ou ausência das cadeias na superfície plasmocitária. O estudo das cadeias leves foi utilizado para identificação das áreas de maior carga tumoral e comparação das mesmas com as lâminas de estudo da molécula CD56, nos casos em que a visualização das células CD56+ mostrava-se difícil. As amostras foram classificadas de acordo com a porcentagem de plasmócitos que expressavam CD56 e com seu padrão de coloração, considerando-se a intensidade e suas características. O padrão de coloração foi graduado da seguinte maneira:

- : ausência de qualquer coloração;
- +: coloração tênue/escassa da membrana plasmocitária, observando-se apenas parcialmente o contorno celular;
- ++: coloração completa da membrana plasmocitária, com padrão delicado ou finamente granular;
- +++ : coloração completa da membrana plasmocitária, com padrão forte e bem definido.

Determinamos quatro grupos para classificação da expressão de CD56 pelas células tumorais:

- negativo: nenhuma coloração foi observada;
- discreto: menos de 10% dos plasmócitos foram corados, detectando-se coloração tênue/escassa das membranas;

- moderado: 10% a 50% dos plasmócitos foram corados, com coloração completa das membranas, de fraca a moderada intensidade;

- importante: mais de 50% dos plasmócitos foram corados, detectando-se coloração forte e completa das membranas.

Resultados

A população estudada foi composta por vinte pacientes, sendo 13 homens (65%) e sete mulheres (35%), com média de idade de 65 anos. A maioria (85%) apresentava lises ósseas ao diagnóstico, quase sempre com sintomatologia (dores ósseas e/ou fraturas patológicas). Em 85% dos casos havia anemia ao diagnóstico, e em apenas um não foi detectada proteína monoclonal sérica. Em 40% dos casos havia proteinúria à análise urinária de 24 horas. Obtivemos a dosagem sérica de b₂ microglobulina em 12 casos e, entre estes, a proteína mostrou-se elevada em dez (83%). A DHL foi obtida em 16 casos, apresentando-se elevada em um deles.

Os dados obtidos através do estudo imunohistoquímico estão descritos na tabela 1. Observamos expressão da cadeia leve kappa em nove casos, lambda em nove e nenhuma expressão de cadeias leves em dois. A maioria dos casos (65%) apresentou algum grau de expressão da CD56. A expressão da molécula mostrou padrão variável entre as amostras. Em sete casos não foi observada nenhuma coloração de membrana plasmocitária. Em cinco, a coloração mostrou-se tênue, escassa, em alguns casos, inclusive, com dificuldades para sua visualização. Em outros cinco, observamos padrão delicado, porém bem definido, de coloração na membrana plasmocitária, permitindo a visualização de todo o contorno celular. Nos quatro casos restantes, foi observado padrão grosseiro e evidente de coloração, contornando a superfície plasmocitária com nitidez.

A porcentagem de plasmócitos CD56+ também foi variável. Quatro casos apresentaram expressão da molécula em mais de 50% das células tumorais. Em cinco casos, a expressão foi observada em 10% a 50% das células. Em quatro, a porcentagem foi inferior a 10%, e em sete não houve expressão de CD56.

Entre os casos CD56+, quatro apresentaram expressão discreta; seis, moderada e três, importante.

Tabela 1
Classificação histológica de acordo com o padrão de infiltração medular por MM
e estudo imuno-histoquímico para kappa, lambda e CD56

Casos	Expressão kappa	Expressão lambda	% plasmócitos CD56+	Padrão de coloração CD56	Expressão CD56
01	neg	pos	>50%	++	moderada
02	neg	pos	0%	-	negativa
03	neg	pos	0%	-	negativa
04	neg	pos	>10%	++	moderada
05	pos	neg	>50%	+++	importante
06	neg	pos	>10%	+	moderada
07	neg	neg	<10%	+	discreta
08	pos	neg	>50%	+++	importante
09	pos	neg	>10%	++	moderada
10	neg	pos	<10%	+	discreta
11	pos	neg	>10%	++	moderada
12	pos	neg	<10%	+	discreta
13	neg	pos	<10%	+	discreto
14	pos	neg	>50%	+++	importante
15	pos	neg	0%	-	negativa
16	neg	pos	0%	-	negativa
17	neg	pos	0%	-	negativa
18	neg	neg	0%	-	negativa
19	pos	neg	>10%	++	moderada
20	pos	neg	0%	-	negativa

pos = positivo; neg = negativo

Discussão

A molécula CD56 é uma isoforma da molécula de adesão da célula neural (NCAM), a qual foi a primeira molécula de adesão completamente caracterizada no cérebro, no qual é capaz de mediar a adesão celular na retina.¹² São moléculas da superfamília das imunoglobulinas e, caracteristicamente, promovem a ligação de uma célula a outra (adesão homotípica). Já foram descritas em neoplasias sólidas, como tumor de Wilms,¹³ carcinoma pulmonar de pequenas células,¹⁴ neuroblastoma e sarcoma de Ewing.¹⁵ No tecido hematopoiético normal, as NCAMs são expressas por células "natural-killer" e linfócitos T citotóxicos.¹⁶

As primeiras descrições de expressão de NCAMs por plasmócitos tumorais, no MM, datam do início dos anos 90, quando foi identificada a molécula CD56 na superfície celular tumoral da maioria dos portadores da doença (62% a 78% dos casos) através da citometria em fluxo.¹⁷⁻²⁰ A molécula inexistente em plasmócitos normais.

A interpretação da identificação e caracterização da expressão da molécula no MM não está,

ainda, totalmente esclarecida. É útil na diferenciação entre plasmócitos normais e tumorais, bem como entre plasmócitos do MM e de plasmocitoses reacionais, gamopatias monoclonais benignas e linfomas não-Hodgkin com diferenciação plasmocitóide.^{17,21-22} É possível, também, utilizá-las durante o acompanhamento clínico dos pacientes, discriminando doença estável e em progressão, por um painel de antígenos através de citometria em fluxo.²³ Seu papel como fator prognóstico da doença, no entanto, é controverso.

Alguns estudos descrevem o fenótipo CD56Q como fator associado à leucemização plasmocitária e resposta insatisfatória à terapêutica.²⁴⁻²⁶ Há também evidências de que a expressão de CD56 no MM associa-se à presença de lises ósseas.²¹ Alguns autores, entretanto, não encontraram qualquer correlação entre a expressão de CD56 pelos plasmócitos tumorais e o comportamento clínico da doença.²⁷

Em nosso estudo, a porcentagem de casos cuja expressão da molécula CD56 mostrou-se positiva (65%) foi semelhante aos dados da literatura para citometria em fluxo. Mathew identificou positividade

para a molécula CD56 em 55% dos casos de MM.²⁷ Rawstron e Pellat-Deceunynck encontraram, em seus estudos, 67% de casos de MM CD56+.^{23,28} Barker encontrou 75% de positividade para CD56 entre portadores de MM,²⁰ mesmo índice obtido por Harada.²⁹ Tais resultados validam o estudo imuno-histoquímico como método para determinação da expressão de CD56 em plasmócitos tumorais no MM.

Através do estudo imuno-histoquímico, foi possível identificar padrões variáveis de expressão da molécula, desde pequenas porcentagens de células positivas, com expressão reduzida de CD56 em sua superfície, até o predomínio absoluto de plasmócitos CD56+, com expressão evidente e exuberante da molécula. Talvez a origem das controvérsias em torno do valor prognóstico da molécula CD56 esteja nesta variabilidade de padrões de expressão. A simples definição de presença ou ausência da molécula poderia não ser suficiente para definir o comportamento biológico e a evolução clínica da doença. Seriam necessários outros estudos para comprovar tal hipótese e, neste caso, o estudo imunohistoquímico poderia ser utilizado como método-padrão para identificação da expressão de CD56, pois permite a análise detalhada da expressão da molécula e sua caracterização.

A técnica de identificação de moléculas de membrana por estudo imuno-histoquímico é amplamente difundida entre os serviços de patologia e dispensa o citômetro em fluxo, o qual não está ainda disponível em vários serviços médicos. Assim, a utilização do estudo imunohistoquímico poderia ser uma alternativa viável para a análise dos plasmócitos tumorais, podendo ser aplicada como parte da rotina diagnóstica e, futuramente, para definição de prognóstico e terapêutica.

Além disso, nossos resultados preliminares sugerem que a maior expressão de CD56 teria correlação com plasmócitos mais bem diferenciados, cujo comportamento biológico demonstra maior tendência à permanência no microambiente medular.³⁰ Este comportamento poderia ser responsável por comprometimento ósseo mais importante e curso mais indolente da doença, sugerindo a existência de subgrupos distintos de MM, cujas propostas terapêuticas deveriam ser também distintas.

Abstract

The role of adhesion molecules in the physiopathology of multiple myeloma has been the target of many studies

over the last years. The CD56 expression by neoplastic plasma cells is related to a less aggressive clinical course, and its loss is described in plasma cell leukemia. The evaluation of the CD56 expression may be obtained by flow cytometry, with positivity in 55% to 78% of cases. In this study, we verified the CD56 expression by plasma cells in bone marrow of myeloma patients using immunohistochemistry in samples obtained at diagnosis. We analyzed bone marrow of 20 myeloma patients and performed immunohistochemistry to determine the expression of the kappa and lambda light chains and CD56 by neoplastic plasma cells. The CD56 expression was important in three samples, moderate in six, discrete in four and negative in seven. Immunohistochemistry was valid to determinate CD56 expression by neoplastic plasma cells in myeloma patients, giving similar results when compared with flow cytometry. It was possible to evaluate the variations in the CD 56 expression using this method. Rev. bras. hematol. hemoter. 2003;25 (3): 155-160.

Key words: Multiple myeloma; CD56; adhesion molecule; immunohistochemistry.

Referências Bibliográficas

1. Kyle RA. Multiple myeloma and other plasma cell disorders. In: Hoffman R, Benz Jr EJ, Shaltil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE. Hematology: Basic Principles and Practice. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone 1995, p.1.354-74.
2. Epstein J. Myeloma phenotype: clues to disease origin and manifestation. Hematology/Oncology Clinics of North America 1992;6(2):249-56.
3. Omede P, Boccadoro M, Fusaro A, Gallone G, Pileri A. Multiple myeloma: early plasma cell phenotype identifies patients with aggressive biological and clinical characteristics. British Journal of Haematology 1993; 85:504-13.
4. Caligaris-Cappio F, Gregoret MG. Basic concepts – the plasma cell in multiple myeloma. In: Gahrton G, Durie BGM. Multiple Myeloma 1st ed. London: Arnolds, 1996, p. 22-35.
5. Nishimoto N, Shima Y, Yoshizaki K, Kishimoto T. Myeloma biology and therapy. Hematology/Oncology Clinics of North America 1997;11(1):159-71.
6. Teoh G, Anderson KC. Interaction of tumor and host cells with adhesion and extracellular matrix molecules in the development of multiple myeloma. Hematology/Oncology Clinics of North America 1997;11(1):27-42.
7. Anderson KC, Hamblin TJ, Traynor A. Management of multiple myeloma today. Seminars in Hematology 1999; 36(1):3-8.
8. Klein B, Bataille R. Cytokine network in human multiple myeloma. Hematology/Oncology Clinics of North America 1992;6(2):273-84.

9. Foerster J, Paraskevas F. Multiple Myeloma. In: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. Wintrobe's: Clinical Hematology. 10th ed. Malvern: Lea & Febiger 1998, p. 2.631-80.
10. Kyle RA. Multiple myeloma: an update on diagnosis and management. *Acta Oncologica* 1990;29(1):1-8.
11. Gown AM, Wever N, Battifora H. Microwave-based antigenic unmasking: a revolutionary new technique for routine immunohistochemistry. *Applied Immunohistochemistry* 1999, p.256-66.
12. Hoffman S, Sorkin BC, White PC, Brackenbury R, Mailhammer R, et al. Chemical characterization of a neural cell adhesion molecule purified from embryonic brain membranes. *Journal of Biological Chemistry* 1982; (257):7.720-29.
13. Roth J, Zuber C, Wagner P, Taatjes DJ, Weisgerber C, Heitz PU, Goridis C, Bitter-Suermann D. Reexpression of poly (sialic acid) units of the neural cell adhesion molecule in Wilms tumor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1998;85:2.999.
14. Patel K, Moore SE, Dickson G, Rossell RJ, Beverley PC, Kemshead JT, Walsh FS. Neural cell adhesion molecule (NCAM) is the antigen recognized by monoclonal antibodies of similar specificity in small cell lung carcinoma and neuroblastoma. *International Journal of Cancer* 1989; 44: 573.
15. Lipinski M, Hirsch MR, Deagostini-Bazin H, Yamada O, Twisz T, Goridis C. Characterization of neural cell adhesion molecules (NCAM) expressed by Ewing and neuroblastoma cells lines. *International Journal of Cancer* 1987;40:81.
16. Lanier LL, Le AM, Civin CI, Loken MR, Phillips JH. The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. *Journal of Immunology* 1986;136:4.480.
17. Van Camp B, Durie BGM, Spier C, De Waele M, Van Riet I, Vela E, Frutiger Y, Richter L, Grogan TM. Plasma cells in multiple myeloma express a natural killer cell – associated antigen: CD56 (NKH-1; Leu-19). *Blood* 1990; 76(2):377-82.
18. Drach J, Gattringer C, Huber H. Expression of the neural cell adhesion molecule (CD56) by human myeloma cells. *Clinical and Experimental Immunology* 1991;83: 418-22.
19. Van Riet I, De Waele M, Remels L, Lacor P, Schots R, Van Camp B. Expression of cytoadhesion molecules (CD56, CD54, CD18 and CD29) by myeloma plasma cells. *British Journal of Haematology* 1991;79:421-27.
20. Barker HF, Hamilton MS, Ball J, Drew M, Franklin IM. Expression of adhesion molecules LFA-3 and N-CAM on normal and malignant human plasma cells. *British Journal of Haematology* 1992;81:331-35.
21. Ely AS, Knowles DM. Expression of CD56/neural cell adhesion molecule correlates with the presence of lytic bone lesions in multiple myeloma and distinguishes myeloma from monoclonal gammopathy of undetermined significance and lymphomas with plasmacytoid differentiation. *American Journal of Pathology* 2002;160(4):1.293-99.
22. Sezer O, Heider U, Zavrski I, Possinger K. Differentiation of monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma using flow cytometric characteristics of plasma cells. *Haematologica* 2001;86:837-43.
23. Rawstron AC, Owen RG, Davies FE, Johnson RJ, Jones RA, Richards SJ, Evans PA, Child A, Smith GM, Jack AS, Morgan GJ. Circulating plasma cells in multiple myeloma: characterization and correlation with disease stage. *British Journal of Haematology* 1997;97:46-55.
24. Garcia-Sanz R, Orfão A, Gonzalez M, Taberero MD, Bladé J, Moro MJ, Fernández-Calvo J, Sanz MA, Pérez-Simón JÁ, Rasillo A, San Miguel JF. Primary plasma cell leukemia: clinical, immuno-phenotypic, DNAploidy, and cytogenetic characteristics. *Blood* 1999;93(3):1.032-37.
25. Dahl IMS, Rasmussen T, Kauric G, Husebekk A. Differential expression of CD56 and CD44 in the evolution of extramedullary myeloma. *British Journal of Haematology* 2002;116:273-77.
26. Sahara N, Takeshita A, Shigeno K, Fujisawa S, Takeshita K, Naito K, Ihara M, Ono T, Tamashima S, Nara K. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma. *British Journal of Haematology* 2002;117:882-85.
27. Mathew P, Ahmann GJ, Witzig TE, Roche PC, Kyle RA, Greipp PR. Clinicopathological correlates of CD56 expression in multiple myeloma: A Unique Entity? *British Journal of Haematology* 1995;90:459-61.
28. Harada H, Kawano MM. Phenotypic difference of normal plasma cells from mature myeloma cells. *Blood* 1993;81(10):2.658-63.
29. Pellat-Deceunynck C, Barillé S, Jégo G, Puthier D, Robillard N, Pineau D, Rapp M-J, Harousseau J-L, Amiot M, Bataille R. The absence of CD56 (NCAM) on malignant plasma cells is a hallmark of plasma cell leukemia and of a special subset of multiple myeloma. *Leukemia* 1998;12:1.977-82.
30. Niero-Melo L. Aspectos fisiopatológicos das gamopatias monoclonais – mieloma múltiplo: doença cítica e doença blástica (dissertação). Botucatu (BRA): Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, 1991.

Avaliação: Editor e dois revisores externos
 Conflito de interesse: não declarado

Recebido: 10/12/2002
 Aceito após modificações: 18/06/2003

Recursos financeiros: Trabalho realizado com auxílio-pesquisa concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesp.