

Grupo de Estudio Inter-Regional "Forlì" sobre "Proteínas de Bence Jones y Cadenas Ligeras Libres"

Secretaría Científica: Gualtiero Pallotti, Ospedale Pierantoni, Forlì
Organización y Coordinación: Leonardo Massaro y Rita Scaringi
New Scientific Company S.r.l., Via Dante 35, 20032 Cormano, (MI).

Recomendaciones para la Evaluación de la Proteinuria de Bence Jones

Forlì, 16 Junio 2000 - Borrador

Participantes

Participantes en los trabajos del Meeting del 16 Junio del 2000

Ospedale Civile	Asola	Scipiotti C
Ospedale di Bentivoglio	Bentivoglio (BO)	Milanesi MG, Turra F
Ospedale Bellaria	Bologna	Martelli M, Zannini R
Ospedale Maggiore	Bologna	Cucci A
Ospedale Civile	Bra (CN)	Testa G, Valle S
Spedali Civili – Lab. Immunologia	Brescia	Quinzanini M
Ospedale di Faenza	Faenza	Gollini C
Ospedale Santa Croce	Fano	Sadori R
Ospedale Careggi	Florence	Piazza E
Ospedale Pierantoni	Forlì	Mambelli C, Pezzi L
Ospedale Civile	Fossombrone (PS)	Del Prete E
Ospedale Policlinico	Modena	Tizzanini W, Guidetti F
Ospedale Civile	Monselice (PD)	Mingardo S
Ospedale Destra Secchia	Pieve Coriano (MN)	Tirelli F, Zanni R
Ospedale San Salvatore	Pesaro	Acetoso M
Ospedale Civile	Piacenza	Croci E
Ospedale del Ceppo	Pistoia	Valenti D, Lucherini M
Ospedale Santa Maria degli Angeli	Pordenone	Ferrai MG
Ospedale Santa Maria delle Croci	Ravenna	Gardini G
Ospedale Infermi	Rimini	Argento A, Conti C
Ospedale Civile	Viterbo	Muratore MT

Introducción

La detección de las Proteínas de Bence Jones (BJP) debería ser considerada un elemento importante en el diagnóstico, prognosis y Follow Up de las discrasias de células plasmáticas como se indica en el párrafo "Indicaciones para la detección de las BJP" y en la Figura 2.

Definiciones y Sinónimos

Sinónimo: Proteínas de Bence Jones = Cadenas Ligeras Libres Monoclonales en orina.

Definición: Cadenas Ligeras Libres Monoclonales en orina; las BJP en la electroforesis migran en una banda estrecha constituida por Cadenas Ligeras Libres. Puede encontrarse presente más de una banda de BJP.

(Excepcionalmente una BJP puede presentarse en forma de una banda ancha que, de cualquier modo, reacciona como se dice a continuación.)

En cualquier caso la banda reacciona exclusivamente con un solo tipo de antisuero anti Cadenas Ligeras Libres, kappa o lambda, o, exclusivamente con un solo tipo de antisuero anti Cadenas Ligeras Libres y Ligadas (antisuero anti Cadenas Ligeras Totales – CLT) y no reacciona con ninguno de los antisueros anti Cadenas Pesadas.

Otras situaciones o definiciones relacionadas con las Cadenas Ligeras Libres en orina son, como resultado de la técnica electroforética empleada:

- a) Cadenas Ligeras Libres policlonales (CLLP)
Banda electroforética ancha que reacciona con ambos tipos de antisueros anti CLL, tanto kappa como lambda. Las CLLP pueden coexistir con las BJP.
- b) Cadenas Ligeras Libres policlonales en bandas múltiples o Ladders
Múltiples bandas electroforéticas estrechas, que asumen un patrón característico y que reaccionan con ambos tipos de antisueros anti CLL. Tienen significado análogo a las CLL Policlonales y pueden también coexistir con una BJP.

Indicaciones para la detección de las BJP

La detección de las Proteínas de Bence Jones debería ser solicitada y efectuada en todas las situaciones relacionadas a continuación:

- Protocolo operativo de profundización diagnóstica en el caso de:
 - sospecha clínica de enfermedad inmunoproliferativa como:
Macroglobulinemia de Waldenström, Mieloma Múltiple, Leucemia Linfática Crónica, Amiloidosis Primaria, etc.
 - electroforesis sérica que evidencie una nueva banda monoclonal.
 - datos de laboratorio que induzcan la sospecha de Mieloma Micromolecular.
- Protocolo operativo de control de la evolución en caso de:
 - enfermedad inmunoproliferativa.
 - paciente con banda monoclonal sérica pero sin diagnóstico de enfermedad inmunoproliferativa
 - paciente con BJP (en orina) pero sin diagnóstico de enfermedad.
- Protocolo de los estudios de exclusión de Mieloma Múltiple
Para excluir que el paciente esté afectado por "Mieloma Múltiple" no es suficiente efectuar la electroforesis de las proteínas séricas sino que es necesario efectuar también la determinación de las Proteínas de Bence Jones.
Es más, en el caso de "Mieloma Micromolecular" frecuentemente la electroforesis del suero no presenta significativas ni específicas alteraciones.

En la Figura 2 se relacionan las principales patologías relacionadas con la excreción de BJP y/o CLL.

Indicaciones para la valoración cuantitativa de las BJP

Se debería efectuar la valoración cuantitativa de las BJP con el objeto de evidenciar las variaciones cuantitativas (de nivel) tanto en el caso de enfermedad manifiesta y su tratamiento como en el caso de BJP y/o de CM en el suero no asociada a enfermedad (MGUS).

Al establecer la periodicidad de los controles y el significado de las variaciones cuantitativas de las BJP se debería tener presente el hecho de la hemivida muy breve de las Cadenas Ligeras Libres.

Tipo de muestra

La determinación de las BJP debería ser efectuada sobre una muestra de orina de 24 horas añadiendo Azida Sódica como conservante o, como alternativa, muestras de orina extemporanea sobre las que se debería efectuar también la determinación de la Creatinina.

El tipo de muestra debería ser explicitado en el informe.

Métodos para la detección de las BJP

El método o el protocolo, es decir el conjunto de más de un método, para la determinación de las BJP debería permitir la valoración de los dos elementos que las caracterizan: a) banda electroforéticamente homogénea, b) constituida por un solo tipo de Cadenas Ligeras Libres. En otras palabras los métodos o protocolos deberían ser capaces de precisar las dos características siguientes:

- Especificidad antigénica: Cadenas Ligeras Libres - debería ser determinada con un método inmunoquímico.
- Movilidad electroforética: banda homogénea - debería ser determinada con un método electroforético.

Como para cualquier analito también para las BJP se debería, en la selección del método, poner atención en la especificidad, sensibilidad, muestra dependencia de la sensibilidad, inexactitud intra e

inter laboratorio, muestra dependencia de la inexactitud; se debería disponer de protocolos y muestras de control de los parámetros relacionados.

En general, los métodos disponibles en rutina para la detección de las BJP son:

a) Inmunofijación (IFE)

Aunque generalmente se la considera un método único, es en realidad un protocolo constituido por dos fases: la primera fase es la electroforesis y la segunda es la Inmunoprecipitación.

La IFE es un método cualitativo y **no da información cuantitativa**.

La IFE para la determinación de las BJP debería efectuarse tanto con antisueros anti Cadenas Ligeras Libres y Ligadas (antisueros anti cadenas Ligeras Totales) (CLT) como con antisueros anti Cadenas Ligeras Libres (CLL). En cualquier caso, para evitar falsos negativos, los antisueros anti CLL deberían emplearse siempre en el caso de que la muestra resulte negativa para las BJP al emplear los antisueros anti cadenas Pesadas y anti CLT. Ver Figura 1.

La IFE debería tener como mínimo, con cualesquiera antisueros, una sensibilidad suficiente para evidenciar una banda constituida por 1 mg/dl de BJP. En caso contrario la muestra debería ser oportunamente concentrada para conseguir la sensibilidad final antes detallada.

En la valoración del resultado y de la sensibilidad se debería poner atención a la posible presencia de más de una banda de BJP, de CLL policlonales o de Inmunoglobulinas policlonales.

b) Electroforesis (EF)

Para la determinación de las BJP la EF debería ser considerada:

Método de Screening en un primer estudio.

Todas las muestras que presenten en la EF una banda homogénea (tipo Transferrina), o difusa (tipo Ig), que no pueda atribuirse con seguridad a Albúmina deben ser reexaminadas con la IFE.

En cualquier caso la Electroforesis debería tener una sensibilidad suficiente para evidenciar 1 mg/dl de BJP. En caso contrario la muestra debería concentrarse oportunamente.

Método cuantitativo en un primer estudio y en controles sucesivos

Se procede midiendo las Proteínas Totales de la muestra y efectuando la densitometría del trazado electroforético. En este caso es imprescindible tener presentes los siguientes puntos:

- La sensibilidad de la determinación cuantitativa de las Proteínas Totales debería ser suficiente para detectar cantidades de BJP de 1 mg/dl.
En caso contrario se debería emplear la muestra suficientemente concentrada y el volumen del concentrado debe ser suficiente para permitir efectuar la determinación. Se debería valorar la imprecisión e inexactitud del sistema de concentración.
- La electroforesis debería efectuarse con colorantes compatibles con la lectura densitométrica, y los colorantes deberían reaccionar con una buena proporcionalidad entre las BJP y las demás proteínas.
- La sensibilidad de la EF debería ser suficiente para permitir la evidenciación de una banda de BJP de 1 mg/dl. En caso contrario se debería emplear la muestra concentrada y se debería valorar la imprecisión del sistema de concentración.

c) Determinación directa de las Cadenas Ligeras Libres por Inmunoprecipitación en fase líquida, Nefelométrica y Turbidimétrica, con reactivos específicos anti CLL.

Para el estudio de las BJP debería ser considerada:

Método de Screening en un primer estudio.

Todas las muestras con una de las dos Cadenas Ligeras Libres > 0.5 ó 1 mg/dl deben ser reexaminadas con la IFE o con la EF.

Método cuantitativo en un primer estudio y en controles sucesivos.

En este caso se deberían tener en consideración los siguientes puntos:

- Posible presencia contemporánea de CLL policlonales.
- Posible falta de paralelismo entre calibrador y muestra monoclonal. Para minimizar este fenómeno se debería diluir la muestra hasta tener una concentración de entre 1 y 3 mg/dl y luego multiplicar el resultado por la dilución efectuada.

Métodos para valorar las variaciones cuantitativas de las BJP

La valoración cuantitativa de las BJP se debería relacionar con la diuresis o con la creatinina urinaria.

Otras determinaciones relacionadas

Tanto en un primer estudio como en controles sucesivos sería oportuno determinar las Inmunoglobulinas y las Cadenas Ligeras Totales séricas. También resultaría útil la determinación de la Alfa-1 Microglobulina.

Informe

Para una mejor comparación de los resultados del estudio de las BJP se deberían explicitar en el informe todas aquellas informaciones útiles. A continuación se expone la propuesta de un esquema :

Esquema de Informe

La Comisión Liguria ha propuesto el borrador de esquema de informe relacionado a continuación:

Nombre del Test: Estudio de las Proteínas de Bence Jones

Test de Screening:

Muestra: orina extemporánea (u otra a precisar)

Método sensibilidad mg/dl)

Resultado Negativo

Necesidad de test de confirmación

Test de confirmación:

Muestra: orina extemporánea (u otra a precisar)

Método sensibilidad mg/dl)

Tiempo de espera para el resultado definitivo:

Resultado:

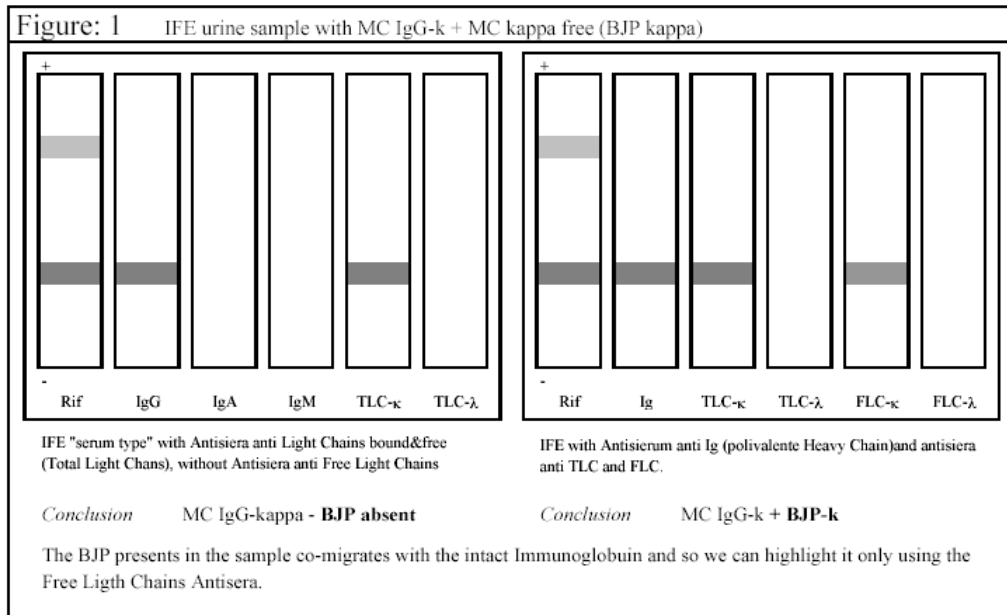


Figure: 2 Free Light Chains and Associated Pathology (from the literature)

Pathology
<p><u>Bence Jones Proteins (BJP)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Multiple Myeloma (15%-20% being Micromolecular Myeloma) <input type="checkbox"/> Waldenström's Macroglobulinemia <input type="checkbox"/> Chronic Lymphocytic Leukaemia <input type="checkbox"/> Heavy Chain μ Disease <input type="checkbox"/> Other Lymphoproliferative Neoplasia <input type="checkbox"/> AL Amyloidosis <input type="checkbox"/> Light Chain Deposition Disease (LCDD) <input type="checkbox"/> Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS) <input type="checkbox"/> Idiopathic Bence Jones Proteinuria <p style="text-align: center;">◆◆◆</p> <p>The BJP do not only indicate a malignancy process but are they themselves a "malignant entity" (micromolecular myeloma is not in itself "more malignant" than other myeloma) which produces pathological effects, above all on the kidneys.</p> <p style="text-align: center;"><u>Polyclonal Free Light Chains</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ◆ <u>Increase in the Polyclonal Production</u> Sarcoidosis, Pulmonary Tuberculosis, Lupus Erythematosus, Rheumatoid Arthritis ◆ <u>Alteration in Tubular Function</u> Fanconi Syndrome, Diabetic Nephropathy, amino acids load such as lysine or arginine, assumption of medication