



Algoritmo para el Estudio de las Disgammaglobulinemias

**Jornadas de Actualización en Electroforesis.
Organizadas por BG Analizadores para SEBIA.
Aportes al diagnóstico: estudios en líquidos
biológicos.
Fecha: 5 de Octubre de 2006.**

**Dra. Raquel Osatinsky
Bioquímica. Profesora Asociada del Departamento de
Biología. Universidad Argentina John F. Kennedy.
Certificada Especialista en Química Clínica:
Orientación Proteínas. Categoría Consultor. Jefa del
Área Proteínas de MANLAB.**

El método de elección para el estudio de las proteínas séricas, en el laboratorio bioquímico clínico, es el proteinograma electroforético (P.E.). Puede realizarse por métodos manuales y/o automatizados, según la estructura y el volumen de trabajo de cada laboratorio.

¿Es un método cualitativo o cuantitativo? Según el Comité Internacional de Expertos: "No se recomienda la densitometría como método cuantitativo" y además expresa: "La inspección visual de un proteinograma realizado por una persona entrenada, permite efectuar una evaluación semi-cuantitativa de las diversas fracciones proteicas, que dan una información clínica, que no se obtiene de otra manera".

La valoración densitométrica de un P.E., mide la absorción de un colorante por cada fracción que se separa. Habitualmente se obtienen 6 a 7 fracciones: Transtiretina (TTR, Prealbúmina), Albúmina, globulinas α_1 , globulinas α_2 , globulinas β_1 , globulinas β_2 y γ globulinas. Cada fracción contiene más de una proteína, por ejemplo la fracción α_2 involucra a la α_2 haptoglobina, α_2 macroglobulina, α_2 ceruloplasmina, tan solo por mencionar algunas. Además, dicha valoración está referida al valor obtenido de las proteínas totales, razón por la cual la densitometría nos expresa un valor relativo, no absoluto.

¿Por qué entonces se siguen expresando los resultados en valores absolutos? Porque el profesional médico no está informado al respecto, está habituado al resultado numérico y de esa manera controla y/o

monitorea al paciente. Para ser precisos, se debería solicitar la cuantificación de las fracciones proteicas específicas. Por ejemplo, para el valor de las globulinas se debería cuantificar Inmunoglobulina G (Ig G), Inmunoglobulina A (Ig A) e Inmunoglobulina M (Ig M), que son las inmunoglobulinas que se encuentran en mayor cantidad en el organismo. Si se realizara en forma simultánea a la misma muestra un P.E., se valoraría por densitometría la γ globulina y además se cuantificarían las tres inmunoglobulinas, la sumatoria de los tres valores sería más elevada que el valor densitometrado. Esto sucede porque uno es un método Inmunoquímico y el otro Electroforético y además, porque en el P.E. las gammas (γ) corren desde la zona de las alfa 2 (α_2) hasta la de las gammas (γ).

¿Tiene importancia el soporte que se emplea para la realización del P.E.? Generalmente, en el laboratorio clínico se emplean como soporte acetato de celulosa y agarosa. La elección de uno u otro depende de los costos y del volumen de trabajo. La agarosa permite una mejor definición de las fracciones. A los fines clínicos, prácticamente no existen grandes diferencias entre ambos. Se debe ser muy meticuloso al trabajar, para tener una buena reproducibilidad y obtener resultados correctos.

¿Son comparables los resultados empleando métodos manuales y/o automatizados? Deberían serlo. La automatización permite una mejor estandarización del método, además deben emplearse siempre los controles correspondientes.

Pautas para analizar la calidad de un P.E.

- Visualizar con claridad la banda de la TTR en sujetos sanos.
- Detectar algún heterocigoto para α_1 antitripsina.
- Observar en la zona de las α_2 globulinas los principales componentes.
- Observar los dos componentes principales en la zona de las β globulinas.
- Observar con claridad en la zona de las γ los pequeños componentes monoclonales y las patentes oligoclonales.

¿A qué se denomina disgammaglobulinemia? A la alteración que presentan las proteínas en la zona de las globulinas. A éstas se las denominan en la literatura de

diversas maneras, según el período en que se hayan realizado las publicaciones. Si bien no son sinónimos, se las menciona como: Componente Monoclonal, Proteína M, Componente M, Gammapatía Monoclonal, Banda Homogénea y/o Paraproteína.

Las gammapatías monoclonales constituyen un grupo de patologías caracterizadas por la proliferación benigna o maligna de un clon de células plasmáticas que producen una proteína homogénea denominada componente monoclonal.

Las células plasmáticas producen una sola clase y subclase de cadena pesada y un solo tipo de cadena liviana por molécula. Se sintetiza alrededor de un 40% más de cadenas livianas que de las pesadas para permitir una buena conformación de la molécula de inmunoglobulina intacta. Las células plasmáticas producen el doble de cadenas kappa que de cadenas lambda. Las cadenas kappa son normalmente monoméricas, mientras que las lambda tienden a formar dímeros, unidas por uniones disulfídicas.

Las cadenas livianas libres de las inmunoglobulinas, presentan en la región constante de la inmunoglobulina intacta un epítopo oculto. Las células plasmáticas las producen en exceso. Tienen una vida media en suero de pocas horas por su rápido clearance renal.

Normalmente las cadenas livianas se filtran por el riñón, dependiendo la velocidad, del tamaño molecular. El 40% de los monómeros de cadenas kappa libres, se eliminan entre 2 y 4 horas. El 20% de los dímeros de cadenas lambda libres, se eliminan entre 3 a 6 horas. Los polímeros de mayor Peso Molecular se eliminan más lentamente. En los pacientes con Mieloma Múltiple y daño renal, la filtración puede prolongarse 2 a 3 días.

Parámetros que se evalúan para el diagnóstico de una Gammapatía Monoclonal Maligna (GMM)

Los elementos a tener en cuenta para llegar al diagnóstico de una GMM serían:

- Presencia en el P.E. de una banda homogénea.
- Identificación de la misma Inmufijación.
- En las GMM, la presencia de cadenas livianas kappa y/o lambda monoclonales (CM) a expensas de IgG es menor que en las Gammapatías Monoclonales de Significado Indeterminado (MGUS).
- Disminución de las Inmunoglobulinas no involucradas en el CM (Cadenas Livianas kappa y/o lambda monoclonales).
- Cambios evolutivos en los parámetros bioquímicos.
- Se observa mayor frecuencia de proteinuria de Bence Jones.
- Alteraciones cromosómicas 13 (13 q-) (trasl 14q 32).
- Aumento de la Interleucina 6 (IL6).

La proteinuria de Bence Jones, no debe diagnosticarse con tiras reactivas para orina. Las mismas detectan tan solo la fracción albúmina. Además, la prueba de termosolubilidad es obsoleta, por cuanto existe un 60% de proteínas de Bence Jones (cadenas livianas monoclonales en orina) que no son termosolubles.

Para investigar proteinuria de Bence Jones (cadenas livianas monoclonales en orina), es necesario realizar un uroproteinograma y observar la presencia o no de una banda homogénea. Para verificar que corresponden a cadenas livianas se debe realizar una inmufijación de la muestra de orina.

Las Gammapatías Monoclonales de Significado Indeterminado (MGUS), son generalmente hallazgos de laboratorio. No presentan signos ni síntomas clínicos. En el P.E. se observa una banda homogénea que en la mayoría de los casos corresponde a Inmunoglobulina G, pero también puede ser Inmunoglobulina A o Inmunoglobulina M. La frecuencia en la población general oscila entre el 1 y el 3%, el porcentaje aumenta con la edad de los individuos. Se suelen encontrar al evaluar otras patologías no relacionadas.

El seguimiento de los pacientes con MGUS en el tiempo, ha demostrado que siguen siendo asintomáticos por largos períodos, pero también pueden desarrollar serias alteraciones de las células plasmáticas transformándose en Mielomas Latentes (ML), Macroglobulinemias de Waldenström (MW), Mieloma Múltiple (MM), Amiloidosis Sistémica (AL) o cualquier otro desorden linfoproliferativo.

El grupo de la Mayo Clinic, liderado por el Dr. Kyle y col., pioneros en el estudio y seguimiento de las MGUS, en una de sus últimas publicaciones sobre 1384 individuos que presentaban esta enfermedad, con una edad promedio al diagnóstico de 72 años, observaron que el 8% de los mismos desarrollaron MM, AL, MW u otra enfermedad linfoproliferativa. El riesgo de la progresión fue de 1% por año. El 65% desarrolló MM a los 10 años de diagnosticarse la MGUS.

Criterios de daño orgánico en el Mieloma Múltiple (Br.J.Haemt. 2003; 121: 749)

- Calcio sérico aumentado: >12,0 mg/dL
- Insuficiencia renal: creatinina > 1,30 mg/dL
- Anemia: Hemoglobina < 10,0 g/dL
- Lesiones óseas: lesiones líticas, osteoporosis con fracturas por compresión (se aclaran con MRI o CT)
- Pueden observarse síntomas de hiperviscosidad, amiloidosis, infecciones bacterianas recurrentes (> de 2 episodios en 12 meses)
- CRAB (Aumento de Calcio, Insuficiencia Renal, Anemia, Lesiones líticas [Bome])

Algoritmo para el estudio de una Gammapatía Monoclonal

1- Proteinograma Electroforético, en agarosa y/o acetato de celulosa.



2- Identificar el Componente Monoclonal en suero por inmunofijación (IF), (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE y cadenas livianas kappa y lambda).

3- Cuantificar las inmunoglobulinas séricas por Inmunodifusión radial (IDR), Inmunonefelometría (IN) y/o Inmunoturbidimetría (IT).

4- Estudiar proteínas en orina (en forma simultánea, si es posible). Realizar Uroproteinograma, con o sin métodos de concentración, para ver o no la presencia de CM (Cadenas Livianas kappa y/o lambda monoclonales).

5- Identificar el CM de la orina por Inmunofluorescencia (IF).

6- Determinación de $\beta 2$ microglobulina sérica.

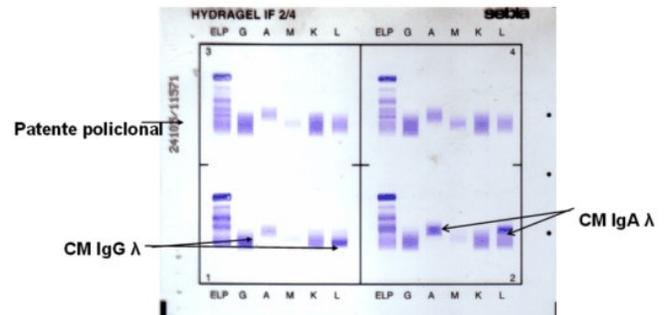
7- Identificado y cuantificado el CM, se puede monitorear al paciente realizando un P.E. y cuantificación de las Inmunoglobulinas y de la $\beta 2$ microglobulina. Si en el PE se observan cambios de movilidad y/o presencia de otro CM, se vuelven a repetir todos los estudios, incluido el de orina.

8- La frecuencia de los estudios de laboratorio depende del médico tratante.

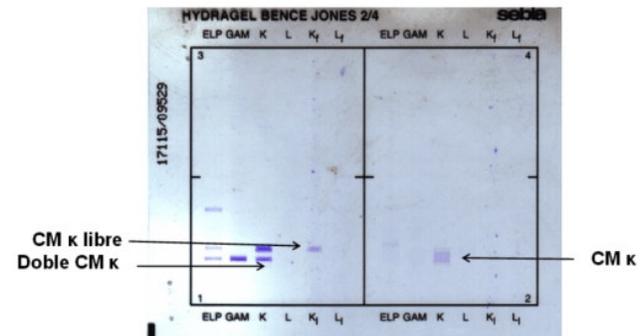
9- De ser posible y de acuerdo a las Nuevas Pautas, se recomienda determinar: Cadenas livianas libres en suero (para el seguimiento de las MGUS, mieloma no secretor, SMM y Amiloidosis Primaria).

10- Cuantificación de albúmina (por métodos adecuados), ante un MM diagnosticado con CM elevado y sobre todo una vez instalado el tratamiento.

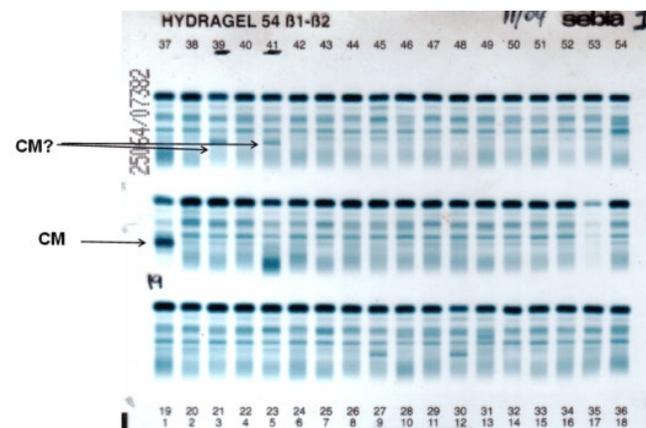
IF en agarosa, método automatizado (con máscara dinámica)



IF en agarosa de orina, método automatizado (con máscara dinámica)



PE en agarosa, método automatizado



MANLAB[®]
Diagnóstico Bioquímico