



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE LABORATORIO CLÍNICO

**“INMUNOTIPIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN
DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN SANGRE DE
PACIENTES CON GAMMAPATÍAS
MONOCLONALES EN PORTOVIEJO.”**

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE LICENCIADO DE LABORATORIO CLÍNICO

AUTORES
TALLEDO PINARGOTE DIEGO ANTONIO
ZAMORA CEDEÑO ARON RAFAEL

TUTORA
LCDA. IVÓN HOWLAND MSC.

PORTOVIEJO, 2019

DEDICATORIA

A mis familiares, en especial a mis padres Luis Talledo y Verónica Pinargote quienes han sido mi guía en cada etapa de mi vida y mi motivación para seguir adelante. A mi tía Lorena Pinargote, mi segunda mamá y pilar fundamental en mi formación personal y académica.

A mi hermano, mis tías y primos (as) que siempre han estado apoyándome y motivándome día a día. A mis amigos y amigas en especial a Gema Navarrete (Lupita) por sus palabras de aliento, consejos y apoyo incondicional.

Diego Talledo.

Con mucho amor a mi mamá Florisa Cedeño por siempre apoyarme en todo momento, por fomentar fortaleza en mí, enseñarme perseverancia, empeño y coraje para cumplir con mis objetivos. A mis hermanos porque siempre serán parte de mi vida a pesar de cada dificultad.

A todos mis amigos del colegio y universidad que forman y estarán en cada logro y fracaso de mi camino mostrándome el lado divertido de la vida, convirtiéndose en una segunda familia para mí.

Aron Zamora.

AGRADECIMIENTOS

A todos los familiares, amigos y personas que fueron parte en cada paso del camino, que supieron apoyarnos cuando fue necesario.

A los docentes que nos enriquecieron de sus conocimientos y experiencias.

Y, en especial a nuestra tutora Ivón Howland, por toda su paciencia, enseñanzas, cariño y apoyo en cada etapa de la investigación y de formación académica.

Diego Talledo.

Aron Zamora.

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, la Lcda. IVÓN HOWLAND ALVAREZ, tengo a bien certificar que el trabajo de Titulación “INMUNOTIPIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN SANGRE DE PACIENTES CON GAMMAPATÍAS MONOCLONALES EN PORTOVIEJO.” Ejecutado por: TALLEDO PINARGOTE DIEGO ANTONIO y ZAMORA CEDEÑO ARON RAFAEL. Se encuentra concluida en su totalidad.

El presente trabajo es original de los autores y ha sido realizado bajo mi dirección y supervisión, habiendo cumplido con los requisitos reglamentarios exigidos para la elaboración de un Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio Clínico. Es todo lo que puedo certificar en honor a la verdad.

MSC. IVÓN HOWLAND ALVAREZ
TUTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICACIÓN DEL REVISOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Certifico que el presente trabajo de “INMUNOTIPIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN SANGRE DE PACIENTES CON GAMMAPATÍAS MONOCLONALES EN PORTOVIEJO.”. Ha sido revisado por mi persona.

Considero que dicho informe reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometidos a la evaluación del jurado examinador del Honorable Consejo Directivo para continuar con el trámite correspondiente de ley.

DR. JORGE CAÑARTE ALCIVAR
REVISOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICACIÓN DE LOS AUTORES DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, egresados de la escuela de Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias de la Salud, Talledo Pinargote Diego Antonio y Zamora Cedeño Aron Rafael, autores del Trabajo de Titulación: “INMUNOTIPIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN SANGRE DE PACIENTES CON GAMMAPATÍAS MONOCLONALES EN PORTOVIEJO.”, certificamos que se realizaron todas las correcciones indicadas por nuestra tutora MSC. Ivón Howland Álvarez, con lo cual se concluye nuestro trabajo de Titulación.

Es todo cuanto podemos certificar en honor a la verdad, con la finalidad de continuar con el trámite correspondiente para la designación de tribunal de revisión, titulación y evaluación, además de fecha de sustentación del trabajo de titulación

TALLEDO PINARGOTE DIEGO A.

ZAMORA CDEÑO ARON RAFAEL

DECLARACIÓN SOBRE DERECHOS DE AUTOR

Nosotros, TALLEDO PINARGOTE DIEGO ANTONIO Y ZAMORA CEDEÑO ARON RAFAEL, egresados de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Laboratorio Clínico de la Universidad Técnica de Manabí, declaramos que el presente trabajo de Titulación “INMUNOTIPIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN SANGRE DE PACIENTES CON GAMMAPATÍAS MONOCLONALES EN PORTOVIEJO.”, es de nuestra completa autoría y ha sido realizado bajo absoluta responsabilidad, y con la supervisión del tutor del trabajo de titulación.

Toda responsabilidad con respecto a las investigaciones con sus respectivos resultados, conclusiones y recomendaciones presentadas en este trabajo de Titulación, pertenecen exclusivamente a los autores.

INDICE

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN	III
CERTIFICACIÓN DEL REVISOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	IV
CERTIFICACIÓN DE LOS AUTORES DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	V
DECLARACIÓN SOBRE DERECHOS DE AUTOR	VI
RESUMEN	IX
ABSTRACT.....	X
GLOSARIO DE ABREVIATURAS	XI
CAPÍTULO 1.....	1
1.1 INTRODUCCIÓN	1
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.3 ANTECEDENTES	5
1.4 JUSTIFICACIÓN	8
1.5 DELIMITACIÓN	9
1.6 OBJETIVOS	10
1.6.1 Objetivo general.....	10
1.6.2 Objetivos específicos	10
CAPÍTULO 2.....	11
2.1 MARCO TEÓRICO.....	11
2.1.1 GAMMAPATÍAS MONOCLONALES	11
2.1.2 GAMMAPATÍAS MONOCLONALES DE SIGNIFICADO INCIERTO (GMSI)..	11
2.1.3 MIELOMA MÚLTIPLE.....	12
2.1.4 MM NO SECRETOR U OLIGOSECRETOR (MMNS).....	14
2.1.5 MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM	14
2.1.6 AMILOIDOSIS.....	15
2.1.7 PROTEÍNA DE BENICE JONES.....	15
2.1.8 ENFERMEDAD RENAL POR DEPÓSITO DE LAS CADENAS LIGERAS Y PESADAS.....	16
2.1.9 CRITERIOS DEL <i>International Myeloma Working Group</i> (IMWG 2018) EN EL DIAGNÓSTICO DE GM. Tabla 1.	17
2.1.10 ESTADIFICACION DEL MM.....	18
2.1.11 DIAGNÓSTICO DE GAMMAPATÍAS MONOCLONALES	19
2.1.12 ESTUDIO DE LABORATORIO DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES.	

2.2	VARIABLES	29
2.2.1	VARIABLE INDEPENDIENTE	29
2.2.2	VARIABLE DEPENDIENTE	29
2.3	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	29
2.3.1	VARIABLE INDEPENDIENTE	29
2.3.2	VARIABLE DEPENDIENTE	30
CAPÍTULO 3.....		32
3.1	DISEÑO METODOLÓGICO	32
3.1.1	TIPO DE INVESTIGACIÓN	32
3.1.2	MODALIDAD DE INVESTIGACIÓN.....	32
3.1.3	TIEMPO Y ÁREA DE ESTUDIO.....	32
3.1.4	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	32
3.1.5	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	32
3.1.6	MÉTODOS, INSTRUMENTOS Y TÉCNICAS	33
3.1.6.1	MÉTODOS	33
3.1.6.2	TÉCNICAS	33
3.1.6.3	OBTENCIÓN DE MUESTRAS	35
3.1.6.4	VALORES DE REFERENCIA	35
3.1.6.5	DEFINICIÓN DE VARIABLES ESTUDIADAS	35
3.1.8	FUENTES DE INFORMACIÓN.....	38
3.1.9	RECURSOS	38
3.1.10	ASPECTOS ÉTICOS.....	38
CAPÍTULO 4.....		40
PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....		40
CAPÍTULO 5.....		65
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	65
5.1	CONCLUSIONES	65
5.2	RECOMENDACIONES.....	66

RESUMEN

Las gammopatías monoclonales (GM) son un grupo de trastornos caracterizados por la existencia de un clon de células plasmáticas que producen una inmunoglobulina homogénea, denominada componente monoclonal (CM) en cantidades excesivas, las cuales interfieren en el normal funcionamiento de los riñones, favorecen el desarrollo de infecciones y están asociadas a lesiones osteolíticas. La estrategia para el diagnóstico de GM se basa en las consideraciones del Grupo Internacional de trabajo para el Mieloma Múltiple (MM). El objetivo de este trabajo consistió en determinar la importancia de los resultados de inmunotipificación (IT) y de cuantificación de cadenas ligeras libres en sangre (CLLs) de pacientes con GM en Portoviejo. Se evaluaron 237 electroforesis de proteínas (ELP), 42 IT y 58 CLLs realizados en Laboratorios Gamma, desde enero a julio del 2019. Las muestras fueron de pacientes enviados de diferentes servicios de Hematología de la región, incluyendo SOLCA-Manabí y el Hospital de Especialidades. Los resultados se obtuvieron a partir de las técnicas de Sebia ELP e IT (Minicap Flex Piercing) y de Seralite (con lector ADxLR5® de Abingdon). Además, se revisaron los resultados de la base de datos de Laboratorios Gamma en los casos que tenían cuantificación de cadenas ligeras totales (CLT) kappa (κ) y lambda (λ) los cuales se realizaron en un laboratorio externo. El 14% de las ELP estudiadas fueron GM, la mayoría pacientes del género masculino, el promedio de edad fue de 64 años, con un intervalo de 31-87 años. Más de la mitad de los casos tenían diagnóstico clínico de MM de los cuales el 15% de los pacientes masculinos eran menores de 40 años. De las IT realizadas el 69% dieron positivas, la mayoría con un único componente monoclonal de tipo IgG κ aunque se observaron componentes oligoclonales, pero esta prueba no demostró utilidad en el diagnóstico de los casos con MM no secretor. El 91% del total de las CLLs realizadas presentaron resultados de la relación κ/λ mayores a los valores de referencia por lo esta prueba aumentó la posibilidad de detección de MM. Los resultados del ratio κ/λ por la técnica de CLL fueron significativamente mayores a los reportados por la prueba tradicionalmente usada de CLT. A la mayoría de los pacientes con MM diagnosticados clínicamente les dieron positivas tanto la IT como el ensayo de CLL, corroborándose en los casos negativos un valor pronóstico de remisión de la enfermedad.

Palabras claves: Gammopatía monoclonal, componente monoclonal, electroforesis, inmunotipificación, cadenas ligeras libres, inmunoglobulina.

ABSTRACT

Monoclonal gammopathies (MG) are a group of disorders characterized by the existence of a clone of plasma cells that produce a homogeneous immunoglobulin, called a monoclonal component (MC) in excessive amounts, which interfere with the normal functioning of the kidneys, favor the infection development and are associated with osteolytic lesions. The strategy for the diagnosis of GM is based on the considerations of the International Myeloma Working Group. The objective of this work was to determine the importance of the results of immunotyping (IT) and quantification of free light chains in blood (FLC) of patients with GM in Portoviejo. 237 protein electrophoresis (PEL), 42 IT and 58 FLC performed in Gamma Laboratories were evaluated from January to July 2019. The samples were from patients sent from different Hematology services in the region, including SOLCA-Manabí and the Hospital de Specialties. The results were obtained from the techniques of Sebia PEL and IT (Minicap Flex Piercing) and Seralite (with Abingdon ADxLR5® reader). In addition, the results of the Gamma Laboratories database were reviewed in cases that had quantification of total light chains (TLC) kappa (κ) and lambda (λ) which were performed in an external laboratory. 14% of the PEL studied were MG, the majority of them were male patients, the average age was 64 years, with an interval of 31-87 years. More than half of the cases had a clinical diagnosis of Multiple myeloma (MM), of which 15% of male patients were under 40 years of age. Of the IT carried out, 69% tested positive, the majority with a single monoclonal component of the IgG κ type although oligoclonal components were observed, but this test did not prove useful in diagnosing cases with non-secretory MM. 91% of the total FLC performed presented results of the κ/λ ratio greater than the reference values, so this test increased the possibility of MM detection. The results of the κ/λ ratio by the FLC technique were significantly higher than those reported by the traditionally used TLC test. The majority of patients with clinically diagnosed MM were positive for both the IT and the FLC trial, confirming in the negative cases a prognostic value of disease remission.

Keywords: Monoclonal gammopathy, monoclonal component, electrophoresis, immunotyping, free light chains, immunoglobulin.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

AL: Amiloidosis

Alb: Albúmina

B2M: β 2 microglobulina

Ca: Calcio

CLL/CLLs: Cadenas Ligeras Libres en suero

CLT: Cadenas Ligeras Totales

CM: Componente Monoclonal

CP: Célula Plasmática

Crea: Creatinina

ELP: Electroforesis de Proteínas

GM: Gammapatía Monoclonal

GMSI: Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto

Hb: Hemoglobina

IF: Inmunofijación

Ig/Igs. Inmunoglobulina/s

IMWG: International Myeloma Working Group (siglas en inglés)

ISS: International Staging System (siglas en inglés)

ITP/IT: Inmunotipificación

MM: Mieloma Múltiple

MO. Médula Ósea

MW: Macroglobulinemia de Waldeström

PBJ: Proteína de Bence Jones

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN

Una Gammapatía monoclonal (GM) se define como un trastorno proliferativo de linfocitos B, caracterizado por la producción de una proteína monoclonal o componente monoclonal (CM). El CM producido por este clon anormal de células plasmáticas (CP) puede estar presente en forma de inmunoglobulina (Ig) completa, normalmente asociada a una cadena ligera kappa (κ) o lambda (λ). El diagnóstico de GM, se basa en un conjunto de diferentes pruebas de laboratorio, siendo las más comunes: la electroforesis de proteínas en suero y en orina, para la identificación de una banda monoclonal; la inmunofijación de suero y orina para la caracterización del CM junto con las determinación de las Cadenas Ligeras Libres (CLLs) (1).

La electroforesis de proteínas (ELP) es una metodología que permite separarlas en función de su tamaño y carga eléctrica. Cuando se separan las proteínas de un fluido biológico por electroforesis, éstas forman unos patrones característicos de bandas de distinta anchura e intensidad, que reflejan la mezcla de proteínas presentes en la muestra analizada. Este patrón se divide en cinco fracciones mayoritarias, conocidas como albúmina, alfa-1, alfa-2, beta, y gamma. A veces, la fracción beta se subdivide en beta-1 y beta-2. La albúmina (Alb), producida en el hígado, representa aproximadamente el 60% de las proteínas séricas. Con el término “globulinas” se está aludiendo al resto de proteínas diferentes de la albúmina (2).

El proteinograma electroforético es el primer estudio de laboratorio empleado para la detección y seguimiento de las GM. Se puede realizar con técnicas manuales o automatizadas. En la actualidad se utilizan sobre soportes de agarosa o acetato de celulosa. Una alternativa que ofrece grandes ventajas es la electroforesis capilar (3).

Independiente del método utilizado es fundamental que se realice la cuantificación densitométrica del pico monoclonal, ya que es el parámetro que permite evaluar la evolución y la respuesta terapéutica para determinar períodos de progresión, remisión y recaída. Para la tipificación inmunológica del CM puede apelarse al método clásico de la inmunoelectroforesis (IEF) con antisueros específicos anti cadenas pesadas y anti

cadenas livianas o al método de la inmunofijación (IF). Si bien la metodología de mayor sensibilidad para evaluar monoclonalidad es sin duda la IF, existe una versión más reciente de la electroforesis capilar que es la inmunotipificación (ITP) que tiene un grado de sensibilidad muy aceptable además de que no utiliza colorantes, lo cual lo hace más inocua para el medio ambiente.

Mediante la ITP se identifican inmunológicamente a las distintas clases de cadenas pesadas de tipo IgG, IgA, IgM, IgD e IgE y a los distintos tipos de cadenas ligeras kappa y lambda, para determinar el origen clonal (mono o policlonal) de la Ig involucrada o sus fragmentos (4).

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los desórdenes de las células plasmáticas (CP) incluyen un amplio espectro evolutivo iniciando con una fase premaligna, denominada Gammapatía Monoclonal de significado incierto (GMSI) la cual está presente en el 3,2% de la población alrededor de 50 años, esta se caracteriza por la aparición de una población clonal de CP con secreción de una gammaglobulina clonal, que puede evolucionar posteriormente a una fase denominada Mieloma Múltiple (MM) indolente o asintomático (3).

Tanto el MM como otras GM aún no tienen cura, estas son estudiadas cada vez más por investigadores, pues el índice de supervivencia es alrededor de 5 a 8 años una vez diagnosticada la enfermedad, y por lo general se presenta en edades y etapas avanzadas cuando ya son evidentes lesiones osteolíticas y/o daños multisistémicos. Uno de los grandes retos en la actualidad es establecer métodos de prevención, diagnóstico y seguimiento oportunos, los que ayudarían a mejorar la calidad de vida del paciente (5).

En la revista *American Journal of Hematology*, Rajkumar (2018), manifestó que el MM representa el 1% de todos los cánceres y el 10% de las neoplasias hematológicas malignas. Además, cada año en Estados Unidos se diagnostican alrededor de 30.000 casos nuevos, de los cuales alrededor 12.000 pacientes mueren por dicha enfermedad (6).

Tanto en Ecuador como en Manabí existen pocas investigaciones que describan la importancia de un adecuado diagnóstico de las GM, de la correcta utilización de los métodos y técnicas de ELP, IT y CLLs para la detección del CM y seguimiento de la enfermedad, como lo detallan guías internacionales.

Por consiguiente, se pretende inmunotipificar y cuantificar las cadenas ligeras libres en suero de pacientes con Gammapatías Monoclonales en Portoviejo. Y por ello que se han formulado las siguientes preguntas:

¿Cuáles son las características sociodemográficas, analíticas y clínicas, antecedentes patológicos personales y familiares, ocupación de los pacientes con gammapatías monoclonales?

¿Son todas las electroforesis positivas para la presencia del componente monoclonal realmente gammapatías monoclonales?

¿Cuál es el valor clínico y diagnóstico de la cuantificación de cadenas ligeras libres en GM con electroforesis positivas y negativas para la presencia componente monoclonal?

¿Cuál es la relación entre los análisis de determinación de monoclonalidad y su utilidad clínica en el diagnóstico de las gammapatías monoclonales?

1.3 ANTECEDENTES

En la actualidad, algunas de las neoplasias hematológicas son incurables, una de ellas es el MM, una enfermedad maligna y sistémica, la cual resulta de la producción descontrolada de un clon de CP, provenientes de los linfocitos B, en la cual se evidencia una producción anómala de una proteína M en suero, en orina o en ambas. Esta es la neoplasia hematológica más frecuente después del Linfoma no Hodgkin y, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), representa el 1% de todas las neoplasias y alrededor del 10% al 15% de las neoplasias hematológicas (7).

Las discrasias de CP comprenden un extenso espectro progresivo que inician con una fase premaligna, GMSI, la cual está presente en el 3,2% de la población que se encuentran alrededor de 50 años (3). Anualmente se evidencian 30.000 nuevos casos en los Estados Unidos, de los cuales cerca de 12.000 mueren por causa de esta enfermedad (8).

En América Latina las investigaciones genéticas y epidemiológicas son escasas, resaltando investigaciones procedentes de países como Argentina, Brasil, Chile y México, siendo hasta el 2013 los únicos países que documentaron información clínica y/o genética del MM (9).

Estudios de paleopatología llevados a cabo por la Universidad de Granada, en la necrópolis de Qubbet el Hawa (Asuán, Egipto), dieron a conocer resultados de tomografías computarizadas de cuatro momias, dos de ellas fechadas 2000 años a.C, se logró identificar los casos más antiguos de cáncer de mama y MM conocidos hasta la actualidad (10). El Dr. Samuel Solly, describió a los dos primeros pacientes con MM, quién le asigno el nombre de *mollities ossium*, el primero de 44 años de edad y la segunda de 39 años, ambos en 1845. El Dr. Henry Bence J. estudió especímenes de orina describiendo las conocidas proteínas de Bence Jones (PBJ). Para el año de 1873, Rustizky acuñó por primera vez el término "mieloma múltiple" en un paciente para describir las múltiples lesiones óseas (11).

En 1900 James Homer Wright, publicó sus investigaciones de plasmocitos, evidenciando que eran células malignas del mieloma. Posteriormente en 1927, Arinkin,

resaltó la importancia del aspirado de médula ósea en el diagnóstico de MM. En 1938 Rosental y Vogel confirmaron esta afirmación. Para el año de 1928 Perlzweig y col. evidenciaron una hiperglobulinemia. Longsworth y colaboradores en 1939 utilizaron la electroforesis para el estudio del MM evidenciando la presencia del pico monoclonal (11). En 1953 se empezó a utilizar la inmunoelectroforesis que permitió la identificación específica de la Ig monoclonal (12). 1956 con ayuda de los trabajos de Korngold y Lipari demostraron la relación entre la proteína de BJ y las séricas del MM (la designación de CL κ y λ se hizo en honor a estos investigadores) (11).

Basados en el hecho de que era difícil el diagnóstico preventivo y la enfermedad era detectada en estadios de comprometimiento sistémico, en 1975 se desarrolló el sistema de estadificación del MM de Durie-Salmon, que conjunta los principales parámetros clínicos en correlación con la masa de células en mieloma cuantificados y con énfasis en los rangos clínicos de cada paciente de manera individual. En 2005 se creó un nuevo sistema por parte del *International Myeloma Working Group* (IMWG), auspiciado por la *International Myeloma Foundation* (IMF) con base en los datos clínicos y de laboratorio de 10.750 pacientes con mieloma sintomático sin tratamiento previo, correspondiente a 17 instituciones localizadas en América del Norte, Europa y Asia: El Sistema de Estadificación Internacional (ISS, en inglés *International Staging System*) después de evaluar diversas variables, el grupo concluyó que la combinación de B2M y Alb sérica representa el mejor poder de predicción. El ISS es el usado con más frecuencia en la actualidad, una vez diagnosticado la enfermedad (13).

En el 2009, el IMWG estableció las primeras normas publicadas para el diagnóstico de MM mediante criterios definidos. El IMWG publica las directrices para el análisis en el diagnóstico y seguimiento del mieloma, además de las pruebas de laboratorio tradicionales lo cual en conjunto a las técnicas de imagen ayuda a clasificar mejor las opciones de tratamiento, evaluar la extensión de la enfermedad y estadificar el MM (13).

En un artículo de la Agencia Iberoamericana para la Difusión de la Ciencia y Tecnología indica que el Registro Nacional de Tumores de la Sociedad de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA), en las últimas estadísticas del año 2013 muestra que el MM se encuentra entre los primeros 25 tumores en el Ecuador, registrando un 54% de

casos en hombres, un 46% en mujeres y que el 14% tenían correlación con el curtido de cuero y la agricultura; en rasgos generales desde el año 86 han aumentado el número de casos de MM en el país (9).

El laboratorio clínico juega un papel trascendental, no solo para el diagnóstico de GM, sino también para el control y evolución de la enfermedad. Las GM descritas inicialmente por Waldstrom, describe la aparición tanto en sangre como en otros líquidos corporales una inmunoglobulina (Ig) compuesta por una sola clase de cadenas pesadas (IgG, IgA, IgM, IgD e IgE) y un solo tipo de CL (κ o λ); sintetizadas por las CP en la médula ósea (MO). En la época de los 60, de la mano de investigaciones de dilucidación de las estructuras de los anticuerpos (Ac), se logró demostrar que las Ig no diferían estructuralmente de Ig normales (policlonales) representando el primer "marcador específico" de tumores (14).

En la actualidad se dispone de varios métodos para el diagnóstico de las GM, uno de ellos es el proteinograma, el cual evidencia el estado en que se encuentra el individuo acorde a las diferentes patrones, demostrando diversas patologías según la alteración de las diferentes fracciones (15).

Otra técnica que demuestra una mayor sensibilidad para la evaluación del CM es la tipificación inmunológica por el método de inmunotipificación con antisueros específicos que bien puede realizarse por técnicas manuales o automatizadas (14). La cuantificación de los niveles de β 2 Microglobulina (B2M) es muy importante para la estadificación de los pacientes con MM y como factor pronóstico. A todas estas técnicas se suma el ensayo de CLLs, una de las técnicas más actuales, la cual aporta una mayor sensibilidad para la identificación del componente monoclonal, principalmente en los pacientes con MM no secretor (8).

1.4 JUSTIFICACIÓN

En la provincia de Manabí no se dispone de estudios preliminares que permitan el diagnóstico oportuno y adecuado seguimiento de las gammapatías monoclonales, entre las que se encuentran mayoritariamente el MM. A pesar de los avances en el conocimiento de la patogénesis del MM y de la generación de agentes farmacológicos, el MM sigue siendo una neoplasia incurable, que constituye uno de los cánceres más mortíferos porque no es detectada a tiempo en su fase de GMSI.

A pesar de su comportamiento clínico radicalmente distinto, tanto la GMSI como el MM asintomático y sintomático comparten aparentemente la misma célula plasmática neoplásica, clonal y aberrante. Con el fin de desentrañar mecanismos patogénicos en la historia natural de progresión en etapas tempranas, se propone estudiar pacientes con gammapatías asintomáticas y pacientes con diagnóstico de MM con y sin tratamiento, por detección electroforética del CM en suero o en orina, confirmado mediante inmunofijación y/o CLLs, además esta prueba se considera de gran utilidad en los casos en que la inmunotipificación no arroje los resultados concluyentes.

Se espera con los resultados demostrar la necesidad de que se comprenda la importancia del diagnóstico precoz en estos pacientes, dada la frecuencia de MM en la provincia de Manabí. Se espera además, poder mitigar los gastos financieros personales y sociales que puedan producirse al tratar los eventos adversos de estas enfermedades a partir de la adopción de un régimen preventivo. Los resultados serán determinantes para detectar y monitorizar la anomalía, lo cual adicional al estudio en médula, garantizará una evidencia para tomar una conducta preventiva adecuada dadas las frecuentes recidivas del MM.

1.5 DELIMITACIÓN

CAMPO DETALLADO: Bioquímica/Hematología

ÁREA DE CONOCIMIENTO: Salud

ASPECTO: Caracterización de gammapatías monoclonales.

SUJETO DE ESTUDIO: Resultados de electroforesis de proteínas, inmunotipificación y cuantificación de cadenas ligeras libres y totales.

ÁREA GEOGRÁFICA: Provincia de Manabí, cantón Portoviejo.

TIEMPO ESTIMADO: De enero a julio del 2019

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Pruebas diagnósticas

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo general

Determinar la importancia de los resultados de inmunotipificación y de cuantificación de cadenas ligeras libres en sangre de pacientes con gammapatías monoclonales en Portoviejo.

1.6.2 Objetivos específicos

Caracterizar las gammapatías monoclonales encontradas de acuerdo a las variables sociodemográficas, análisis electroforéticos y diagnóstico clínico presente al momento de la primera electroforesis.

Analizar los resultados de las electroforesis de inmunotipificación de las gammapatías monoclonales encontradas.

Revisar los valores de la concentración de cadenas ligeras libres involucrada y no involucrada, así como del radio kappa/lambda.

Establecer la relación entre los resultados de las pruebas en la detección de monoclonalidad y la utilidad clínica de las mismas en el diagnóstico clínico de las gammapatías monoclonales.

CAPÍTULO 2

2.1 MARCO TEÓRICO

2.1.1 GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

Las GM engloban a un grupo de enfermedades caracterizadas por la secreción excesiva de Inmunoglobulinas (Ig) o un fragmento de la misma, cadenas pesadas de tipo IgG, IgA, IgM, IgD e IgE o CL κ y λ . Tanto las pesadas como las ligeras son producidas por separado, posteriormente se unen y son secretadas hacia la sangre. Para asegurar la correcta conformación de Ig, las CP producen exceso de CL cuyo excedente es secretado conjuntamente con las Ig completas. De esta forma, el 40 % de las CL se encuentran libres en el suero, no unidas a cadenas pesadas(8).

Las Ig son sintetizadas por CP de la MO, en condiciones patológicas pueden depositarse en varios órganos, principalmente en el riñón (1). La magnitud de las patologías, manifestaciones clínicas, afecciones a la salud del paciente y supervivencia a estas entidades no solo se relaciona con la proliferación celular de células neoplásicas, sino también al daño que pueden llegar a causar el depósito de estas proteínas monoclonales en los diferentes órganos o a través de diferentes mecanismos patogénicos complejos, dentro de los cuales podemos encontrar la autoinmunidad, inflamación y fibrogénesis (16).

El grupo de enfermedades dentro de las GM es diverso, lo cual lo refleja tanto en las manifestaciones clínicas como en su pronóstico. Se clasifican en no malignas o pre malignas y malignas.

2.1.2 GAMMAPATÍAS MONOCLONALES DE SIGNIFICADO INCIERTO (GMSI)

En el grupo de las GM, la GMSI es la más común y se caracteriza por la presencia de un CM de tipo IgA, IgM, IgG en el suero (17). Estas son benignas y asintomáticas, pueden presentarse aisladas o asociadas a otras patologías subyacentes: enfermedades autoinmunes, reumatismos, hemopatías, endocrinopatías, enfermedades infecciosas, entre otras (3).

La GMSI es un trastorno premaligno asintomático caracterizado por una producción limitada de CP y por la presencia de CM estable en el suero o, presentándose en raras ocasiones en la orina en ausencia clínica patológica de Mieloma múltiple (MM), Macroglobulinemia de Waldeström (MW), Amiloidosis (AL) u otra enfermedad linfoproliferativa. Su prevalencia es de 3,2% ≥ 50 años en un gran estudio poblacional, siendo más frecuente en afroamericanos que en caucásicos, la prevalencia aumenta con la edad, el 1% progresa a MM, MW, AL, y, se diagnostica 4 veces más que el MM (18).

La GMSI suelen ser asintomática, con aumento de VSG, de globulinas, no hay signos físicos anómalos, ausencia de progresión y de signos adicionales de neoplasias malignas linfoproliferativa de CP (18).

2.1.3 MIELOMA MÚLTIPLE

El MM es una neoplasia de un clon de CP caracterizadas por presentar una banda monoclonal (BM), infiltración de la MO por CP y daño órgano blanco. Estima al 2% de las neoplasias y al 13% de las hemopatías malignas. También se determina por el daño orgánico secundario a la reproducción clonal que define al MM (insuficiencia renal, hipercalcemia, lesiones óseas, anemia) (3). Su incidencia aumenta con la edad, siendo más frecuente entre los 50-70 años y presentándose con menos frecuencia antes de los 35 años. Es una patología heterogénea, puesto que hay pacientes que fallecen a las semanas de su diagnóstico, mientras que, otros viven hasta 10 años (19).

Esta es una neoplasia de hemoblastos diferenciados terminalmente en plasmocitos, que se caracteriza por sustitución de la médula ósea, destrucción de hueso y formación de paraproteína o CM. El diagnóstico se confirma cuando los plasmocitos monoclonales (de CL κ o λ restringida) en la MO (cualquier porcentaje) o en forma de tumor (plasmocitoma) o en ambas presentaciones, se acompañan de daño a órgano terminal, como enfermedad de huesos; lesiones líticas, osteopenia, anemia; con hemoglobina (Hb) menor a 10 g/dL, hipercalcemia; con calcio (Ca) mayor a 11.5 mg/dL o insuficiencia renal con creatinina (Crea) mayor a 2 mg/dL, con síntesis de paraproteína o sin ella (20).

El MM es el segundo cáncer hematológico diagnosticado con mayor frecuencia después del linfoma no Hodgkin. Según un informe de investigación de cáncer en el Reino Unido, se estima que 10.3000 personas fueron diagnosticadas por MM en 2008, lo que representa el 12% de todos los cánceres diagnosticados. El MM es un cáncer en que las CP proliferan de manera incontrolable y se acumulan en la MO. Esto provoca una sobreproducción de Ig que, en una instancia, desplazan a las células normales que forma la sangre y les impide funcionar con eficacia. Los síntomas del MM incluyen lesiones óseas, anemia e insuficiencia renal. Los pacientes comúnmente experimenta dolor en los huesos y fracturas, y muchos también experimenta pérdida de peso, fatiga e infecciones repetidas (21).

El síntoma clínico más común es el dolor óseo producido por la osteoporosis difusa y lesiones osteolíticas en la pelvis, vértebras, costillas y cráneo. Esto es debido a la expansión de las CP malignas, apareciendo un aumento del calcio sérico (hipercalcemia) y complicaciones, como la producción de fracturas patológicas o de aplastamiento vertebrales con compresión medular. La hiperproducción de Ig monoclonal da lugar a una hiperproteinemia que aumenta la viscosidad sanguínea, produciendo trastorno en los vasos sanguíneos de menor diámetro y una mayor filtración de proteínas a través de los glomérulos renales (22).

Es típica de esta enfermedad la proteinuria Bence-Jones (eliminación por vía renal de CL de Ig), que da lugar a una insuficiencia renal al depositarse esta proteína en los túbulos renales. Las CP producen un 40% de exceso de cadenas ligeras (dos veces más κ que λ) que se elimina por la orina. El cociente κ/λ debe estar entre 0,26 y 1,65. Si es menor a 0,26 indica una producción clonal de λ ; si es mayor a 1,65, indica producción clonal κ (22).

La causa exacta del MM es desconocida y una edad común para el diagnóstico es alrededor de los 50 a 70 años. La progresión de la enfermedad es más parecida a una condición crónica. Como el clon de CP malignas en la MO produce grandes cantidades de CM, la detección de este es uno de los marcadores tumorales más antiguos para la enfermedad. La única técnica que puede identificar la monoclonalidad y apuntar al CM de los fluidos corporales es la electroforesis. Con excepción de la electroforesis no hay otra prueba no invasiva que se pueda usar para realizar el diagnóstico temprano de MM

de forma precisa y económica (21).

El diagnóstico del MM debe de acompañarse con una serie de análisis: hemograma, VSG, aumento de Ca y Crea, ELP, cuantificación de Ig y de CLLs (22).

2.1.4 MM NO SECRETOR U OLIGOSECRETOR (MMNS)

Representa alrededor del 3% de los casos de MM. Es sintomático en donde el CM es indetectable por IF tanto en suero como en orina. Hay presencia de un plasmocitoma o el porcentaje de CP en MO es superior al 10%. Muchos se confirman por biopsia. De los pacientes con MM del 5-10% tienen un MMNS en el momento del diagnóstico, evidenciado por una concentración de CM en suero $<0,1$ g/l y en orina <200 mg/24h (3).

2.1.5 MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM

La Macroglobulinemia de Waldenström (MW) fue descrita por primera vez por el Dr. Jan G. Waldenström hace más de 70 años. Se reportó inicialmente como un síndrome caracterizado por anemia y síntomas de hiperviscosidad, debido a una proteína grande o macroglobulina en pacientes con una mielomatosis incipiente en la MO (23).

La OMS la clasificó como un tipo de linfoma no Hodgkin, este puede definirse como un tipo de cáncer de origen linfático, producido por la proliferación descontrolada y maligna de los linfocitos B. Es una enfermedad poco frecuente que se diagnostica a 3 millones de personas al año y que representa del 1-2% cánceres hematológicos. Este tipo de neoplasia se distingue por la presencia de IgM monoclonal en el plasma sanguíneo, además de infiltración de MO por células CP (24).

De manera característica, la enfermedad aparece y evoluciona de manera insidiosa en personas entre 60 y 70 años. El cuadro inicial por lo general es de fatiga causada por la anemia, pérdida de sangre en mucosa y tubo digestivo proveniente de la ingurgitación de vasos sanguíneos y de la disfunción de plaquetas (Plt). Otras de las manifestaciones clínicas que podemos encontrar incluyen náuseas, vértigo, perturbaciones visuales. Las alteraciones de la conciencia varían de letargo leve al estupor y el coma (20).

La paraproteína de tipo IgM también puede ocasionar síntomas de enfermedad por crioglobulina (hemólisis) o una neuropatía periférica desmielinizante crónica (20).

El signo característico de la MW es la presencia de un pico monoclonal de IgM que se evidencia en ELP del suero en la región β -globulina. La viscosidad del suero por lo general aumenta por arriba de lo normal, cuando esta sobrepasa cuatro veces más la del agua, el paciente desarrolla síntomas de hiperviscosidad, y la presencia de síntomas notables cuando excede seis veces más que la del agua. Las paraproteínas varían de su composición fisicoquímicas, razón por la cual no existe relación estricta entre su concentración y la viscosidad del suero (20).

2.1.6 AMILOIDOSIS

La Amiloidosis (AL) es una enfermedad multisistémica caracterizada por el depósito extracelular de material proteico fibrilar conocido como amiloide. Afecta cada órgano ocasionando alteraciones estructurales y funcionales que según su localización y magnitud del depósito conlleva a una enfermedad progresiva. Puede ser hereditaria o adquirida (25).

La Amiloidosis hereditaria es un trastorno autosómico dominante debido a la mutación de la transtiretina. Su clínica frecuente es como un síndrome de polineuropatía y miocardiopatía (25).

En la amiloidosis primaria, la proteína mieloides es una CL de Ig κ o λ . En 90% de los pacientes, el análisis del suero y la orina indicará la presencia de la paraproteína de CL κ o λ por medio de ELP, IF o cuantificación de CLL; en el resto de los casos, por medio de espectroscopía de masas se identifica una CL en la biopsia de tejido. El amiloide λ es más frecuente que κ . (20).

2.1.7 PROTEÍNA DE BENCE JONES

Las PBJ son CLL (κ o λ) monoclonales de Ig que aparecen en la orina debido a una hiperproducción por parte de una CP con proliferación descontrolada. Normalmente, las CLL son reabsorbidas en las células tubulares del riñón, pero cuando se supera esta capacidad de reabsorción aparecen en la orina, en fragmentos o intactas y con un grado

de polimerización variable.(26)

La presencia de esta proteína ha sido relacionada con algunas enfermedades, principalmente MM, MW, AL y Enfermedad por depósitos de CL. También se han descrito pacientes con linfomas, leucemia linfocítica crónica, y GMSI (26).

La PBJ tiene un significado clínico importante a nivel diagnóstico y de seguimiento, en la mayoría de las GM. Ante la sospecha de una GM, el estudio en orina puede ser eliminado inicialmente ya que la realización en suero de la ELP, junto con la IF y la cuantificación de CLL, provee de suficiente sensibilidad para su diagnóstico. Sin embargo, una vez establecido este es necesario realizar su estudio en orina. En el caso de la AL estudio en orina incrementa la sensibilidad de detección y debe realizarse junto a los estudios de afuera. Así mismo, el estudio de PBJ está indicado en el seguimiento y evaluación del grado de la respuesta tras el tratamiento en el MM (26).

2.1.8 ENFERMEDAD RENAL POR DEPÓSITO DE LAS CADENAS LIGERAS Y PESADAS

Pueden aparecer como una complicación infrecuente del MM o de la GMSI. Esta se caracteriza por el depósito a nivel de las membranas basales glomerulares y tubulares de Ig monoclonales enteras o subunidades de las mismas (27).

Estas pueden ser: Ligeras (enfermedad por depósito de CL). La más frecuente es la de tipo κ (27). Es una enfermedad caracterizada por el depósito de cadenas livianas de Ig monoclonales en varios órganos producidos por un clon anormal de células B. Esta suele encontrarse en el curso de una discrasia de CP, en otros trastornos linfoproliferativos, pero también puede presentarse en ausencia de cualquier trastorno hematológico, conocida como idiopática (28).

Los órganos constantemente afectados son el corazón (cardiomiopatía restrictiva, insuficiencia hepática), cerebro (infarto y/o hemorragia cerebral), sistema nervioso periférico (neuropatía periférica y mononeuritis múltiple), pulmón, riñón y músculo entre otros (29). La enfermedad por depósito de cadenas pesadas, es un trastorno maligno de las CP, que se caracteriza por la producción excesiva de cadenas pesadas de Igs monoclonales con variaciones de síntomas, diagnóstico y tratamiento (28).

2.1.9 CRITERIOS DEL *International Mieloma Working Group* (IMWG 2018) EN EL DIAGNÓSTICO DE GM. Tabla 1.

Los criterios actualizados representan un cambio de paradigma ya que permiten el diagnóstico temprano y la iniciación de la terapia antes del daño al órgano terminal. Cuando se sospecha clínicamente de MM en los pacientes se debe analizar la presencia de proteína M (monoclonal) o CM utilizando una combinación de pruebas que deben incluir una ELP, IFE y, el ensayo CLLs. Aproximadamente, el 2% de los pacientes con MM tienen una verdadera enfermedad no secretora y no tienen evidencia de proteína M en cualquiera de los estudios anteriores (6).

Tabla 1. Criterios de diagnóstico del IMWG para el MM y los trastornos relacionados con las CP (6).

Enfermedad	Definición
GMSI	<p>Los 3 criterios que deben cumplirse:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Proteína M en suero (tipo no IgM) <3 g/dL - CP en MO <10%* - Ausencia de daño en el órgano terminal como hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia y lesiones óseas (CRAB) que pueden atribuirse a la proliferación anormal de CP. <p>*La MO se puede obviar en pacientes con GMSI de bajo riesgo (tipo IgG, proteína M <15 g/L, relación de cadena ligera libre normal) y en los que no hay características clínicas relativas al mieloma.</p> <p>Cuando la proteína M en suero es de tipo IgM no habrá evidencia de anemia, síntomas constitucionales, hiperviscosidad, linfadenopatía o hepatoesplenomegalia que pueda ser atribuido algún desorden linfoproliferativo subyacente.</p> <p>En el GMSI de cadena ligera además:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Radio CLL anormal (<0.26 o >1.65) - No se expresa cadena pesada en la IFE - Proteína M en orina <500 mg/24 h
MM latente, quiescente, indolente, asintomático (SMM o Smouldering del inglés)	<ul style="list-style-type: none"> - Proteína M en suero (IgG o IgA) ≥3 mg/dL, o proteína M en orina ≥ 500 mg en 24 horas y/o CP clonales en MO 10% -60% - Ausencia de síntomas y signos clínicos de mieloma o AL
MM	<p>Ambos criterios deben cumplirse:</p> <ul style="list-style-type: none"> - CP en MO ≥10% o plasmocitoma extramedular o comprobado en la biopsia de MO - Uno o más de los siguientes eventos que definen MM: Evidencia de daño orgánico adjudicado a la

proliferación anormal de CP específicamente:
 *Hipercalcemia (Ca sérico >0,25 mmol/L (>1 mg/dL)) más alto que el límite normal o >2,75 mmol/L (>11 mg/dL).
 *Insuficiencia renal: aclaramiento de Crea <40 mL/minuto o Crea sérica >177 mol/L (>2 mg/dL)
 *Anemia: valor de Hb >2 g/dL por debajo del límite normal o <10 g/dL
 *Lesiones osteolíticas: una o más en Rx, tomografía computarizada (TAC) simple o por emisión de positrones (TAC-PET)
 - Radio de CLLs involucrada/no involucrada radio ≥ 100 (la concentración de CLL involucrada debe ser ≥ 100 mg/L)
 - >1 lesión focal por estudio de resonancia magnética (RMN) (al menos 5 mm de tamaño)

Plasmocitoma solitario

Todos los criterios deben cumplirse:

- Biopsia positiva para lesiones de este tipo
- Médula sin evidencia de CP clonales
- Resultado de survey óseo normal (RMN y TAC) excepto para lesión solitaria
- Ausencia de daño tipo CRAB atribuido a desorden linfo-plasma proliferativo de CP.

2.1.10 ESTADIFICACION DEL MM

La clasificación más común para la estadificación del MM es la de Durie & Salmon y la del Sistema Internacional de Estadaje, las cuales indican la gravedad y extensión del MM, siendo de gran pronóstico en las complicaciones y mejora del paciente (30).

Tabla 2: Sistema de estadaje Durie y Salmon (31).

SISTEMA DE ESTADIAJE DURIE Y SALMON		
Estadio	Criterio	Medida de masas de células mielomatosas 10¹² células por m²
Estadio I Nivel bajo Todos los siguientes	<ul style="list-style-type: none"> • Valor de Hb > 10 g/dl • Valor de Ca en suero <10.5 mg/dl • Placa de RX con estructuras óseas normal o plasmocitoma solitario 	<0,6

	<ul style="list-style-type: none"> • Producción de CM alto: • IgG valor < 5000 mg/dl • IgA valor < 3000 mg/dl • CL en orina <4gr/24h 	
Estadio II Nivel medio	No clasificable como estadio I o III	0,6 – 1,2
Estadio III Nivel alto Uno o más de los siguientes	<ul style="list-style-type: none"> • Valor de Hb <8.5 g/dl • Valor Ca en suero > 12mg/dl • Lesiones líticas avanzadas • Producción de CM alto • IgG valor > 7000 mg/dl • IgA valor > 5000 mg/dl • CL > 12gr/24h 	>1,2

Tabla 3: Sistema Internacional de Estadiaje (ISS) (31)

Sistema Internacional de Estadiaje	
Estadio I	B2M < 3.5 mg/l Alb ≥ 3.5 g/dl
Estadio II	B2M <3.5 mg/l Alb < 3.5 g/dl O B2M 3.5 – 5.5 mg/l
Estadio III	B2M >5.5 mg/l

2.1.11 DIAGNÓSTICO DE GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

El diagnóstico de las GM basa en la detección del CM circulante. La ELP es la técnica más usada en rutina que permite cuantificar las bandas monoclonales existentes, pero su sensibilidad resulta limitada: no es capaz de detectar CM en concentraciones < 0,4 g/l, niveles frecuentemente encontrados en casos de MM de CL (8).

En el estudio electroforético se puede determinar la hiperproducción de Ig, pudiendo visualizar un pico pronunciado simétrico ubicado en la fracción α_2 , β o γ . Sólo aparece aumentada una determinada Ig con una de las dos CL. En suero se encuentra hiperproteinemia debido a una proliferación descontrolada de Ig monoclonales. Como consecuencia, descienden el resto de las Ig, por los que los pacientes son más propensos a contraer infecciones (22).

La IF es una técnica más simple que nos permite caracterizar el tipo de CM existente, pero no la cuantifica, lo cual limita el seguimiento de las GM. Ambas técnicas en orina, son más sensibles respecto a sus equivalentes en suero; sin embargo se ven afectadas por la función renal del enfermo lo que contribuye la desventaja principal (8).

Otro ensayo que sin duda ha representado grandes avances en el diagnóstico de las GM es la determinación de CLLs, este ensayo utiliza anticuerpos policlonales específicos para detectar las CLLs κ y λ , solo cuando se encuentran de manera libre en sangre u orina, no unidas a las cadenas pesadas formando parte de las Ig. Este ensayo proporciona una gran sensibilidad, además que permite calcular la relación κ/λ , proporcionando al médico la capacidad de determinar la cantidad de CLL producidas por el tumor, identificar la existencia de la enfermedad monoclonal, evaluar las concentraciones de las cadenas no implicadas y además proporcionar información del estado inmunológico del paciente (32).

2.1.12 ESTUDIO DE LABORATORIO DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES.

2.1.12.1 ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS: PROTEINOGRAMA

Corresponde un estudio cualitativo y semicuantitativo de proteínas de distintos líquidos biológicos tales como suero, orina y líquido cefalorraquídeo. El principio básico de la electroforesis consiste en la migración de las moléculas a de un gel o matriz de naturaleza porosa, en el cual, por acción de un campo eléctrico serán separados de acuerdo a su carga eléctrica y peso molecular. Permite tener un proteinograma, que es un trazado que incluye 5 fracciones: albúmina, alfa 1 globulinas, alfa 2 globulinas, beta globulinas y gammaglobulinas (2). **Figura 1.**

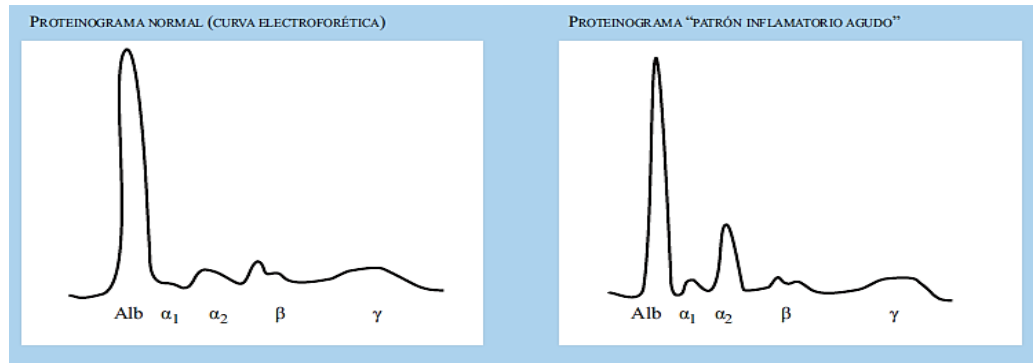


Figura 1. Patrón normal/Patrón inflamatorio agudo

Fuente (33).

Para la separación de las proteínas del suero se han utilizado por mucho tiempo diferentes soportes (papel, acetato de celulosa, agarosa) que han ido mejorando la calidad de la separación. En estos métodos se deposita la muestra sobre el soporte y se somete a éste a una corriente eléctrica de tal manera que las proteínas se separan en función a su carga eléctrica; posteriormente se sumergía el soporte en un colorante (negro amido, rojo congo, azul de coomassie) para que éste se fijase a las diferentes fracciones electroforéticas y, posteriormente, se cuantificaba de forma semicuantitativa en un densitómetro (33).

Actualmente, se disponen de un sistema de realización de los proteinogramas, utilizando una técnica diferente, denominada electroforesis capilar, donde la muestra de hace pasar por un capilar y las proteínas se separan debido a un fuerte voltaje electrosmótico y las bandas se estiman mediante la medición a 214 nm del enlace peptídico. Lo que ha permitido aumentar la calidad del proteinograma, mayor rapidez, comodidad y precisión (33).

La Electroforesis Capilar es una técnica instrumental de separación electrocinética, que utiliza capilares para la disociación de analito en una solución de electrolito gracias a los efectos de un campo eléctrico controlado. Aquí las moléculas son separadas gracias a un sistema con varios componentes: tubo capilar, electrodos, una fuente eléctrica de gran voltaje, un detector, un dispositivo para la interpretación de datos y pequeñas cápsulas del cristal tapado para la muestra, la fuente y el destino. Tanto el tubo capilar como las cápsulas del cristal de la fuente y el destino se llena de la solución del electrolito, posteriormente el tubo capilar es insertado en el recipiente de la muestra

y esta se puede detectar por la acción capilar que no es más que la capacidad de la solución para poder atravesar el capilar sin influencia de fuerzas externas (34).

Luego que se ha introducido la muestra, el capilar se une al frasco de la fuente, lugar en donde se lleva a cabo la migración de moléculas para empezar con el uso de una fuerza eléctrica entre la fuente y los frascos del destino. En base del gradiente electrosmótico creado las muestras migran y de la movilidad de las moléculas estas son separadas (34).

La proteinemia total se cuantifica con el método de biuret de Weichselbaum o similares, siendo en el adulto normal de 6-7,5/100 ml con las oscilaciones inherente al método de cada laboratorio. Las diferentes fracciones se expresan en g/100 ml o también en porcentajes relativos; los primeros se obtienen multiplicando la concentración de la proteína sérica total por el porcentaje relativo (33).

2.1.12.2 FACTORES QUE MODIFICAN EL PROTEINOGRAMA

La calidad de los análisis dependerá de una serie de factores que pueden influir en los valores obtenidos. Según el tipo sangre hay diferencias entre la venosa con la arterial, en donde la venosa muestra un ligero ascenso ya que tiene mayor hemoconcentración. Al igual que la aplicación prolongada del torniquete donde se obtienen valores de proteínas ligeramente elevados. El uso de plasma o suero difiere en gran proporción con el porcentaje de proteínas, la concentración plasmática excede a la sérica en 0,3-0,5 g/100 ml, los cuales representan la cantidad de fibrinógeno consumida en el suero por la coagulación (33).

La forma y tiempo de conservación afecta el proteinograma. Debe hacerse el mismo día de la extracción, ya que de todos los métodos de conservación modifican algo las concentraciones de las distintas fracciones proteicas. Si es necesaria la conservación deberá hacerse en tubos bien tapados y a -4°C en congelador, con ello las variaciones de las proteínas son mínimas, aunque sí deben evitarse procesos de descongelación/recongelación. Del mismo modo la presencia de quilomicrones en el suero que dan la turbidez típica del suero, en la electroforesis puede observarse en el lugar del depósito del suero un "pico agudo" o próximo a la fracción gamma. Y, la hemólisis también representa otro factor que debe considerarse rechazo para el

proteínograma (33).

2.1.12.3 INMUNOTIPIFICACIÓN O ELECTROFORESIS CAPILAR POR MÉTODO DE INMUNOSUSTRACCIÓN

En paralelo con el desarrollo de la electroforesis capilar de proteínas en suero, fue también avanzando un método alternativo para identificar Ig monoclonales: la llamada electroforesis de Inmunotipificación por sustracción (ITP), técnica que desde 2008 ha sido estandarizada y que separa proteínas de suero tras una breve incubación del suero en la presencia de antisuero para cada una de las cadenas pesadas y ligeras, elimina los inmunocomplejos formados y permite la detección cualitativa de Ig monoclonales en función de su ausencia, en comparación con la electroforesis de proteínas séricas realizada sin antisueros (35).

También desde el 2008 se plantea que aunque la ITP tiene una sensibilidad más baja que la electroforesis por inmunofijación en gel de agarosa (IF) para la detección cualitativa del CM, es de gran utilidad para la identificación de Ig monoclonales pues utiliza menor cantidad de muestra con un alto grado de resolución (35).

MINICAP FLEX PIERCING

Este instrumento es completamente automatizado, permite separaciones nítidas y precisas utilizando la tecnología de electroforesis capilar. El instrumento ofrece una amplia gama de análisis en muestras de suero y sangre total para el análisis de proteínas e inmunotipado (36).

2.1.12.4 IMMUNOTYPING

El kit MINICAP IMMUNOTYPING permite la detección y caracterización en un medio alcalino (pH 10,0) de las proteínas M (inmunotipado) en el suero humano, mediante electroforesis capilar, permitiendo realizar todas las etapas de la electroforesis hasta la obtención de perfiles proteicos para su análisis cualitativo. Cada muestra de suero que se analiza se mezcla con antisueros de diferentes especificidades, anti-cadenas (37).

PRINCIPIO DEL TEST

La electroforesis de proteínas del suero humano es muy útil para investigar modificaciones en el perfil proteico. Paralelamente a las técnicas de electroforesis en diferentes soportes, entre los que está en gel de agarosa, se ha desarrollado la técnica de la electroforesis capilar, que ofrecen las ventajas de una automatización completa del análisis, separaciones rápidas y una buena resolución. Se define como una técnica de separación electrocinética realizada en un tubo de un diámetro interno inferior a 100µm lleno de un tapón compuesto por electrolitos. El sistema MINICAP usa el principio de la electroforesis capilar de solución libre, que representa la forma más corriente de electroforesis capilar (37).

Permite la separación de moléculas cargadas en función a su movilidad electroforética propia en un tampón de un pH dado, y, según el pH del electrolito, de un flujo electroosmótico más o menos importante (37).

Las inmunoglobulinas monoclonales, marcadores de GM, son detectados durante la ELP. En la electroforesis capilar, se presentan en forma de picos anormales situados esencialmente en las zonas β o γ del perfil electroforético. En la técnica de MINICAP IMMUNOTYPING, el inmunotipado se realiza usando antisueros monoespecíficos y permite la identificación de los picos monoclonales detectados en la electroforesis. El sistema MINICAP posee 2 capilares en paralelo, permitiendo realizar 2 análisis simultáneos. En este sistema la muestra que se va a analizar es inyectada, por aspiración en el ánodo, 3 veces sucesivamente en los 2 capilares (37).

El perfil proteico de referencia (perfil ELP) se obtiene mediante inyección de la muestra a medir en presencia del perfil de referencia. Los perfiles de los antisueros se obtienen, durante los 5 análisis siguientes, por inyección de la misma muestra en presencia de antisueros de diferentes especificidades anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti- κ y anti- λ en los capilares. La separación se realiza a continuación aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar, y la detección directa de las proteínas se efectúa a 200 nm en el lado catódico. Los capilares se lavan entre cada análisis con una solución de lavado y luego con el tampón de análisis (37).

La superposición de uno de los perfiles de antisuero con el perfil ELP permite visualizar la desaparición y/o la disminución de un pico monoclonal en el perfil del antisuero y tipificar una GM (37).

El inmunotipado se realiza en cuatro etapas: la primera es la dilución del suero con un diluyente específico en una cubeta de reactivo. La dilución se adapta a la concentración de Ig de la muestra (37).

La segunda es la aspiración de la solución ELP, cada antisuero y de la muestra diluida para mezclarlos en una cubeta de reactivo, a razón de una cubeta para 2 reactivos. El complejo antígeno-anticuerpo se forma rápidamente en el medio líquido sin etapa de incubación ni de precipitación (37).

Posteriormente tres inyecciones sucesivas de la muestra tratadas, por aspiración de los 2 capilares (en el lado anódico), seguidas de las separaciones electroforéticas de las proteínas en medio alcalino mediante la aplicación de una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de los capilares. La detección directa de las proteínas se efectúa a 200 nm (en el lado catódico) (37).

Por último la superposición del perfil ELP de los perfiles de los antisueros (Ig G, Ig A, Ig M, κ y λ), lo que permite la caracterización de la proteína M (37).

2.1.12.5 DETECCIÓN DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN SUERO

Las CLLs de inmunoglobulinas monoclonales son un importante marcador de diagnóstico para GM y, durante más de 150 años, la presencia de PBJ en la orina han sido el indicador clave de la producción de CLLs monoclonal en el MM. En otras palabras resultó ser que un hallazgo casual realizado en el año de 1845 por el químico inglés Henry Bence J, demoró más de 100 años hasta que se descubriera su estructura química y recién en la primera década de este siglo se lograra desarrollar una metodología de alta especificidad y sensibilidad para cuantificar las PBJ, que como se dijo anteriormente no es otra cosa que las CLLs de origen monoclonal (4).

En 2001 Bradwell y col. describen un método específico y de alta sensibilidad (Freelite®, The Binding Site, Birmingham, Reino Unido) para la cuantificación

inmunológica de CLL en suero. La prueba utiliza un antisuero policlonal de oveja que solo reconoce un epítipo en la región oculta de la cadena liviana de la Ig completa (tetrapeptídica). Consiste en la cuantificación de la CLL monoclonal (involucrada) y la CLL policlonal (no involucrada). En base a las mismas se calcula el cociente entre ambos valores que se expresa como la relación κ/λ , cuyos intervalos de referencia son 0,25 a 1,65 respectivamente (4).

En base a Freelite aparecieron otras técnicas similares como N Latex® (Sistemens Healthcare GmbH Marburg, Alemania). Existen otros ensayos de CLL disponibles, pero requieren analizadores nefelométricos o turbidímetros y en muchos laboratorios no se dispone de ninguna de estas técnicas, lo que requiere que las muestras se envíen a laboratorios especializados. El procesamiento de muestras en sitios externos puede llevar a retrasos en los tiempos de espera, lo que puede aplazar consecuentemente las intervenciones clínicas mientras los médicos esperan los resultados de las pruebas de sus pacientes. En 2017 se desarrolló una prueba de CLLs portátil (Seralite®, Abingdon Health Ltd, Reino Unido) que cuantifica los niveles séricos de CLL κ y λ simultáneamente en 10 minutos, con especificidad clínica demostrada. A pesar de las variaciones en la cuantificación de CLLs que pueden dar esas pruebas, se ha demostrado que todas pueden proporcionar información comparable con respecto a la actividad de la enfermedad (38).

En el caso del Seralite se plantea que al ser una prueba rápida y portátil puede superar los retrasos asociados con los analizadores de laboratorio para acelerar el diagnóstico del paciente y generar respuesta rápida de terapia (38).

En 2009, el Grupo Internacional de Trabajo de Mieloma (IMWG) elaboró un conjunto de recomendaciones acerca del esquema diagnóstico inicial referido a la evaluación de la producción de proteína M por parte del paciente. En estas guías, actualmente aceptadas y utilizadas en gran parte del mundo, se recomienda la realización de una ELP, junto a la medición de CLL sobre la misma muestra de suero y si una o ambas pruebas diera positivo, se debe realizar una IF en suero para tipificar la GM encontrada. La detección de CLLs tiene la ventaja adicional de no requerir análisis de las proteínas de 24H a todos los pacientes (excepto los casos de AL) (32).

Una actualización de estas recomendaciones internacionales la publicó recientemente el IMWG dando un paso más hacia la identificación adecuada y temprana de pacientes con MM. En esta actualización, Rajkumar y su grupo sugiere utilizar una serie de biomarcadores de malignidad definidos junto al análisis de MO del paciente para realizar el diagnóstico de MM. Entre estos biomarcadores están la relación de CLL en suero ≥ 100 como criterios de malignidad (relación cadena involucrada/cadena no involucrada) (32).

Los estudios electroforéticos en orina son más sensibles que aquellos realizados en suero para detectar CLL monoclonales, pero a pesar de la sensibilidad de las técnicas en orina, estas presentan limitaciones técnicas y prácticas. En primer lugar, los niveles de CLL en el suero deben aumentar significativamente antes de que los mecanismos de reabsorción tubulares proximales del riñón estén abrumados y aparezcan las CLL en la orina. Por lo anterior, las CLL con bajo nivel monoclonal en el suero no podrán ser detectadas en la orina, y por ende, las pruebas de PBJ en orina utilizadas tradicionalmente no son un reflejo directo de la tasa subyacente de producción monoclonal de las CLL (39).

La detección temprana de CLL monoclonal facilita el diagnóstico precoz y oportuno para iniciar un tratamiento, lo cual hará que mejore el resultado clínico. La orina tiene el inconveniente de sus efectos en la recogida y que el método de concentración de la mismo es trabajoso y demorado (39).

Existe controversia con respecto a los inmunoensayos que determinan la concentración de las CLL en suero y los que determinan la concentración de las CL totales (libres y unidos a las cadenas pesadas). Estos últimos inmunoensayos han demostrado no ser adecuados para el diagnóstico y seguimiento de las GM debido a su baja sensibilidad, por citar un ejemplo lo que comercializa la casa comercial Roche y que son ampliamente utilizados en el país como supuesta CLL por desconocimiento del principio de la técnica de CLL originalmente creada en el Reino Unido.

SERALITE® - FCL SERUM

Consiste en un ensayo competitivo inmunocromatográfico in vitro de un solo uso

para la medición cuantitativa de cadenas ligeras libres (FLC, siglas en inglés) κ y λ en muestras de suero. Diseñadas para el uso en el lector ADxLR5® Reader System. Las FLC en suero y orina humana son biomarcadores de diagnóstico importantes para la identificación y monitorización de discrasias de células B, incluido el MM (40).

PRINCIPIO

Es un ensayo inmunocromatográfico competitivo basado en tecnología de membrana de nitrocelulosa de flujo lateral. Tiene dos secciones, en la primera sección se encuentra el vial de aplicación, lugar en el cual va depositada la muestra, en la segunda sección se evidencian tres líneas de reacción; en la primer línea, la más próxima a la aplicación de la muestra, contiene antígenos κ libres; la segunda línea contiene antígenos λ libres; y la línea final representa el control de procedimiento. **Figura 2.**

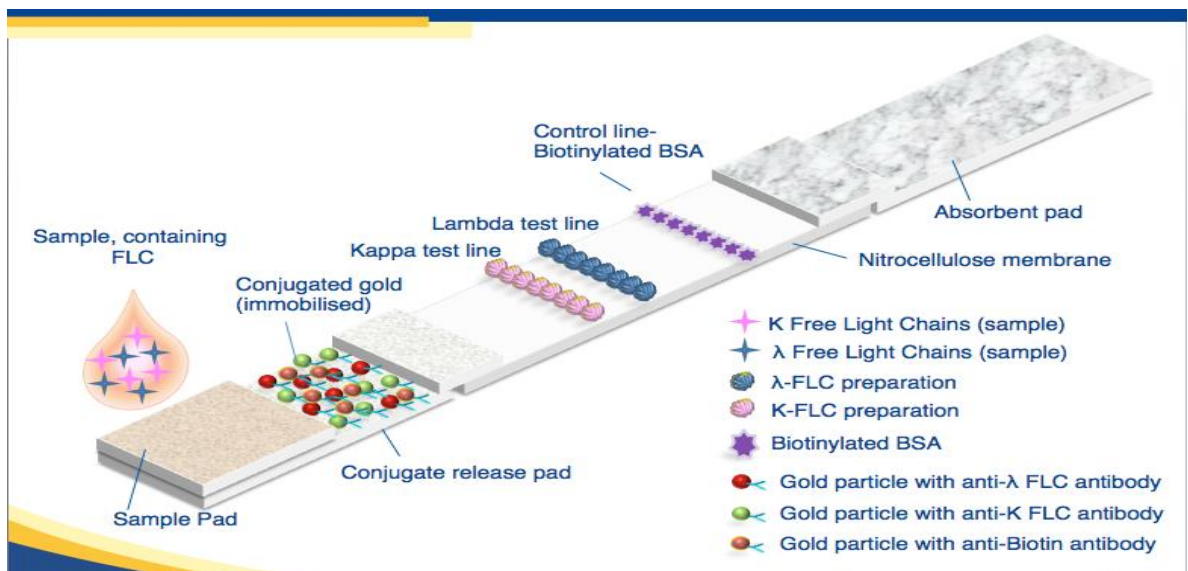


Figura 2. Esquema del método de ensayo por inmunocompetencia Seralite®

El dispositivo de flujo lateral de Seralite® sirve para la cuantificación del nivel de CLLs (κ y λ) que se basan en inmunoensayos de competencia. Las CLLs κ y λ de la muestra compiten entre anticuerpos monoclonales anti- κ y anti- λ marcados con oro para unirse con antígenos fijados y purificados κ y λ (40).

La muestra se añade en el vial, se absorbe en la membrana de nitrocelulosa. En el vial se encuentran anticuerpos monoclonales anti- κ y anti- λ marcados con oro. Ambos migran a través de la membrana de nitrocelulosa por capilaridad, para reaccionar con

las líneas que contienen antígenos κ libres y antígenos λ libres. Si la muestra contiene un suficiente de CLLs, esta se unirá con los antígenos κ y λ respectivos dejando menos sitios de unión para los anticuerpos monoclonales marcados anti- κ y anti- λ , por consiguiente, no se observará la línea coloreada de reacción, caso contrario, en ausencia de suficiente de CLLs (κ y λ) los anticuerpos monoclonales ocuparán los sitios de unión evidenciando las líneas de reacción. Es decir, la concentración de CLLs en la muestra está inversamente relacionada a la intensidad de la coloración de la línea (40).

La tercera línea está compuesta de biotina inmovilizada que, junto con la antibiotina adicional conjugada con nanopartículas de oro, actúan como línea de control. Tras la aplicación de la muestra, los anticuerpos conjugados de oro se rehidrata y reaccionan con la muestra. La mezcla migra a través de la membrana por acción capilar. A medida que la muestra fluye por la membrana de prueba, las partículas coloreadas migran (40).

2.2 VARIABLES

2.2.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

Inmunotipificación y cuantificación de cadenas ligeras libres.

2.2.2 VARIABLE DEPENDIENTE

Pacientes con gammapatías monoclonales

2.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

2.3.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

Tabla 4: Inmunotipificación y cuantificación de cadenas ligeras libres

Conceptualización	Dimensión	Indicador	Escala
ITP es una técnica que permite la separación y detección de proteínas en suero, en presencia de antisueros específicos, para la determinación cualitativa del Igs	Diagnóstico de laboratorio	Inmunotipificación	IgG IgA IgM K λ

CLLs utiliza Acs policlonales específicos para detectar las CLLs κ y λ, y determinar su concentración, indicando la existencia de la enfermedad monoclonal.		CLLs	κ λ κ/λ
--	--	------	-------------------

2.3.2 VARIABLE DEPENDIENTE

Tabla 5: Gammapatías monoclonales

Conceptualización	Dimensión	Indicador	Escala		
GM corresponden a un grupos de trastornos linfoproliferativos, caracterizados por la producción descontrolada de un clon de CP, el cual se puede presentar en forma de Ig intacta/ cadena pesada (IgG, IgM, IgA, IgD, IgE), o como fragmentos de ellas/ cadenas ligeras (κ, λ)	Frecuencia de presentación	ELP e impresión diagnóstica	Enero 2019 a julio de 2019		
	Características sociodemográficas	Edad		Se incluyen todas las edades	
		Género		Masculino-Femenino	
		Ocupación		Se incluyen todas las ocupaciones	
		Residencia		Dentro del perímetro de Manabí	
		Médico/Clínico	Impresión diagnóstica		GMNS MMNS MM LNH SMD LNHD LLC PLASMOCITOMA OTROS
	Características analíticas		ELP		Hiperalbuminemia Hipergammaglobulinemia Hipoalbuminemia Hipogammaglobulinemia Patrón anormal Patrón Inflamatorio Agudo Patrón Inflamatorio Crónico Patrón Monoclonal Patrón normal
			ITP		Positiva Negativa
			CLL		κ λ
			Manifestaciones clínicas		

		Fracturas
Variables analíticas	B2M	1 – 3 mg/L
	Crea	0.70 – 1.20 mg/dL
	Ca	8.5 – 10.1 mg/dL
	HB	12.3 – 15.3 g/dL
	Alb	4.0 – 4.8 g/dL

CAPÍTULO 3.

3.1 DISEÑO METODOLÓGICO

3.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se ejecutó un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo desde enero a julio 2019 en pacientes que presentaron diagnóstico o sospecha de GM con resultados de ELP, IT y cuantificación de CLLs y CL totales en el Laboratorio Clínico Gamma y el diagnóstico clínico proporcionado por el Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont" de la Ciudad de Portoviejo

3.1.2 MODALIDAD DE INVESTIGACIÓN

En la presente investigación se estudia las variables clínicas, analíticas y sociodemográficas vinculadas con las GM, por ello, la investigación es Cualitativa.

3.1.3 TIEMPO Y ÁREA DE ESTUDIO

La investigación se llevó a cabo entre el período de Enero a Julio del 2019 en el Laboratorio Clínico Gamma y el Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont", de la ciudad de Portoviejo.

3.1.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

Se analizaron 237 ELP de pacientes que asistieron al Laboratorio Clínico Gamma de la ciudad de Portoviejo, de las cuales a 42 se les realizaron IT y a 58 CLLs.

La muestra quedó constituida por 18 pacientes los cuales tuvieron diagnóstico de MM además contaban con los datos analíticos y clínicos completos, obtenidos del Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont".

3.1.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión

Pacientes con alguna GM diagnosticada clínicamente o sospecha por el médico y con los datos sociodemográficos, analíticos y clínicos suficientes para llevar a cabo esta

investigación.

Criterios de exclusión

Pacientes que no posean los suficientes datos analíticos y clínicos o historias clínicas incompletas.

3.1.6 MÉTODOS, INSTRUMENTOS Y TÉCNICAS

3.1.6.1 MÉTODOS

Método teórico: analítico

Método estadístico: se realizó un estudio descriptivo de los análisis de inmunofluorescencia y cuantificación de CLLs de pacientes con GM. Los resultados se presentaron como porcentajes para las variables cualitativas y como media \pm desviación estándar para las variables continuas.

El procesamiento de datos se realizó con el apoyo del programa SPSS (versión 23). Se realizó la Wilcoxon para la comparación de los valores de la relación κ/λ en función de la prueba de laboratorio empleada (CLL y CLT), puesto que ambos métodos se le realizaron a los mismos pacientes. Se empleó la Prueba Mc Nemar para establecer si existían diferencias entre los resultados reportados por las pruebas. En todos los casos se consideró significativo un valor de $p < 0,05$.

3.1.6.2 TÉCNICAS

Medición: para analizar los resultados de los sujetos de estudio con GM en el período de investigación se elaboró una base de datos obtenidos a partir de historias clínicas y resultados de exámenes complementarios del Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont y Laboratorio Clínico Gamma de la ciudad de Portoviejo. Para su elaboración, se reunieron los datos obtenidos a partir de las indicaciones médicas, historias clínicas y los resultados de los exámenes complementarios incluidos en la base de datos de ambos establecimientos mencionados anteriormente.

En la base de datos se abarcaron datos de identificación de los pacientes, el sexo, edad, fecha de diagnóstico de la GM, lugar de residencia, resultados de IT, CLLs, ELP,

contenido total de proteínas, Alb, Ca, Crea, B2M y la concentración de Ig.

Para la investigación solo se utilizaron los datos obtenidos de pacientes con diagnóstico o sospecha clínica de GM y no se tuvieron en cuenta los análisis que no cubrían con los criterios de inclusión.

Los análisis se realizaron en el Laboratorio Gamma-Portoviejo y en el laboratorio del Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont" se utilizaron las técnicas, reactivos, valores de referencia establecidos bajo procedimientos normalizados de operación.

La IT y la ELP se realizaron con el equipo Minicap de Sebia, con suero sanguíneo, en el Laboratorio Gamma. Para lo cual se extrajeron muestras de sangre mediante flebotomía, en tubos con gel separador, dejaron coagularlas a temperatura ambiente para centrifugarlas a 3000 rpm durante 10 minutos. Únicamente se usó suero, puesto que el plasma se conserva el fibrinógeno y causa variaciones en los análisis.

Para la cuantificación de CLLs κ y λ se usó el dispositivo de flujo lateral inmunocromático de SERALITE®, que se basa en el principio de ensayo de competencia. Y para su interpretación se empleó el lector ADxLR5® Reader System, ambos, pertenecientes al Laboratorio Gamma.

Para la medición proteínas totales, Alb, Ca y Crea se utilizó el método de electroquimioluminiscencia otorgado con el equipo cobas 6000 módulo c 501 de Roche, donde mide las sustancias luminosas, esta tecnología proporciona la más elevada sensibilidad analítica e intervalos de lectura dinámicos, de los más amplios intervalos de lectura. Dicho equipo se encuentra en el Laboratorio Gamma.

Así mismo, en el laboratorio del Hospital, se determinó la concentración de Ca mediante el método CA utilizado en el sistema de química clínica Dimensión RLX-MAX, es una modificación de la reacción Ca o-cresolftaleína complexona (OCPC) originalmente descrita por Schwartzbach y Cols, donde el Ca reacciona con OCPC para formar un complejo de color morado, que se mide mediante una técnica de punto final bicromática (577,540 nm). Para la medición de la creatinina, se usó el método CRE2 que utiliza un modificación de la reacción de la cinética de Jaffé, el picrato

reacciona con la creatinina para formar un cromóforo rojo y se mide utilizando una técnica de tasa bicromática (510-600).

Por otra parte, para el chequeo hematológico se utilizaron tubos que contienen sal dipotásica de EDTA para el hemograma, la Hb se cuantificó por el método de la Cianometahemoglobina en el analizador automático XE 2100, de la casa comercial de Roche, para lo cual se utilizaron reactivos suministrados por Roche y se siguieron las instrucciones del fabricante.

La cuantificación de las IgG, IgA e IgM, se llevó a cabo a través de un método turbidimétrico, utilizando diagnosticadores suministrados por la casa comercial CPM (Italia) y siguiendo las instrucciones del fabricante. Las lecturas de la absorbancia se realizaron en un equipo semiautomatizado Humalyzer 2000 HUMAN, de la casa comercial HUMAN (Alemania).

3.1.6.3 OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras fueron obtenidas de pacientes hospitalizados y ambulatorios dependiendo del estado clínico y del lugar de procedencia. Los estudios de ELP, IT y CLLs fueron realizados en el Laboratorio Clínico Gamma, mientras que los demás análisis fueron procesados en el Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont".

3.1.6.4 VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia (**tabla 6**) los establece el Laboratorio con ayuda de los kits diagnósticos.

3.1.6.5 DEFINICIÓN DE VARIABLES ESTUDIADAS

3.1.6.5.1 VARIABLES DEMOGRÁFICAS:

Sexo: Según género

Edad: Se consideró edad al momento del diagnóstico de GM.

Ocupación: Según lo que refleja la historia clínica

Residencia: Se estimó a los pacientes que entran en los límites territoriales del cantón Portoviejo.

3.1.6.5.2

VARIABLES ANALÍTICAS:

Electroforéticas: fracciones Alb, α_1 , α_2 , β_1 , β_2 .

Inmunológicas: IgG, IgA, IgM, Kappa, Lambda.

Químicas: Crea, Ca, B2M

Hematológicas: Hb

Las variables analíticas cuantitativas fueron consideradas como elevadas y bajas de acuerdo a los valores de referencia detallados en la tabla 6. Siguiendo con el esquema de elevadas cuando la variables sobre pasa el límite del rango superior y, bajas cuando el valor es menor del límite inferior.

Tabla 6: Valores de referencia de las variables analíticas.

VALORES DE REFERENCIA			
	Límite inferior	Límite superior	Unidad
Hematológicas			
Hb	H 14,0	17,5	g/dL
	M 12,3	15,3	
Químicas			
Crea	H 0,70	1,20	mg/dL
	M 0,55	1,02	mg/dL
Ca	8,5	10,1	mg/dl
B2M	1	3	mg/L
Electroforéticas			
Proteínas totales	6,8	8,30	g/dL
Relación A/G	1,20	2,20	
Albúmina	55,8	66,1	%
Alfa 1 globulinas	2,9	4,9	%
Alfa 2 Globulinas	7,1	11,8	%
Beta 1 globulinas	4,7	7,2	%
Beta 2 Globulinas	3,2	6,5	%
Gammaglobulinas	11,1	18,8	%
Inmunológicas			
IT	Negativa	Positiva	
CLLs κ	5.2	22.7	mg/L
CLLs λ	4.0	25.1	mg/L

Radio κ/λ	0.5	2.5	Una relación κ/λ anormal puede indicar producción monoclonal de CLLs. Una relación κ/λ anormal solo debe considerarse si una de las CLLs se incrementa por encima del rango normal. Una relación κ/λ no debe ser considerada si: Los valores de ambas CLLs están en el rango normal o una de ellas está dentro del rango normal y la otra está por debajo del rango normal.
CLT κ	629	1350	mg/dL
CLT λ	313	723	mg/dL
Radio κ/λ	1,51	3,11	
IgG	700	1600	mg/dL
IgA	70	400	mg/dL
IgM	40	230	mg/dL

3.1.6.5.3 VARIABLES CLÍNICAS:

Manifestaciones clínicas, signos y síntomas que orientaron al clínico a la realización de la ELPs, inmunotipificación y CLLs.

Mortalidad: se detalló si el paciente había fallecido o no al momento del estudio.

3.1.6.6 INSTRUMENTOS

En la presente investigación se utilizó como instrumento una base de datos elaborada en Microsoft Excel.

3.1.7 PLAN DE TABULACIÓN, ANÁLISIS Y PRESENTACIÓN DE DATOS

Para la elaboración de esta investigación se utilizó un ordenador con programas operativos de Windows. Los textos se realizaron en Word, las tablas y figuras fueron procesadas en Excel. La interpretación y discusión de resultados se llevó a cabo

mediante la comparación de trabajos de investigación citados en esta literatura.

3.1.8 FUENTES DE INFORMACIÓN

Para la ejecución de este trabajo se utilizó como fuente de información la base de datos de paciente atendidos en el Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont", junto con la base de datos de los usuarios de laboratorio Gamma, matriz Portoviejo, además como fuente primaria se recolectaron información de revistas y científicas, ensayos académicos, libros, publicaciones médicas, documentos oficiales. Como fuente secundaria se utilizaron artículos investigativos relacionados al tema.

3.1.9 RECURSOS

3.1.9.1 TALENTO HUMANO

Autores del trabajo, tutora, personal del Laboratorio Clínico Gamma y del laboratorio del Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont".

3.1.9.2 INSTITUCIONALES

Laboratorio Clínico Gamma, matriz Portoviejo.

Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont".

3.1.9.3 RECURSOS FÍSICOS

Base de datos del Laboratorio Clínico Gamma y del Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont", libros e insertos de las pruebas utilizadas en las instituciones.

3.1.10 ASPECTOS ÉTICOS

La investigación se realizó bajo los principios establecidos en la Declaración de Helsinki durante la 18° Asamblea General de la Asociación Médica Mundial en 1964 y su enmienda del año 2000 y en consecuencia con las Pautas Internacionales para la Evaluación ética de los estudios epidemiológicos del Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias médicas, además se respetó la integridad de los pacientes, asegurando la confidencialidad de toda información personal recogida durante esta. El

trabajo además fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias de la Salud.

CAPÍTULO 4.

PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 Caracterización de las gammopatías monoclonales encontradas de acuerdo a las variables sociodemográficas, análisis electroforéticos y diagnóstico clínico presente al momento de la primera electroforesis.

En el período Enero a Julio del 2019 se realizaron un total de 237 electroforesis en el Laboratorio clínico Gamma de la ciudad de Portoviejo, 191 casos fueron patológico (81% del total de las ELP estudiadas) y 46 normales (19%) como se demuestra en la **figura 3**. Los resultados patológicos fueron clasificados según el comentario por parte del laboratorio en la interpretación final de cada ELP.

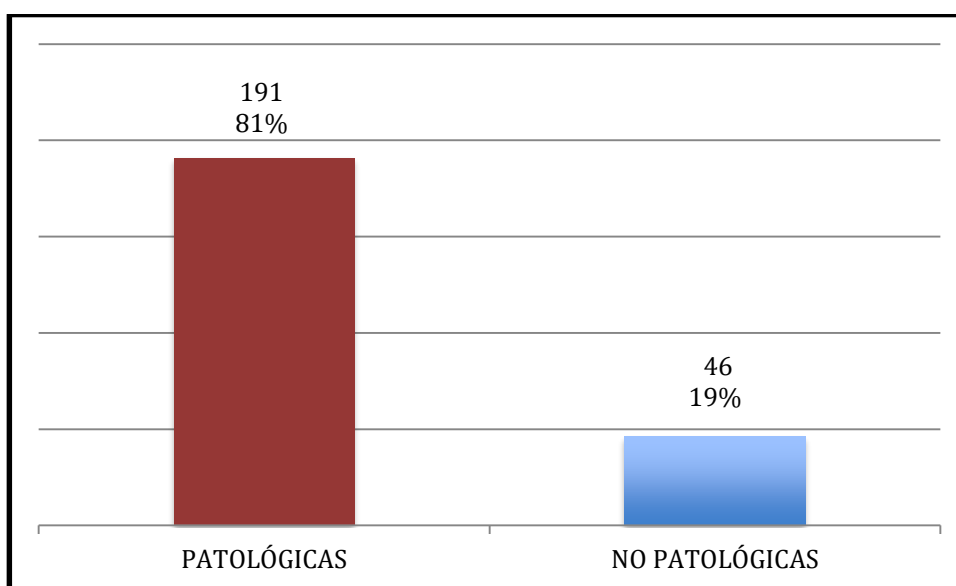


Figura 3. Total de ELP analizadas (237)

Fuente. Resultados del Laboratorio Gamma Portoviejo

Elaborado. Talledo Pinargote Diego Anotonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

Es importante señalar que, las 237 ELP, en su mayoría de pacientes con sospecha de GM, cumplieron parcialmente los criterios de inclusión, pues se pudo encontrar datos sociodemográficos, pero los datos analíticos y clínicos no fueron suficientes para ser incluidos todos en la investigación. Los análisis de laboratorio necesarios para diagnóstico y seguimiento de GM no fueron solicitados a todos los pacientes o los tenían incompletos. Sin embargo, los datos que se pudieron obtener fueron clasificados

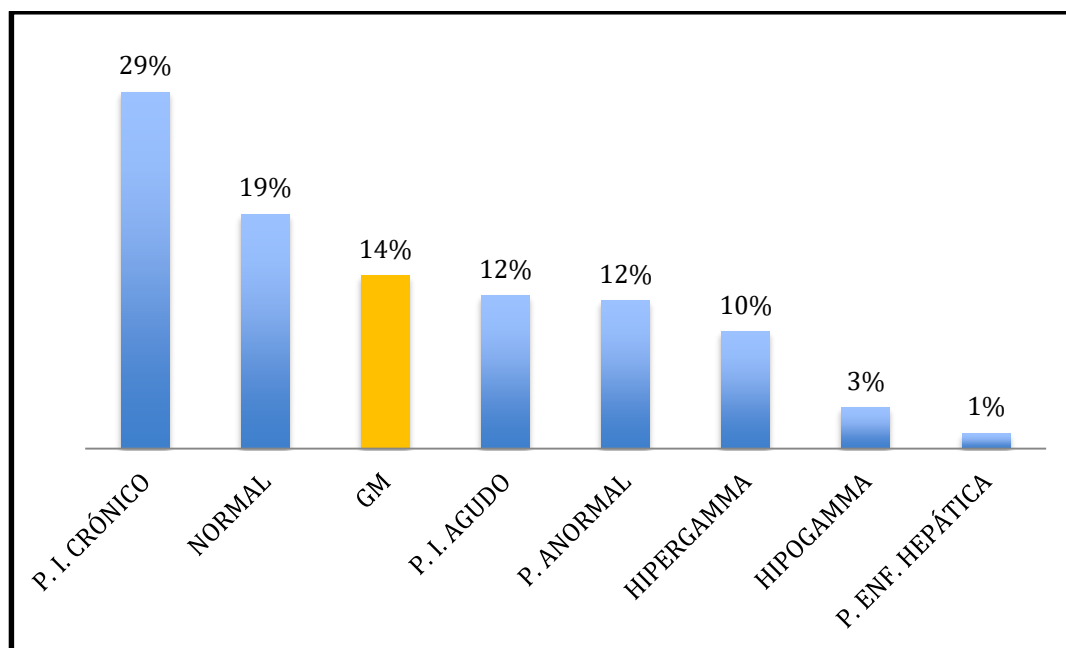
y alternados para cumplir con los objetivos de la investigación.

Matzumura y colaboradores, en un estudio realizado para evaluar la calidad de los registros e historias clínicas en consultorios externos del servicio de medicina interna de la Clínica Centenario Peruano-Japonesa desde el año 2010-2011, describen la importancia del correcto llenado de las historias clínicas, pues estas aportan información de alto valor médico, gerencial, legal y académico; contribuyendo de manera directa e indirecta a la calidad en la atención para los pacientes, además de que provee datos útiles para la investigación y docencia (41).

Las historias clínicas tienen que ser correctamente elaboradas y llenadas, es decir, deben contener los datos sociodemográficos, analíticos y clínicos que realmente aporten información relevante para un adecuado seguimiento de la evolución del paciente. Además, las mismas contribuyen a que investigadores logren obtener la información suficiente y necesaria para cumplir con la finalidad del trabajo y este logro aportar a la sociedad resultados de calidad para la enmienda de la problemática.

El proteinograma o ELP, proporciona información correspondiente a las proteínas encontradas en el suero, por tanto, la información que aporta sobre una proteína específica permite evaluar el estado general del organismo (42). Las modificaciones en la electroforesis dependen de una multitud de factores, los que pueden estar relacionados o no a patologías (33).

En cuanto a los resultados de laboratorio es importante mencionar que lo que se ha definido como GM en este trabajo corresponde en su mayoría a los CM observados en los patrones electroforéticos. Sin embargo, para un diagnóstico definitivo del laboratorio, la banda monoclonal debe ser confirmada mediante métodos de IT y la determinación de CLLs, criterio expuesto por el IMWG en el 2009 y aceptados en gran parte del mundo (43).



P.I. Crónico: patrón inflamatorio crónico, NORMAL: patrón normal, P.I. Agudo: patrón inflamatorio agudo, P. Anormal: patrón anormal, GM: gammapatía monoclonal, Hipergammaglobulinemia, Hipogammaglobulinemia, P. ENF. HEPÁTICA: patrón de enfermedad hepática

Figura 4. Distribución porcentual del comentario por parte del laboratorio en las ELP.

Fuente: Resultados de ELP del Laboratorio Gamma Portoviejo

Elaboración: Talledo Pinargorte Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael.

En la **figura 4** se puede observar la distribución de patrones electroforéticos observados en este trabajo. Del total de ELP, según el criterio del laboratorio clínico al momento de analizar las alteraciones cualitativas en el proteinograma, 34 casos (14%) presentaron un patrón electroforético de GM, de ellos 6 casos presentaron un patrón biclonal en la región gamma (3% del total de las ELP y 17% del total de patrones monoclonales).

De igual forma, del total de las ELP se obtuvieron 70 casos con patrón inflamatorio crónico (29%), 30 casos (12%) con patrón inflamatorio agudo, 29 casos (12%) con presencia de patrón anormal, 17 casos con (10%) hipergammaglobulinemia o GP, 8 casos (3%) con hipogammaglobulinemia, 3 casos (1%) en el que el puente beta-gamma fue clasificatorio para un patrón de enfermedad hepática.

En un estudio similar publicado en La Habana, Cuba, en el año 2012, se analizaron un total de 656 ELP, de la cuales 74 (11,3%) fueron diagnosticados con una GM, entre ellas 47 casos (63,5% del total de GM encontradas) correspondieron a GMSI, seguido de MM con 17 casos (23%) y 10 pacientes pertenecieron al síndromes linfoproliferativos u otras GM (44).

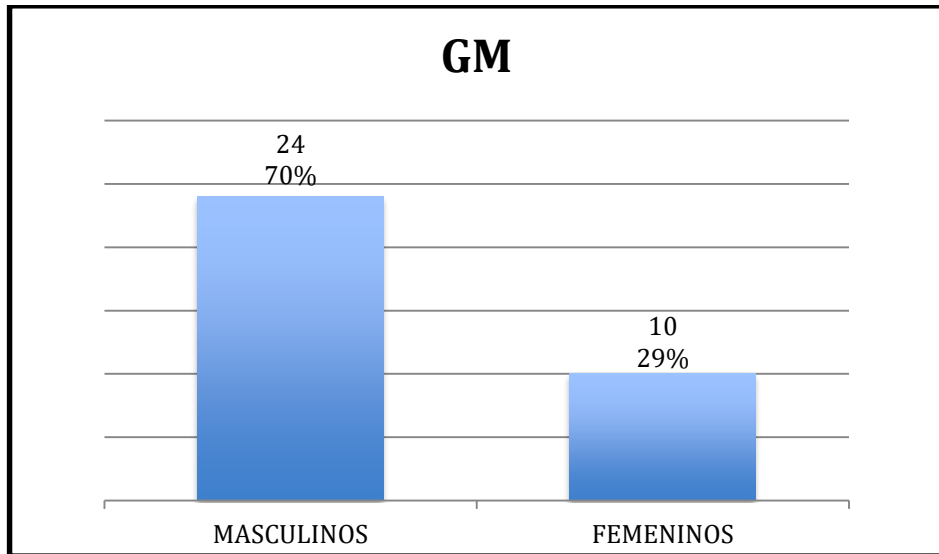


Figura 5. Distribución de las GM por género (femenino, masculino)
 Fuente: Historias clínicas del Hospital oncológico “Dr. Julio Villacreses Colmont”
 Elaborado. Talledo Pinargorte Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael.

Del total de las GM, 24 correspondieron al género masculino (70% del total de las GM) y 10 (30%) correspondieron al género femenino (**figura 5**). En cuanto a la edad, en la **figura 6** se representa la distribución por edad de los pacientes con GM, donde el promedio fue de 64,5 años, el paciente con mayor edad fue de 87 años y con menor edad fue de 31 años. El grupo etario con mayor número fue los que corresponden a mayores de 60 años, seguido los que se encuentra entre las edades de 31-40 años, luego los de 51-60 años y por último el grupo de 31-40año. No se encontraron pacientes menores de 30 años.

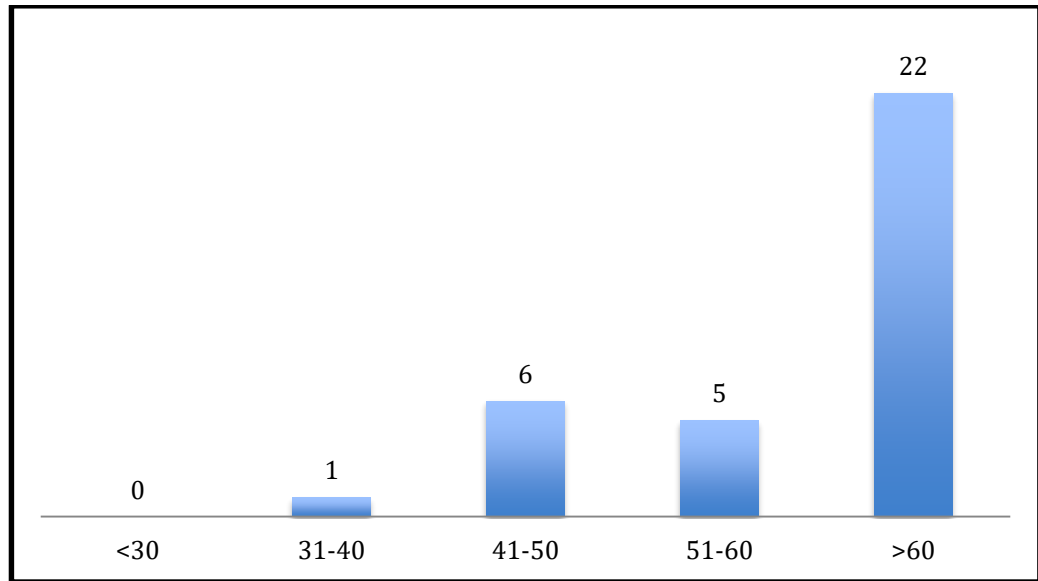


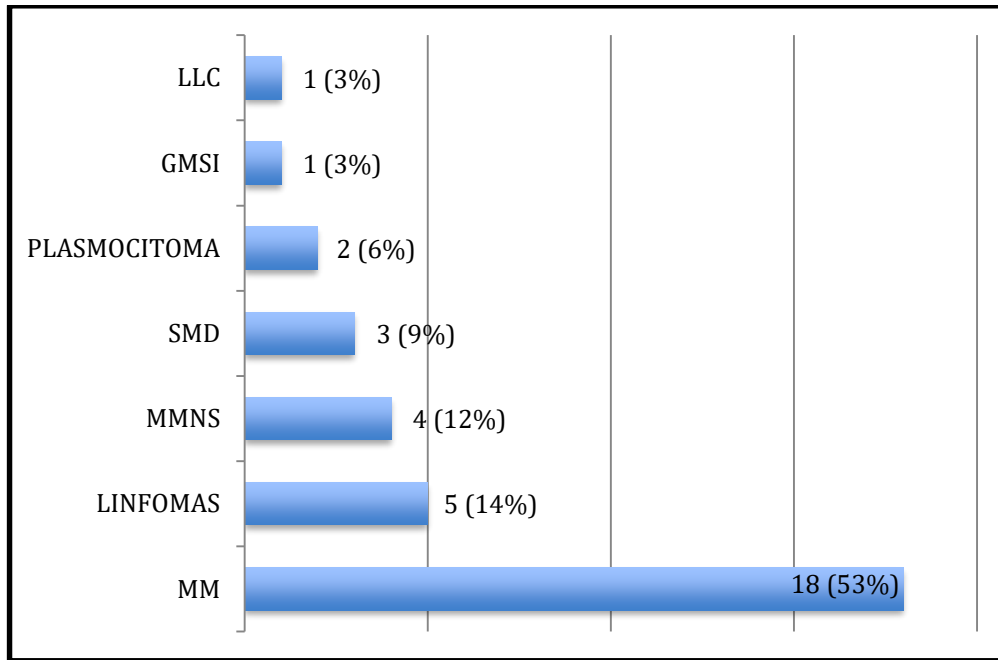
Figura 6. Distribución de las GM por grupo de edades.

Fuente. Resultados del Laboratorio Gamma Portoviejo

Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

En el 2018, en un estudio de setenta y tres pacientes cubanos con GM, el promedio de edad fue de 59 ± 13.5 años, con una media de 60 años, el paciente con mayor edad tenía 94 años y en el grupo de 60 a 69 fue donde se registró el mayor número de caso de GM (46). Dado que muchas GM se detectan en edades y estadios avanzados, uno de los grandes retos de la medicina moderna sigue siendo el diagnóstico oportuno de las GM, lo cual puede lograrse realizando estudios de laboratorio adecuados con el fin prevenir, diagnosticar y monitorizar las GM (5).

De las 34 GM detectadas en las ELP, 18 (53%) correspondieron al diagnóstico de MM, 5 (14%) a Linfomas: dos No Hodgkin (LNH) difuso, dos a LNH y un caso a Linfoma de Hodgkin (LH); 4 (12%) a MMNS, 4 (12%) a Síndrome mielodisplásico (SMD); 2 (6%) Plasmocitomas solitarios, 1 (3%) GMSI y 1 (3%) caso de Leucemia linfoide crónica (LLC) (**figura 7**). Es importante señalar que el diagnóstico de las GM fue referido en las historias clínicas del médico tratante del Hospital Oncológico “Dr Julio Villacreses Colmont”.



MM. Mieloma múltipe; LINFOMAS. Linfoma Hodgkin, No Hodgkin, No Hodgkin difuso; MMNS. Mieloma múltipe no secretor; SMD. Síndrome mielodisplásico; GMSI. Gammapatía Monoclonal de significado incierto; LLC. Leucemia linfoide crónica.

Figura 7. Distribución por diagnóstico de las GM.

Fuente. Historias clínicas del hospital "Dr. Julio Villacreses"

Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

Como lo menciona Bravo M, et al (España, 2016), las GM comprenden un conjunto de alteraciones caracterizadas por la producción descontrolada de un clon de CP, produciendo moléculas de Ig o sus fragmentos. La GMSI se caracteriza por ser benigna atribuibles al porcentaje de CP encontrados en la MO <10%, esta presenta un riesgo de progresión a MM de un 1% anual y aumenta con la edad. El MM es la GM hallada con mayor frecuencia y se caracteriza por daños multisistémicos secundarios a la producción clonal, infiltración de CP $\geq 10\%$ (3).

El Plasmocitoma se caracteriza por la presencia de una lesión ósea aislada, con infiltración de CP clonales demostrada por biopsia pero sin infiltración medular ni síntomas CRAB (3). Los SMD constituyen un conjunto de trastornos caracterizados por citopenias progresivas, son de etiologías desconocida e incluyen alteraciones de hematopoyesis, citogenéticas, moleculares e inmunológicas (47). Los linfomas son un tipo de neoplasias de las células linfoide que se subdividen morfológicamente en Linfoma de Hodgkin y No Hodgkin (48).

Es importante recalcar, que como se mencionó con anterioridad, en las ELP que obtuvieron un patrón normal (19%) (**figura 8**), no se descarta la presencia de algún CM, pues siempre que exista sospecha clínica de alguna discrasia de CP, esto amerita la utilización de otras herramientas diagnósticas para su confirmación, en algunos casos el CM resulta indetectable por los métodos tradicionales, presentando un patrón electroforético normal y secretando fragmentos de Ig en pequeñas cantidades, solo detectadas por métodos de mayor sensibilidad como la determinación de CLLs principalmente en los casos de MMNS (45).

La hipogammaglobulinemia es característica de paciente inmunosuprimido ya sea por causas propias patológicas del sistema inmunológico o inducida por medicamentos (**figura 9**) (33).

El patrón inflamatorio crónico se caracterizó por el descenso de la fracción Alb en relación a la desnutrición, hiperalfaglobulinemia a expensas de alfa 1 Globulinas y está relacionado desde el punto de vista etiológico con procesos inflamatorios agudos que se cronifican o procesos que afectan principalmente en forma secundaria al tejido conectivo (**figura 10**) (33).

El patrón de GM se caracterizó por un pico monoclonal correspondiente a la presencia en el suero de una Ig monoclonal completa o de una de sus cadenas, este puede aparecer en la región gamma (**figura 11**), beta-gamma y en raras ocasiones en la región alfa 2 globulinas (42).

El patrón inflamatorio agudo vino definido por el ascenso de las alfa globulinas que en su mayoría se comportaron como reactantes de fase aguda, en ocasiones acompañadas de la disminución de la Alb como respuesta al descenso de la presión osmótica. Este tipo de patrón se observó en enfermedades como en infecciones, necrosis hística, situaciones de estrés, traumatismo, cirugías, embarazo, neoplasias (**figura 12**) (33).

La hipergammaglobulinemia o patrón de GP sin alteración del resto de las fracciones es una expresión de respuesta reactiva del sistema mononuclear fagocítico ante

estímulos antigénicos persistentes, el ascenso se produce en varias de la Ig y aumenta el fibrinógeno como reactante de fase aguda (**figura 13**). El patrón de enfermedad hepática puede presentarse como un patrón de inflamación crónica o una GP y se caracteriza cualitativamente en el ELP por un llamado puente beta-gamma en el proteinograma (**figura 14**) (33).

Se consideró un patrón anormal a todo aquel resultado de ELP con aumento o disminución de alguna de las fracciones electroforéticas de forma aislada, excluyendo la fracción gamma. Esto puede ocurrir por múltiples causas relacionado a la o las proteínas que migran en cada región (**figura 15**) (33).

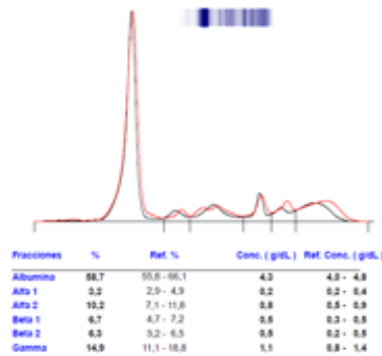


Figura 8. Patrón normal en ELP
Fuente. Resultados del Lab. clínico Gamma Portoviejo
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

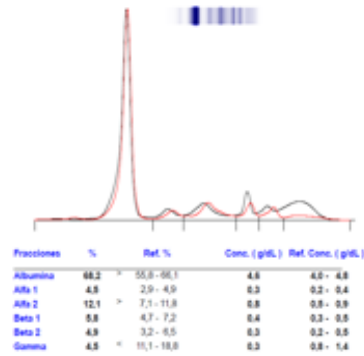


Figura 9. Patrón de hipogammaglobulinemia
Fuente. Resultados del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

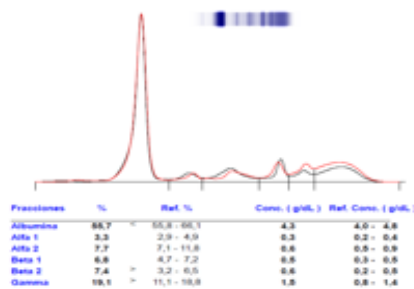


Figura 10. Patrón inflamatorio crónico
Fuente. Resultados del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

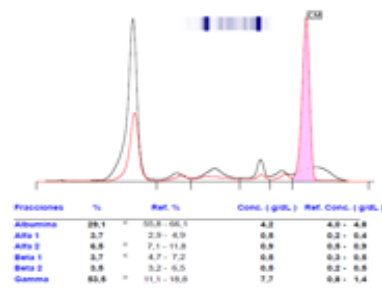


Figura 11. Patrón de GM
Fuente. Resultados del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

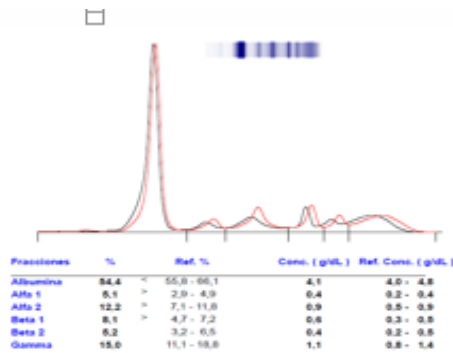


Figura 12. Patrón inflamatorio agudo
Fuente. Resultados del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

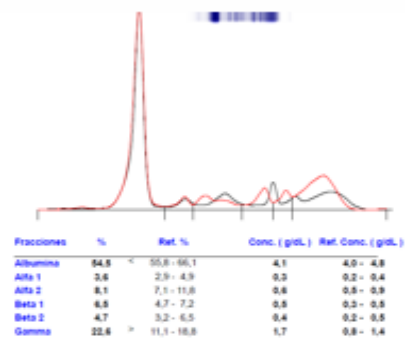


Figura 13. Patrón de hipergammaglobulinemia
Fuente. Resultados del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

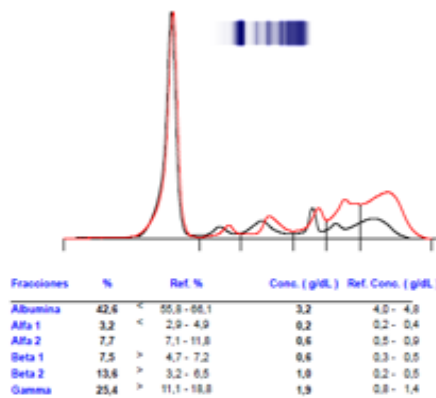


Figura 14. Patrón de enfermedad hepática
Fuente. Resultados del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

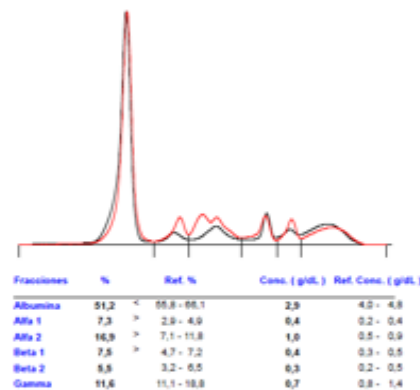


Figura 15. Patrón anormal
Fuente. Resultados del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

4.2 Análisis de los resultados de la electroforesis de inmunotipificación de las gammapatías monoclonales encontradas

La inmunofijación en suero o su variante la IT, consiste en la detección, mediante electroforesis y uso de anticuerpos, de proteínas monoclonales o CM. La IT está indicada en los pacientes que presentan un pico en las regiones beta o gamma de las ELP que tienen sospecha de discrasia de CP, especialmente en el MM. De igual manera, si no es evidente la banda o pico monoclonal en la ELP, pero hay sospecha clínica de este tipo de neoplasia, está indicado la IT, ya que al poseer mayor sensibilidad y uso de anticuerpos específicos ayuda a identificar el CM. En la literatura se plantea que en el 93% de los casos de pacientes con MM se detecta una proteína M en la IT y la cifra aumenta a 97% si se complementa con IF en orina. Por ello, se recomienda que la búsqueda del CM se realice tanto en suero como en orina. Aunque no cuantifica el componente monotípico, se emplea para el seguimiento y evaluación de respuesta al tratamiento de pacientes con estas neoplasias (49).

Del total de las ELP estudiadas, a 42 de ellas (17,7%) se les realizó IT y de estas 29 casos (69%) dieron positivos, es decir, se tipificó la GM (**figura 16**).

Esta es una técnica que aporta mayor sensibilidad para el diagnóstico de GM que la ELP, pudiendo detectar concentraciones de CM de 150 mg/L a 500 mg/L, pero no es de utilidad en el diagnóstico de MMNS el cual se caracteriza por un patrón electroforético normal y una producción constante de concentraciones de cadenas livianas menores al límite de detección de la IT (5).

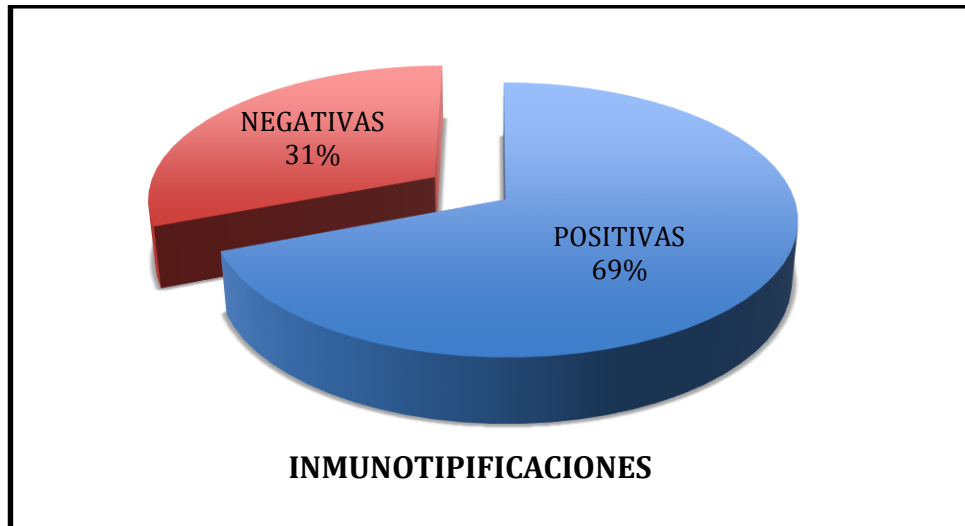


Figura 16. Inmunotipificaciones realizadas del total de las electroforesis

Fuente: Resultados de las IT del laboratorio clínico Gamma Portoviejo

Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

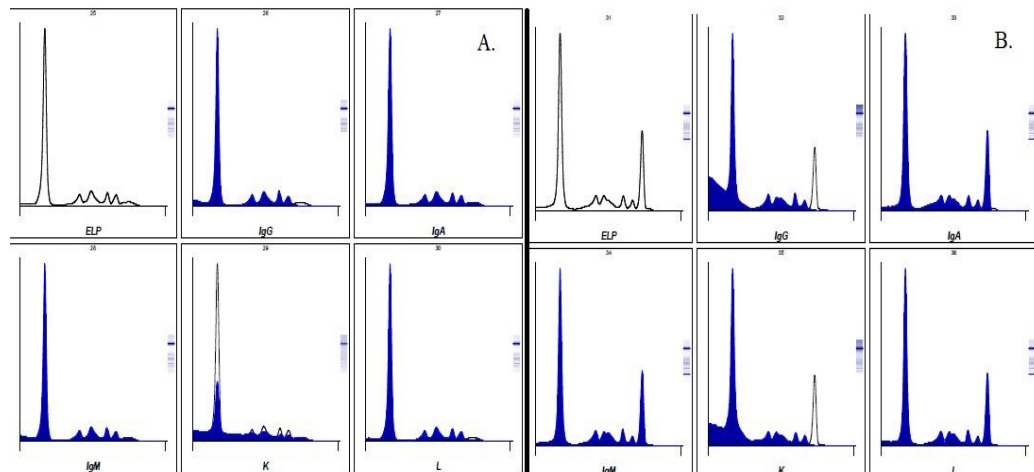


Figura 17. A: Inmunotipificación Negativa; B: Inmunotipificación Positiva para Componente Monoclonal IgG K.

Fuente: Resultados de las IT del laboratorio clínico Gamma Portoviejo

Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

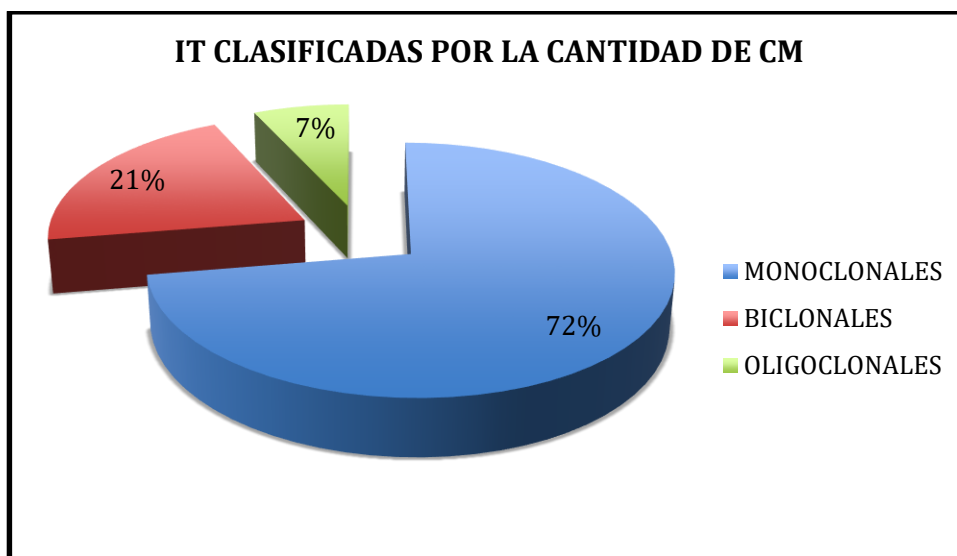


Figura 18. Inmunotipificaciones positivas para CM

Fuente: Resultados de las IT del Laboratorio Gamma Portoviejo

Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

En la **figura 18** se detalla el porcentaje respectivo a la monoclonalidad de las IT positivas, se demuestra que 21 casos (72%) correspondieron a componentes monoclonales, 6 casos (21%) tuvieron dos componentes monoclonales implicados, es decir una biclonalidad (GB) y 2 casos (7%) componentes oligoclonales.

La **tabla 8** expone los casos de GB, los cuales revelaron 2 casos en que el CM fue de la misma cadena pesada y ligera, estas fueron de tipo IgG κ , 2 casos en donde hubo igual cadena ligera y distinta cadena pesada, IgG κ + IgM κ , 1 caso que tanto la cadena pesada y la ligera fueron distintas, IgG κ + IgA λ y 1 caso que solo estuvo involucrada la cadena ligera de tipo κ .

Tabla 8. Casos de Biclonalidad

CM INVOLUCRADOS	Nº de CASOS
2 IgG κ	2
IgG κ + IgM κ	2
IgG κ + IgA λ	1
2 CLLs κ	1
TOTAL	6

Fuente. Resultados de IT del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo

Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

Una investigación retrospectiva realizada en Madrid, España (2014), sobre Gammapatías biconales desde 1970 a 2011 encontraron con mayor frecuencia la asociación de CM de tipo IgG-IgG. El análisis de las cadenas ligeras muestra resultados que se sitúan en los valores conocidos de publicaciones previas, encontrándose cadenas κ en un 60,6% (50). Este estudio demuestra similitud con los casos de biconalidad encontrados en la investigación, los cuales en su totalidad comprendía de tipos de CM asociados a cadenas IgG y κ .

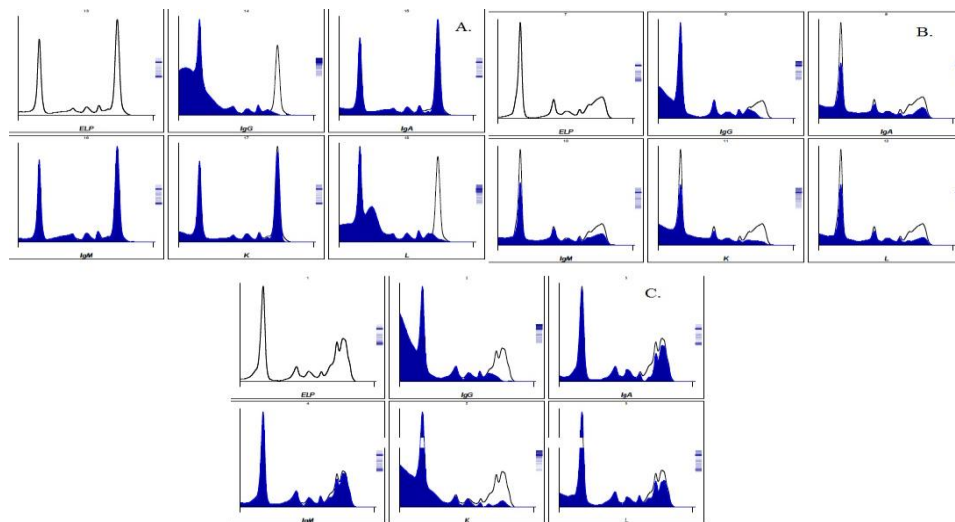


Figura 19. A: Inmunotipificación Positiva IgG Lambda; B: Inmunotipificación Positiva IgG Kappa-IgA Lambda; C: Inmunotipificación Positiva oligoclonal 2 IgG Kappa-1 débil IgA Kappa.

Fuente: Resultados de las IT del Laboratorio Gamma Portoviejo.

Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

Las IT fueron realizadas por la técnica MINICAP INMUNOTYPING basada en el principio de la electroforesis capilar en solución libre. Las proteínas son separadas y detectadas directamente durante la migración mediante absorbancia UV. Las Ig reaccionan específicamente con su antisuero correspondiente. Al resultado final del análisis, sobre cada perfil del antisuero (IgG, IgA, IgM, κ y λ) se superpone la curva de la ELP, la desaparición o sustracción en el perfil tratado con el antisuero en la fracción gamma o beta-gamma indica la presencia de una proteína monoclonal (37). Como se observa en la **figura 17** unos ejemplos que respectan a resultados de las IT, uno de ellas negativa (A) donde no hay ninguna sustracción en los perfiles y en el otro muestra un resultado positivo donde es evidente la sustracción en los perfiles IgG y κ , es decir, la IT es positiva para CM de tipo IgG κ . En la **figura 19**, se exponen otros ejemplos de IT

positivas, en el ejemplo A corresponde a una IT de tipo IgG γ , en el B trata de una GB de tipo IgG κ – IgA λ y en el C comprende una Gammapatía oligoclonal con tres CM: dos de tipo IgG κ y uno débil de tipo IgA κ . La **figura 21** exhibe dos casos más, (A) de tipo IgM κ y (B) de tipo de cadena ligera λ .

Se conoce que las GM se asocian a la producción de un clon de CP, el cual se produce de manera descontrolada en la MO (1). Las Gammapatías biclonales se caracterizan por la producción de dos CM, por lo general relacionadas a discrasias de CP, también se puede encontrar asociadas a otras neoplasias hematológicas, especialmente las linfoides de estirpe B, a enfermedades de tipo autoinmune o a crioglobulinemia (50). Las oligoclonales generalmente están asociadas con infecciones crónicas, enfermedades por inmunocomplejos, autoinmunes, hepatitis crónicas y en algunos casos con pacientes VIH positivos (51). Existen pocos estudios relacionados a los tipos de clonalidades de las GM.

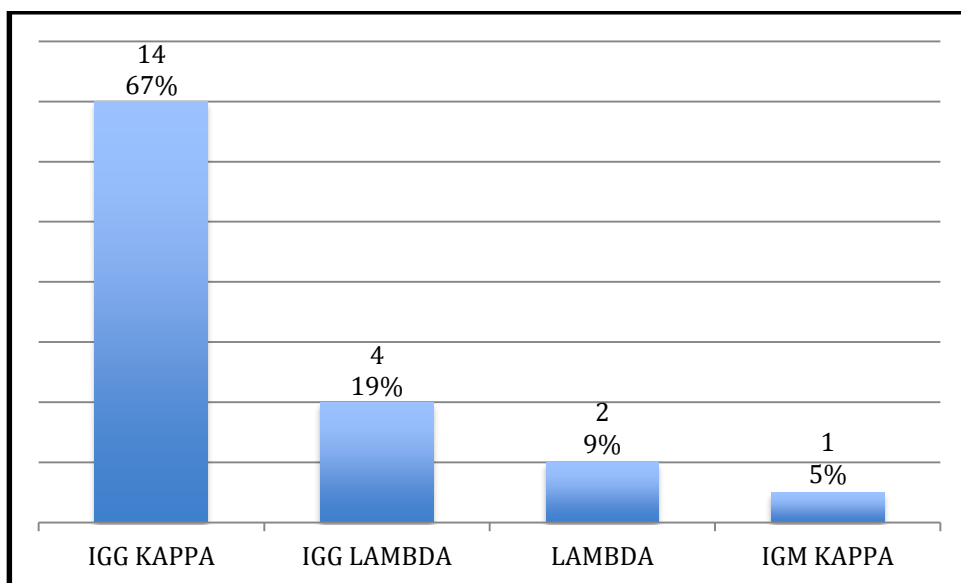


Figura 20. Inmunotipificaciones positivas de acuerdo al CM involucrado

Fuente: Resultados de las IT del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo

Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

Del total de IT positivas para CM se obtuvo que 14 casos (67%) fueron de tipo IgG κ , 4 casos (19%) de tipo IgG λ , 2 casos (5%) de tipo IgM κ y 1 caso (9%) se presentó en forma de cadena ligera de tipo λ (**figura 20**). El predominio del CM de tipo IgG guarda relación con otros estudios, que indican una mayor cantidad de pacientes con MM de tipo IgG. Citando un estudio similar publicado en el año 2013 por el Instituto de

Hematología e Inmunología de la Habana Cuba, se analizaron 285 pacientes con diagnóstico de MM, obteniendo como resultado que un 72,28% presentaron MM de tipo IgG, 25,62% MM de tipo IgA y 2,1 MM de tipo IgM (52).

De igual forma, en un estudio del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas de Lima, Perú en el 2016, una cohorte conformada por 92 pacientes diagnosticados con MM, 59% presentaron CM de tipo IgG, 25% IgA y el 13% tenían producción exclusiva de CL (53). En otra investigación realizada en Taiwán, China, sobre la distribución de inmunotipado de la paraproteína monoclonal sérica entre agosto del 2013 a junio del 2015, se evaluaron 327 ELP, 46 casos correspondieron a ELP positivas. La distribución de inmunotipado más frecuente en suero fue IgG κ con 25 casos, seguida con IgA λ 7 casos y e IgG λ en sujetos con GM (54).

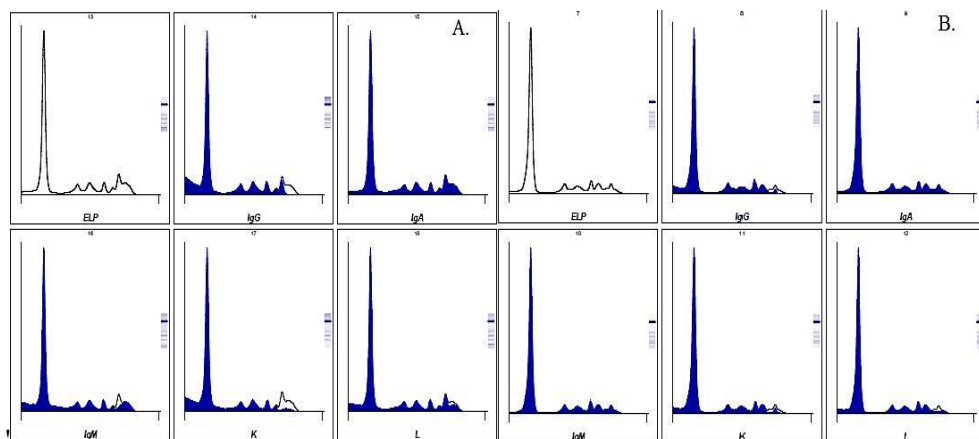


Figura 21. A: Inmunotipificación Positiva IgM Kappa; B: Inmunotipificación Positiva Lambda.
Fuente. Resultados de IT del laboratorio Gamma Portoviejo.
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

Tabla 9. Relación del resultado de la Ig implicada en función con el CM detectado.

Tipo de CM	Número total de casos	Ig implicada elevada con respecto al total de CM		Ig implicada y descenso de al menos una de las otras	
		n	%	n	%
IgG	18	11	61.1	6	33.3
IgM	3	2	66.67	0	0

Fuente. Historias clínicas el hospital oncológico “Dr. Julio Villacreses Colomont” y resultados de IT del laboratorio Gamma Portoviejo
Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

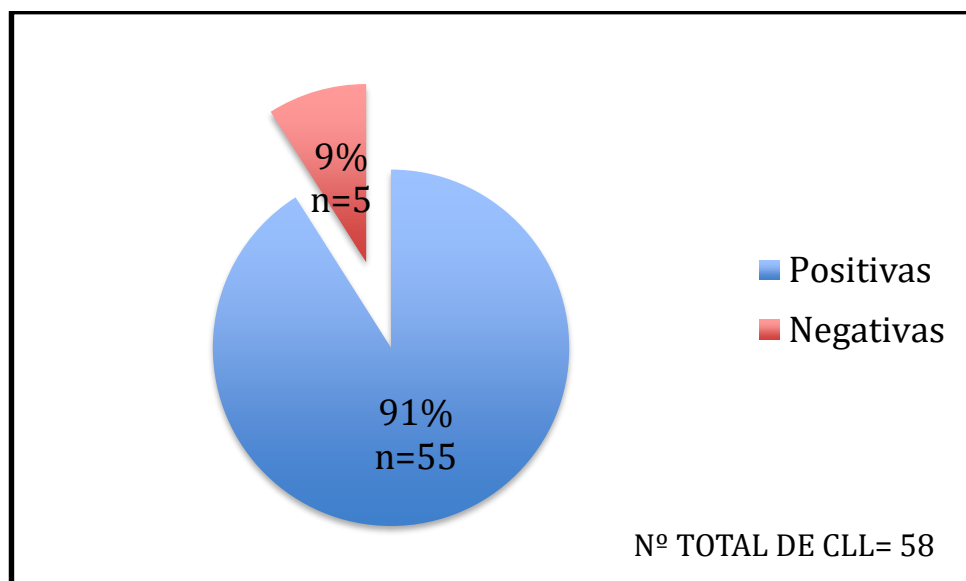
La cuantificación de las Ig, según su rango de referencia, se relacionó con el tipo de CM identificado en los pacientes con MM. En el 61,1% de los CM de tipo IgG y el

66,67% de tipo IgM presentaron concentraciones de la Ig implicada por encima de los rangos de referencia. Al analizar CM e Ig implicada junto con el descenso de las otras Ig, se observa que un 33,3% de los isotipos IgG existe disminución de la concentración de alguna de las otras dos Ig (A o M). De los demás CM no se evidenció descenso de las Ig no implicadas (**tabla 9**).

Mientras que en una investigación en La Habana, Cuba (2012), reveló resultados que difieren a los de la investigación. En un total de 53 casos de CM IgG, sólo un 28,3% resultaron con valores por encima del rango de referencia de la Ig implicada y, un 11,3% de los casos se observó un disminución de la concentración de las otras Ig de manera simultánea (55).

4.3 Valores de concentración de CLLs involucrada y no involucrada y el radio κ/λ

La determinación de CLLs es un marcador imprescindible para el diagnóstico y seguimiento de las GM, existiendo inmunoensayos que cuantifican las cadenas κ y λ de manera automatizada, aportando gran especificidad y sensibilidad al diagnóstico de las GM. Desde el año 2009 hasta la actualidad, el IMWG recomienda la combinación de ELP, ITP y CLLs para el diagnóstico y seguimiento de las GM (56).



Positivas: fuera de los rangos de referencia, Negativas: dentro de los rangos de referencia

Figura 22. Total de CLLs (n=60) realizadas al total de las ELP

Fuente: Resultados del laboratorio clínico Gamma Portoviejo

Elaborado: Talledo Pinargote Digo Antonio, Zamora Cedeño Aron Rafael

Se realizaron 58 ensayos de CLLs del total de las 237 ELP. En la **figura 22** se observa que del total de las CLLs realizadas 53 (91%) presentaron resultados mayores a los valores de referencia en κ , λ o ambas. Las 5 restantes dieron valores dentro del rango de referencia.

En este trabajo con el resultado de 53 CLLs positivas para la presencia de GM, se sumaron 19 pacientes, a las 34 GM encontradas en las ELP (con solo 29 IT positivas), por lo que la cuantificación de CLLs aumentó la posibilidad de detección de MM.

En muchos estudios se conoce la importancia del uso de CLLs para la detección de CM por su gran sensibilidad. Bakshi et al, en el año 2005 identificó 39 GM de un total de 1.003 muestras con ayuda de técnicas de ELP, además con ayuda de las CLLs sumó 16 pacientes aumentando la tasa de detección en un 43% (57). Un estudio análogo en Chile, reveló que de un total de 312 pacientes estudiados, al incorporar el estudio de CLL hubo un incremento del 29% de sensibilidad. Demostrando que este ensayo aporta mayor sensibilidad al diagnóstico y seguimiento de las GM (56).

En el año 2016, en Perú, la determinación de las concentraciones de CLLs y la evaluación del radio κ/λ fue útil en la detección de 81 del total de 92 pacientes con MM. Al analizar de manera conjunta los métodos de ELP, IT y CLLs se observó un incremento en la sensibilidad de detección, logrando un diagnóstico acertado del 100% (53).

Durante varios años, los intentos de detección de CLL, no tuvieron éxitos ya que ningún método analítico fue capaz de distinguir entre cadena libre unidas a Ig intactas y CLLs. Sin embargo, a principio del año 2000 se desarrolló un ensayo capaz de detectar el epítipo oculto en Ig intacta y visible en CLL. Debido a la corta vida media de las CLL (2-6h), el ensayo puede ser útil potencialmente para un monitoreo temprano de la eficacia de un tratamiento aplicado (58).

El ensayo de CLT cuantifica cadenas κ y λ unidas a la Ig intacta. Sin embargo, el inmunoensayo de CLLs utiliza un suero policlonal específico para detectar epítipes de las cadenas ligeras libres κ y λ , aportando mayor sensibilidad en las GM (32). Los ensayos CLT detectan y cuantifican CL (κ y λ) libres y unidas, es decir tiene intervalos

de referencia en suero mucho mayores que el ensayo de CLLs. El ensayo de CLT determina monoclonalidad cuando las concentraciones son mayores de 4 o 5 g/L, además, las mediciones en el radio κ/λ no se relacionan de manera consistente con resultados de ELP, IF y, por tanto, no es una prueba recomendada para la clasificación o seguimiento de pacientes con MM (32).

Tabla 10. Comparación de los valores de la Relación κ/λ en cuanto a las pruebas empleadas, por la prueba Wilcoxon.

Prueba	Valores		Wilcoxon Valor-p
	Media	Desviación estándar	
CLLs	4,57	2,05	0,021
CLT	2,66	1,05	

Fuente. Historias clínicas del Hospital oncológico “Dr. Julio Villacreses” y resultados del laboratorio Gamma Portoviejo.

Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

En este trabajo se realizó una selección de aquellos pacientes que les habían realizado el ensayo de CLT y CLLs. Al comparar los valores del radio κ/λ obtenidos por las dos técnicas diferentes, se obtuvo que los valores del radio κ/λ por la técnica CLLs, fueron significativamente mayores a los reportados por la prueba CLT (**tabla 10**). Como se puede observar de $p=0,021$ ($p<0,05$) por lo que existen diferencias significativas entre ambos valores.

Al relacionar los resultados obtenidos por las dos técnicas, como el ensayo de CLL en los pacientes de estudio, el resultado fue positivo para todos los resultados de CLLs, sin embargo, empleando el ensayo de CLT solo en dos pacientes el resultado fue positivo (**tabla 10**). Al aplicar la prueba Mc Nemar para comparar los resultados obtenidos por las dos técnicas en los mismos pacientes, se obtuvo un valor de $p = 0,016$ ($p<0,05$), demostrándose nuevamente que existen diferencias significativas en los resultados obtenidos por los dos métodos.

Tabla 11. Tabla cruzada de los resultados obtenidos de las dos técnicas

Resultado CLLs	Resultado CLT	
	Positivo	Negativo
Positivo	2	7
Negativo	0	0

Fuentes. Historias clínicas del hospital “Dr. Julio Villacreses Colmont”. Resultados del laboratorio clínico Gamma Portoviejo
Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio

En un estudio realizado en el 2017 sobre la validación clínica del ensayo de CLL de Seralite®, un total de 576 pacientes se clasificaron como MM de caso de cadenas livianas porque no tenían una proteína M intacta en la IF sérica y tenía una CLL monoclonal detectado por IF en orina. De estos pacientes, el 81% también tenían una CLL detectable en suero por IF. Notablemente, independientemente de los niveles de CLL en orina, la relación sérica κ/λ fue anormal en todos los pacientes, y por lo tanto, pudieron diagnosticar con sensibilidad el mieloma de casos de cadenas livianas independientemente de los resultado en orina (59).

4.4 Relación entre los resultados de las pruebas de detección de monoclonalidad en su utilidad con el diagnóstico de las GM

En el 2009, el IMWG realizó un conjunto de recomendaciones acerca del esquema de diagnóstico inicial referido a la detección de la proteína monoclonal o CM. Esas guías son aceptadas y usadas en varios países, las cuales recomiendan la realización de una ELP junto con un ensayo de CLLs de la misma muestra y si una o ambas dieran positivas, sobre la misma muestra realizar una inmunofijación para tipificar la GM (43).

Según las directrices del IMWG para el análisis de CLLs en el MM y trastornos relacionados, de los pacientes que tienen una enfermedad no secretora u oligosecretora, y para la mayoría de los pacientes con AL, los métodos tradicionales (ELP, IF y medición nefelométrica de cadenas pesadas) no son adecuadas. El desarrollo del ensayo de CLLs ha demostrado su utilidad para el seguimiento de estos pacientes (43).

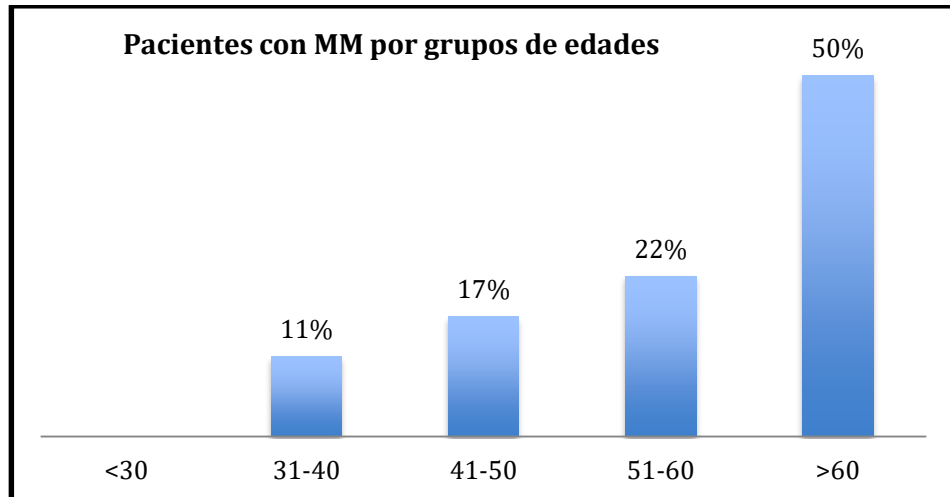


Figura 23. Distribución de pacientes con MM según grupo de edades
Fuente: Historias clínicas del hospital oncológico “Dr. Julio Villacreces Colmont”
Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

Del total de las 34 GM en las ELP, más los 19 pacientes adicionales con CLLs positivas, encontrados, 18 pacientes cursaban con diagnóstico clínico de MM de acuerdo a las historias clínicas del Hospital oncológico “Dr. Julio Villacreces Colmont”. El 50% de ellos correspondía a personas mayores de 60 años (**figura 23**). En España más del 75% de los casos de MM ocurren en personas mayores a los 60 años. El 11% de los pacientes con MM se encontraban entre los 31 a 40 años de edad (60).

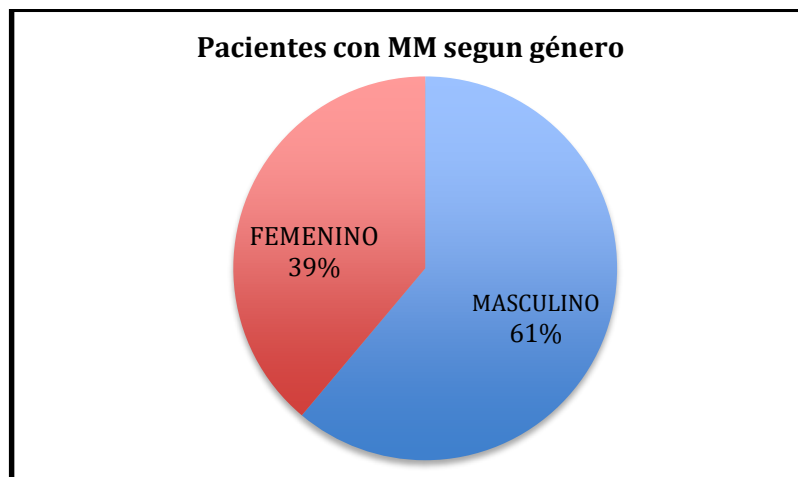


Figura 24. Distribución de pacientes con MM según género
Fuente: Historias clínicas del hospital oncológico “Dr. Julio Villacreces Colmont”
Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

En la actualidad, el MM es considerado como una enfermedad de etiología desconocida. Sin embargo, existen ciertos factores de riesgo asociados a diferentes características como la edad, género, antecedentes familiares, entre otros. Un

documento elaborado por la organización global EY (*Ernst & Young Global Limited*) acerca de la situación actual del MM en España (2018) menciona que el género masculino presenta mayor frecuencia, aunque no existe gran diferencia entre ambos géneros (60).

Como se expone en la **figura 24**, el 61% de los casos de MM corresponden a pacientes del género masculino y 39% al femenino. El 15% de los pacientes masculinos eran menores de 40 años.

Un estudio realizado en Lima, Perú, entre los años 2009 y 2014 se evaluaron 125 pacientes con diagnóstico de MM, el 64,8% correspondieron al género masculino y el 35,2% al femenino, el 2,4% de las mujeres eran menores de 40 años. La edad media de presentación fue de 66 años con rangos de edades de 31 a 92 años (61)

En la investigación existieron dos poblaciones del total de las 237 ELP, unos pacientes a quienes se les realizó IT y aquellos CLLs, sin embargo, de los dos grupos existieron a los que se les había indicado ambos ensayos.

Del total de los pacientes con ELP a quienes le realizaron IT (n=42) y del total de aquellos que se les indicó las CLLs (n=58) se seleccionó los casos que tenían ambos ensayos realizados. El número de casos quedó constituido a 21, dentro de los cuales se escogieron las IT que dieron resultados positivos y se los comparó con los valores de CLLs, obteniendo que 14 (67% del total de las 21 IT) fueron positivas y 12 de ellas presentaron valores de CLLs por encima del rango de referencia (86% del total de las 14 IT positivas) **tabla 12**.

Tabla 12. Casos a quienes se les realizaron ambos ensayos: IT y CLLs (n=21).

	IT	>CLLs
POSITIVAS	14	12
NEGATIVAS	7	6
TOTAL	21	18

**Se consideró positivas las IT que presentaron sustracción en el perfil de la Ig o CL implicada y positivas las CLLs que sobrepasaban el valor de referencia (κ : 5,2-22.7 mg/L; λ : 4.0-25.0 mg/L)*

Fuente. Resultados del Laboratorio clínico Gamma Portoviejo

Elaborado. Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael.

Se evidenció que de los pacientes con MM (n=18), el ensayo de CLLs se les realizó a 15 de ellos, los cuales 12 presentaron valores por encima del rango de referencia en el radio κ/λ . Es decir, el 93% de los pacientes con MM que fueron diagnosticados por criterio médico basándose en los métodos tradicionales para el diagnóstico, junto con la sintomatología y otros estudios (contaje de CP, estudios de imagen, variables químicas) fueron positivos. Los casos negativos estaban bajo tratamiento y se encontraban en una fase de remisión de la enfermedad.

Según García J, et al (2017), en una publicación sobre algoritmo para el estudio de pacientes con sospecha de GM se refiere a que la normalización del radio κ/λ tras el tratamiento del MM es fundamental en la definición de la respuesta completa y que tiene un valor pronóstico en los pacientes en remisión de la enfermedad (62). En una publicación del *International Myeloma Foundation* sobre los ensayos de CLL (EEUU, 2016) destaca que el ensayo de CLL permite detectar niveles moderadamente altos, incluso si estos son indetectables por ELP e IF, significa que el MM podría detectarse antes que en los métodos tradicionales (ELP e IF) (63).

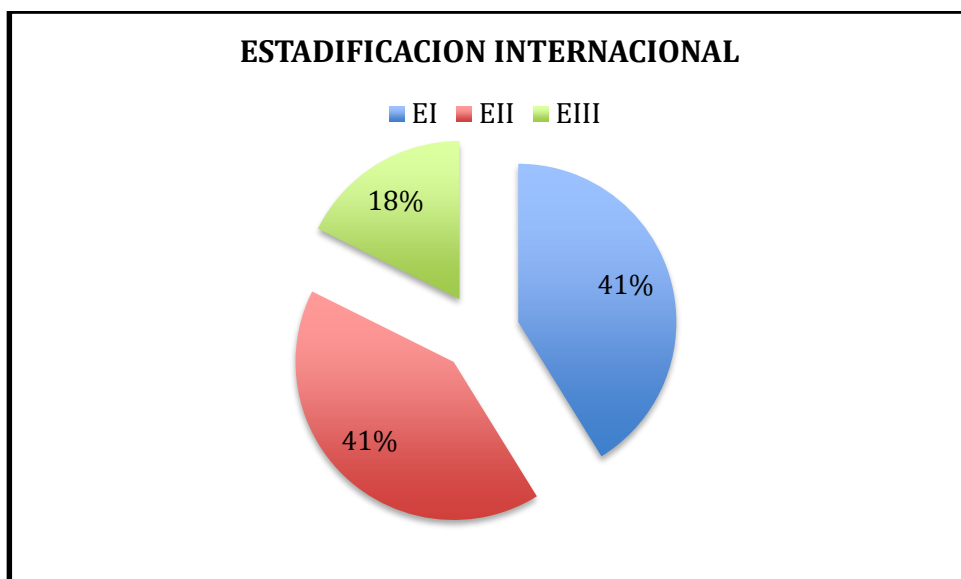


Figura 25. Estadificación internacional (ISS) de los pacientes con MM según resultados de las H.C.
Fuente: Historias clínicas del hospital oncológico "Dr. Julio Villacrece Colmont" y resultados del laboratorio clínico Gamma Portoviejo
Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

El Pronóstico Internacional para Mieloma, tiene gran relación predictiva para los médicos, en la cual se observan dos parámetros importantes: la B2M y la Alb. Si ambos son normales y uno o los dos anormales se clasifican en estadios (E) I, II y III. (64) .

De los 18 casos con MM se realizó un análisis con el resultado de las variables químicas B2M y Alb para clasificar el estadiaje de la enfermedad según el ISS. Estos resultados se tomaron en cuenta con los valores obtenidos de las historias clínicas con la finalidad de conocer los estadios pronósticos de la enfermedad y dar correlación de parámetros bioquímicos y su utilidad diagnóstica. En la investigación se obtuvo como resultado que 7 (41%) de los pacientes con MM se encontraban en EI y presentaron niveles de CLL normales o ligeramente elevada, mientras que los pacientes en EIII representaron el 18% de los pacientes con MM y presentaron concentraciones de CLL en cantidades elevadas (**figura 25**).

En Perú (2017), en un estudio de evolución de MM clasificados por ISS, el 40% de 125 pacientes tuvo EIII, 34,4% EI. La sobrevida promedio fue 25,7 meses; en pacientes con EI fue de meses, EII 24,8 meses y EIII 22 meses: 68 pacientes fallecieron (61).

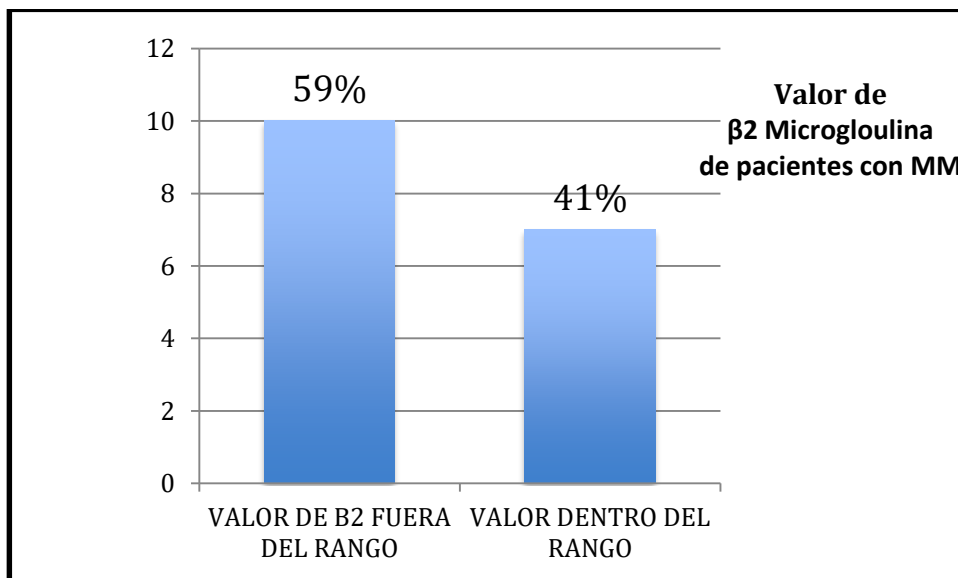


Figura 26. Relación de los valores de B2M de los pacientes con MM
Fuente: Historias clínicas del hospital oncológico “Dr. Julio Villacreces Colmont”
Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron Rafael

La B2M juega un papel fundamental en el pronóstico de varias neoplasias hematológicas. Esta se puede cuantificar en suero a través de diversos ensayos estandarizados, siendo de gran utilidad al momento del diagnóstico de las diferentes gammopatías como factor pronóstico (65).

En los resultados encontrados de los pacientes con MM, se observó que un 59% presentó valores de B2M mayores al rango de referencia, además también presentaron valores elevados de las CLLs (**figura 26**).

En un estudio realizado en el 2014 en México, se estudiaron 35 pacientes con MM, encontrándose anemia 68%, hipercalcemia 34%, creatinina elevada 32%, B2M aumentada en un 45%, los cuales son factores pronóstico que permiten conocer la gravedad de la enfermedad (66). El factor pronóstico individual más importante corresponde a la concentración de B2M; valores elevados pronostican una mortalidad temprana.

Tabla 13. Variables analíticas de los pacientes con MM

Variables analíticas en pacientes con MM		Valores patológicos %	Valores normales %
Hemoglobina	Hombres	31	69
	Mujeres	12	88
Creatinina	Hombres	15	85
	Mujeres	12	88
Calcio	Hombres y mujeres	28	72

Fuente: Historias clínicas del hospital "Dr. Julio Villacreces Colmont"
Elaborado: Talledo Pinargote Diego Antonio. Zamora Cedeño Aron

En pacientes con MM la anemia es la complicación más frecuente (73%), está asociada a la progresión de la enfermedad y es un factor pronóstico desfavorable. La hipercalcemia es menos común en un 15% a 20% de los pacientes con MM. La Insuficiencia Renal también es un marcador pronóstico desfavorable, la creatinina está mayor a 2mg/dl en un 20% de los pacientes al momento de su diagnóstico y en un 50% en la evolución de la enfermedad (67). Así mismo, Smith y Yong (2013), indican que las afecciones secundarias más comunes del MM son la anemia (observados en el 75% de los pacientes al diagnóstico), la hipercalcemia (25%), deterioro renal (25%) y la enfermedad ósea (70%) (68).

Como los estudios anteriormente citados demuestran que la anemia, hipercalcemia y afectación renal y ósea son muy frecuentes en MM, sin embargo, en la **tabla 11** dentro de los pacientes con MM se obtuvo que solamente un bajo porcentaje de ellos presentaron anemia (hombres 31%, mujeres 12%), creatinina sérica elevada (hombres 15% y mujeres 12%) y ninguno de ellos presentó hipercalcemia, esto puede ser debido a que la mayoría se encuentra en tratamiento y ha tenido una recuperación favorable al mismo.

CAPÍTULO 5.

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

El 14% de las electroforesis estudiadas fueron GM, la mayoría pacientes del género masculino, el promedio de edad fue de 64 años, con un intervalo de 31-87 años. Más de la mitad de los casos tenían diagnóstico clínico de MM de los cuales el 15% de los pacientes masculinos eran menores de 40 años.

De las IT realizadas el 69% dieron positivas, la mayoría con un único componente monoclonal de tipo IgG kappa aunque se observaron componentes oligoclonales. Esta prueba no demostró utilidad en el diagnóstico de los casos con Mieloma múltiple no secretor.

El 91% del total de las CLLs realizadas presentaron resultados de la relación κ/λ mayores a los valores de referencia. La cuantificación de CLLs aumentó la posibilidad de detección de MM. Los resultados del radio κ/λ por la técnica de CLLs fueron significativamente mayores a los reportados por la prueba tradicionalmente usada de CLT.

A la mayoría de los pacientes con MM diagnosticados clínicamente les dieron positivas tanto la inmunotipificación como el ensayo de CLLs, corroborándose en los casos negativos un valor pronóstico de remisión de la enfermedad.

5.2 RECOMENDACIONES

Concienciar el uso de las guías internacionales emitidas por el IMWG para un buen diagnóstico clínico, además de tomar iniciativa en la elaboración de propias guías de diagnóstico para gammapatías monoclonales en el país y que su uso sea un estándar a nivel nacional por todos los servicios de salud.

Efectuar más investigaciones acerca GM para conocer datos demográficos, estadísticos y clínicos que aporten información necesaria para la salud nacional y se tomen medidas para mejorar el acceso a tratamientos y métodos de detección de las GM.

Trascender estos resultados y los de investigaciones posteriores para que se comprendan el problema de salud que implican estas enfermedades, con ello se sensibilicen y establezcan las pruebas no incluidas, dentro del tarifario de IESS, además de implementar en los laboratorios clínicos de servicios públicos los instrumentos necesarios para la realización de ELP, CLLs e IT, así como fortalecer la competencia del recurso humano del laboratorio acerca de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Cantillo J, Flórez A, López R, Andrade R. Gammapatía monoclonal de significado incierto. SciELO. 2014;39(2):196-201.
2. Lequerré T & Vitteco Oq. Pruebas de laboratorio en patología articular. Exploración práctica de la inmunidad innata y adaptativa (humoral y celular). ELSEVIER. 2015;48(2):1-6.
3. Bravo M, Padilla B, Nozal P, et al. Guía de laboratorio para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con gammapatías monoclonales. Rev Clin Esp. 2015;1.
4. Pizzolato M. Gammapatías monoclonales. Enfoque metodológico desde el Laboratorio. SAH. 2016;20:99-104.
5. Vázquez AP, Palma AZ. Utilidad de pruebas de laboratorio en el diagnóstico de mieloma múltiple. Medigraphic. :8.
6. Rajkumar V. Multiple myeloma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification, and management. Wiley AJH. 13 de abril de 2018;93:1091-110.
7. Rincón N. MEDICINA Y LABORATORIO Neoplasias hematológicas: un mundo aún por descubrir. Vol. 22. Editorial Médica Colombiana; 2016. 109-110 p.
8. Campos L, Barbosa N, Martín G. Valor del ensayo de las cadenas ligeras libres en suero para los pacientes de gammapatías monoclonales e insuficiencia renal. Revistanefrología. 2012;32(1):15-9.
9. Estudios genéticos del mieloma múltiple en el Ecuador [Internet]. Agencia Iberoamericana para la difusión de la ciencia y tecnología. 2016. Disponible en: <http://www.dicyt.com/noticias/estudios-geneticos-del-mieloma-multiple-en-el-ecuador>
10. Nuevos casos de cáncer aún más antiguos en momias egipcias [Internet]. Arqueología Paleorama en Red. [citado 19 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://arqueologiaenred.paleorama.es/2017/12/nuevos-casos-de-cancer-aun-mas-antiguos.html>
11. Díaz-Maque J. Historia del mieloma múltiple. Rev Biomed. 2006;17(3):225-9.
12. Brian G.M, Durie. Conceptos breves de la enfermedad y opciones de tratamiento. IMF. 2016;1(1):4-36.
13. Alvarado M, et al. Primer Consenso Nacional de Mieloma Múltiple por Hematólogos del ISSSTE. Rev Hematol Mex. 2016;16:360-322.
14. Pizzolato M. El laboratorio en el diagnóstico y seguimiento de las Gammapatías Monoclonales. SAH. 2014;18:3.
15. Incorporación de nueva tecnología: Proteinograma por electroforesis capilar. [Internet]. Cibic - Laboratorio de análisis. 2017 [citado 20 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://www.cibic.com.ar/laboratorios-bioquimicos/incorporacion-de-nueva-tecnologia-proteinograma-por-electroforesis-capilar/>

16. Caravaca F, Gutiérrez E, Delgado R, Praga M. Gammapatías monoclonales de significado renal. *Science*. 2017;37(5):465-77.
17. Morales A, Valdez L, Hernández D. Gammapatía monoclonal de significado incierto asociada con neuropatía periférica. *Med Int Mex*. 2016;32(1):129-45.
18. Provan D, Baglin T, et al. Manual de hematología clínica. 4ª. Barcelona, España: ELSEVIER; 2017. 328-330 p.
19. Corzo A, Daurte P, Kusmisky G, et al. Gammapatías monoclonales. SAH [Internet]. 2017;1. Disponible en: <http://sah.org.ar/docs/2017/002-Gammapat%C3%ADas%20Monoclonales.pdf>
20. Papadakis M, McPhee S. Diagnóstico clínico y tratamiento. 52º. Mexico: Mc Graw Hill; 2013.
21. Mieloma Multiple | Sebia [Internet]. SEBIA. 2015 [citado 5 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://sebia.com/en-EN/produits/multiple-myeloma>
22. García B, Rubio F, Crespo M. Técnica de análisis hematológico. 1º. Madrid, ES: Ediciones Paraninfo, SA; 2015. 218-220 p.
23. Castillo JJ, Kastritis E, Treon SP. Macroglobulinemia de Waldenström: lecciones aprendidas de la investigación básica y clínica. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 1 de octubre de 2018;32(5):30-4.
24. Morales A, Santos A. Macroglobulinemia de Waldenström: una visión general. *Medigraphic*. 2014;15:184-9.
25. Tinoco E. Amiloidosis. *Medigraphic*. 2015;159-62.
26. Vallés Díez I, Fernández-Montes BG, Cárdenas Fernández MC, Arroyo Fernández M. Evaluación de la electroforesis capilar como método de detección y medida de proteína de Bence Jones. *Revista del Laboratorio Clínico*. 1 de abril de 2013;6(2):60-7.
27. Méndez M. ENFERMEDAD RENAL POR DEPÓSITOS DE CADENAS LIGERAS Y PESADAS [Internet]. Hospital la Mancha-Centro; s.f. Disponible en: http://www.aehr.es/especialidades/nefrologia/nefropatia_cadenas.pdf
28. Berenson J. Enfermedades de las cadenas pesadas [Internet]. Manual MSD. 2016. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-ec/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/trastornos-de-las-c%C3%A9lulas-plasm%C3%A1ticas/enfermedades-de-las-cadenas-pesadas>
29. Trimarchi H, Lombi F, Forrester M, Pomeranz V, Ravinovich O, Stemmeling, Ruiz P, Iotti A, Young P. Enfermedad renal por depósito idiopático de cadenas livianas. Caso clínico. *Rev Med Chile*. 2013;141(3):396-401.
30. Curutchet D, Kusmisky D, Labanca D, Orlando D, Quiroga D, Avalos DS, et al. Mieloma Múltiple. SAH. 2012;1:291-315.
31. Low E. ¿Qué es el mieloma? información general sobre la enfermedad [Internet]. 2ª ed. Madrid: Asociación Española de Afectados por Linfoma, Mieloma y Leucemia; 2013. 78 p.

Disponible en: <https://www.sehh.es/images/stories/recursos/2013/pacientes/documentos-y-videos/Mieloma.pdf>

32. Delgado F. Cadenas ligeras: ¿totales o libres? Qué medir y por qué. *Rev Hematol Mex.* 2015;16:143-51.
33. Alvarez De Cienfuegos A, Tevar A. Electroforesis de proteínas plasmáticas: proteinograma. *Rev Sociedad Val Reuma.* 2017;7(1):5-7.
34. Electroforesis capilar [Internet]. News-Medical.net. 2016 [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: [https://www.news-medical.net/life-sciences/Capillary-Electrophoresis-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/Capillary-Electrophoresis-(Spanish).aspx)
35. McCudden C, et al. Performance Comparison of Capillary and Agarose Gel Electrophoresis for the Identification and Characterization of Monoclonal Immunoglobulins. *American Society for Clinical Pathology.* 2008;129(3):451-8.
36. MINICAP FLEX PIERCING | Sebia [Internet]. 2015 [citado 5 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.sebia.com/es/produits/minicap-flex-piercing>
37. MINICAP IMMUNOTYPING [Internet]. Instrucciones Sebia; 2013. Disponible en: <http://www.bganalizadores.com.ar/img/2300.pdf>
38. Campbell J, et al. Development of a rapid and quantitative lateral flow assay for the simultaneous measurement of serum κ and λ immunoglobulin free light chains (FLC): inception of a new near-patient FLC screening tool. *Clin Chem Lab Med.* 2016;55(3):424-34.
39. Jenner E. Serum free light chains in clinical laboratory diagnostics. *ELSEVIER.* 2014;427:15-20.
40. SERALITE® - FCL SERUM [Internet]. 2018. Disponible en: <https://www.sebia.com/en-EN/produits/seralite®-flc-serum>
41. Matzumura Kasano JP, Gutiérrez Crespo H, Sotomayor Salas J, Pajuelo Carrasco G. Evaluación de la calidad de registro de historias clínicas en consultorios externos del servicio de medicina interna de la Clínica Centenario Peruano Japonesa, 2010-2011. *Anales de la Facultad de Medicina.* julio de 2014;75(3):251-7.
42. Cidoncha A, Pérez E, Vinues A, Zaro M, Zafra A. El proteinograma en la práctica clínica. *ELSEVIER.* 2001;38(3):127-32.
43. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos M-V, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* noviembre de 2014;15(12):e538-548.
44. Álvarez et al. - 2012 - ARTÍCULO ORIGINAL.pdf [Internet]. [citado 6 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/invmed/cm-q-2012/cm-q122f.pdf>
45. Delgado MF. Utilidad del ensayo de cadenas livianas libres en suero en el manejo de gammopatías monoclonales: diagnóstico, pronóstico y monitoreo. *Revista Médica del Uruguay.* marzo de 2014;30(1):65-75.

46. Howland I, Cruz Y, Zambrano J. Daño renal asociado con componentes monoclonales débiles en pacientes cubanos con gammapatía monoclonal. *Rev Mex Urol.* agosto de 2018;78(4):243-53.
47. CENETEC. Diagnóstico y tratamiento de Síndromes Mielodisplásicos [Internet]. Disponible en: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/407_IMSS_10_Sindrome_mielodisplastico/GRR_IMSS_407_10.pdf
48. Padilla Valdez JJ, Ulloa Pérez V, Venegas Ojeda D. Características epidemiológicas, clínicas y patológicas de los linfomas en el Hospital Nacional Cayetano Heredia del año 1998 al 2008. *Acta Médica Peruana.* enero de 2011;28(1):12-8.
49. Sociedad Colombiana de Patología Clínica. Inmunofijación en suero. *Medicina y Laboratorio.* 2013;19(7-8):395-8.
50. García-García P, Enciso-Alvarez K, Diaz-Espada F, Vargas-Nuñez JA, Moraru M, Yebra-Bango M. Gammapatías biclonales: estudio retrospectivo de 47 pacientes. *Revista Clínica Española.* 1 de enero de 2015;215(1):18-24.
51. Osatinsky R, Desimone IV, Garnek L. Incidencia de patente oligoclonal en población adulta aparentemente sana. 2004;51(2):4.
52. Arce-Hernández AA, Villaescusa-Blanco R, Morera-Barrios LM, Junco-González Y, Merlín-Linares JC, Ramón-Rodríguez L, et al. Distribución de tipos de paraproteínas en una muestra de enfermos con mieloma múltiple. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.* junio de 2013;29(2):183-8.
53. Pizarro R, Samanez C, Cartolin M, Delgado F. Efecto de la medición de cadenas ligeras libres en suero en el diagnóstico de gammapatías monoclonales; experiencia en Perú. *Rev Hematol Mex.* 2016;17(2):99-106.
54. Chang C, Su J, Lee S, Tsai Y, Kuo L, Lin I, Huang H, Yen T, Chu F. La distribución de inmunotipado de la paraproteína monoclonal sérica y el impacto ambiental en el mieloma múltiple (MM) y la gammapatía monoclonal de importancia incierta (MGUS) en Taiwán: una experiencia en un centro médico. *APJCP.* 2016;17(1):395-9.
55. Howland I. Gammapatías Monoclonales, estudio de dos años en el CIMEQ. [La Habana]: Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas; 2012.
56. Peña C, Ortiz M, Voisin J, Peralta A, Balboa V, Delgado F, et al. Sensibilidad diagnóstica de electroforesis de proteínas y cadenas livianas libres séricas en gammapatías monoclonales. *Revista médica de Chile.* enero de 2018;146(1):64-7.
57. Bakshi N, Gulbranson R, Garstka D, Bradwell A, Keren D. La medición de la cadena ligera libre de suero (FLC) puede ayudar a la electroforesis de la zona capilar a detectar proteínas M sutiles productoras de FLC. *Pub Med.* 2005;124(2):8-214.
58. Graciani MS. Medición de cadenas ligeras libres: ventajas y desventajas de los métodos actuales. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6):1015-20.
59. Heaney J, Campbell J, Griffin A, et al. Diagnóstico y monitoreo de solo cadena ligera y mieloma oligosecretor utilizando pruebas de cadena ligera sin suero. *BJH.*

2017;178(2):220-30.

60. Ondategui S. Situación actual y retos del mieloma múltiple en España [Internet]. Ernst & Young S.L; 2018. Disponible en: [https://www.ey.com/Publication/vwLUAssets/ey-situacion-actual-y-retos-del-mieloma-multiple-en-espana-2018/\\$FILE/ey-situacion-actual-y-retos-del-mieloma-multiple-en-espana-2018.pdf](https://www.ey.com/Publication/vwLUAssets/ey-situacion-actual-y-retos-del-mieloma-multiple-en-espana-2018/$FILE/ey-situacion-actual-y-retos-del-mieloma-multiple-en-espana-2018.pdf)
61. Vengoa R. EVOLUCIÓN DE MIELOMA MÚLTIPLE HOSPITAL ALBERTO SABOGAL SOLOGUREN 2009-2014 [Internet]. [Perú]: USMP; 2017. Disponible en: http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/bitstream/usmp/3413/3/vengoa_fri.pdf
62. Garcia J, Lopez M, Escobar R. ALGORITMO PARA EL ESTUDIO DE PACIENTES CON SOSPECHA DE GAMMAPATIA MONOCLONAL. AEBM. 2017;6(1):8-10.
63. International Myeloma Foundation. Los ensayo Freelite® y Hevylite®. IMF. 2016;1(1):1-22.
64. Leucemia A-AE de A por L Mieloma y. 6. Estadiaje | AEAL [Internet]. [citado 7 de agosto de 2019]. Disponible en: <http://www.aeal.es/mieloma-multiple-espana/6-estadiaje/>
65. Guevara NM, Jaramillo PE, Rendón J, Gaviria LM. Characterization of prognostic factors to diagnosis of patients with diffuse large B cell lymphoma. :12.
66. Ojeda V, Ruiz G, Padilla Y, Reyes F. Proteína CD200 de mal pronóstico en pacientes con mieloma múltiple. Rev Med Inst Mx. 2015;53(4):438-43.
67. Curutchet et al. - CONFLICTOS DE INTERÉS.pdf [Internet]. [citado 8 de agosto de 2019]. Disponible en: http://sah.org.ar/docs/289-316.6.SAH_GUIA2012_MielomaMultiple.pdf
68. Smith D, Yong K. Mieloma múltiple. BMJ. 2013;346:30-5.

ANEXO: CRONOGRAMA

ACTIVIDADES	2018								2019																																			
	NOVIEMBRE				DICIEMBRE				ENERO				FEBRERO				MARZO				ABRIL				MAYO				JUNIO				JULIO				AGOSTO				SEPTIEMBRE			
	Semana				Semana				Semana				Semana				Semana				Semana				Semana				Semana				Semana				Semana							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
Elaboración del anteproyecto	■	■																																										
Aprobación del tema del anteproyecto			■	■																																								
Aprobación y entrega de beca de titulación					■	■	■																																					
Defensa y aprobación del anteproyecto								■	■																																			
Elaboración del diseño metodológico de la investigación										■	■	■																																
Desarrollo de trabajo teórico													■	■	■	■	■	■	■	■																								
Compra de kits de inmunotipificación y ensayo de cadenas ligeras libres																	■	■	■	■																								

