

Validación de algunas pruebas de laboratorio para la detección de paraproteínas en el mieloma múltiple

Elsie María González Vidal¹, Humberto González Duarte², Irene Álvarez Montané³, Nancy Francisca del Risco Socarrás⁴, Marta Rodríguez Gallo⁵

1. Máster en Enfermedades Infecciosas. Especialista de Segundo Grado. Laboratorio Clínico. Profesor Auxiliar. Hospital Oncológico Provincial Docente María Curie. Carretera central oeste esquina Madame Curie, Camagüey. Cuba. gvelsie.cmw@infomed.sld.cu.
2. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral. Especialista en Administración de Salud. Profesor Asistente. Hospital Oncológico Provincial Docente María Curie. Carretera central oeste esquina Madame Curie, Camagüey. Cuba
3. Especialista en Medicina General Integral y Oncología. Hospital Oncológico Provincial Docente María Curie. Carretera central oeste esquina Madame Curie, Camagüey. Cuba.
4. Especialista en Medicina General Integral y Oncología. Hospital Oncológico Provincial Docente María Curie. Carretera central oeste esquina Madame Curie, Camagüey. Cuba.
5. Licenciada en Química. Máster en Ciencias de la Educación Superior. Profesor Auxiliar. Facultad Tecnológica. Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey.

Resumen

Fundamentación: Uno de los pilares en el diagnóstico del mieloma múltiple es la detección de paraproteínas en suero sanguíneo y orina. De ahí la importancia de las pruebas de laboratorio. **Objetivo:** Establecer la validación de pruebas de laboratorio para la detección del componente M en el diagnóstico del mieloma múltiple. **Material y métodos:** Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo entre mayo 2014 y octubre de 2015, en el Hospital Oncológico Provincial María Curie de Camagüey. El universo estuvo constituido por 34 pacientes que asistieron a la Consulta de Medicina Oncológica. La muestra estuvo formada por 15 pacientes sospechosos de mieloma. Se aplicó la determinación de la sensibilidad y la especificidad analítica, además del valor predictivo positivo y negativo para establecer la utilidad de estos exámenes y establecer

la validación de los mismos. **Resultados:** De las tres pruebas estudiadas las de mayor sensibilidad fueron la determinación de la Proteína de Bence Jones y el test formol-gelificación. En la especificidad se obtuvieron diferentes resultados, por lo que se infiere que las pruebas con mayor utilidad para el diagnóstico del criterio de la detección del componente M son el test formol-gelificación y el Test de Sia lo que quiere decir que el 80% y el 72% respectivamente de los individuos diagnosticados con mieloma tuvieron resultados alterados en dicha prueba. **Conclusiones:** La validación de las pruebas presentadas determina su utilidad tanto para el cribado como para el diagnóstico y seguimiento del mieloma múltiple.

Palabras claves: paraproteínas; sensibilidad; especificidad analítica; prueba de cribado; mieloma múltiple.

Introducción

El mieloma múltiple (MM) o enfermedad de Kahler es un tipo de oncopatía en la cual están involucradas las células plasmáticas, que se encuentran principalmente en la médula ósea, de ahí que se estudia dentro de las discrasias de células plasmáticas (CP). Constituye la segunda neoplasia maligna hematológica en localización, solamente superada por las leucemias, representando el 15% de los tumores hematológicos y el 1% de todas las oncopatías. La incidencia del MM es de 6 casos por cada 100 000 habitantes.¹⁻⁴

La definición de la OMS (Organización Mundial de la Salud) del MM determina que es tumor maligno que habitualmente muestra compromiso óseo difuso o múltiple y que se caracteriza por la presencia de células redondas del tipo de las células plasmáticas (CP).⁵

Los trastornos de las CP tienen una etiología desconocida y se caracterizan por la proliferación desproporcionada de un clon. La consecuencia es el correspondiente aumento de la concentración sérica de su producto, la proteína inmunoglobulina monoclonal (componente M o paraproteína). Estas pueden estar formadas por cadenas pesadas (alfa, delta, gamma, épsilon y mu) y cadenas ligeras (kappa y lambda). De ahí, el término de gammapatías monoclonales.⁵⁻⁷

Los trastornos de las CP se sospechan por las manifestaciones clínicas, durante el estudio de una anemia o por el hallazgo casual de la elevación de la concentración sérica de proteínas totales o fraccionadas, o por proteinurias, lo que lleva a realizar evaluaciones adicionales con vistas a la demostración de la proteína M.^{8,9}

Desde el punto de vista diagnóstico en el ámbito internacional, existen pruebas confirmativas como son el estudio citológico con la confirmación histológica de la biopsia de médula ósea con más del 20% de células plasmáticas, la determinación del inmunofenotipaje por técnicas de hibridación fluorescente en un citómetro de flujo fluorescente, (los marcadores más característicos de inmunofenotipaje son la expresión más intensa del CD38 y reactividad con el CD138) y las pruebas para detectar paraproteínas o proteína M, entre las cuales se encuentran la electroforesis de proteínas, de inmunoglobulinas, la proteína de Bence Jones (PBJ), la inmunofijación sérica (determina el tipo de Ig) y la cadena ligera libre de suero.

Existen además otros criterios diagnósticos como son los signos de osteolisis por pérdida de la densidad ósea visualizados por pruebas imagenológicas como las radiográficas y por RM (resonancia magnética) y pruebas de laboratorio clínico como conteos hematológicos de hemoglobina y determinación en la bioquímica hemática de calcio, proteínas totales y fraccionadas, así como el índice de globulinas.^{10,11}

En el ámbito nacional, no se disponen de exámenes para el diagnóstico del componente M, por cuanto algunas de las pruebas mencionadas anteriormente constituyen exámenes cruentos, o muy costosos, o no posibles de realizar en todas las unidades asistenciales de salud de acuerdo al nivel de atención establecido por el Sistema Nacional de Salud Pública cubana (RM, inmunofenotipaje o hibridación en citómetro de flujo).

A esto se suma que se hace necesario contar con herramientas diagnósticas tanto para el cribado como para el seguimiento de esta enfermedad, por lo que se considera oportuno este trabajo, donde se demuestra la utilidad de algunas pruebas diagnósticas de laboratorio que se pueden realizar para determinar el componente M, (la presencia de paraproteínas), como uno de los criterios fundamentales a tener en cuenta en el diagnóstico de esta enfermedad en cualquier laboratorio, incluyendo en la Atención Primaria de Salud.

De ahí que el objetivo del presente trabajo fue establecer la validación de algunas pruebas de laboratorio para la detección del componente M en el diagnóstico del MM.

Material y métodos

Se realizó un estudio descriptivo y retrospectivo, entre septiembre de 2015 y octubre de 2016, en pacientes que asistieron a la Consulta de Medicina Oncológica, del Hospital Oncológico Provincial Docente María Curie de Camagüey.

El universo de estudio estuvo constituido por 34 pacientes y la muestra por 15 de ellos sospechosos de MM.

Para la selección de la muestra, después de realizado el screening de rutina (exámenes de laboratorio), se escogieron los pacientes con niveles de proteínas totales, el índice de globulinas y el calcio sérico por encima de sus valores de referencia, además de la determinación de hemoglobina por debajo de lo normal y el estudio de la sangre periférica con la presencia del fenómeno de rouleaux o hematíes en pila de monedas.

El criterio de inclusión que se estableció fue trabajar con los pacientes con tres de los cinco parámetros alterados. Además, para la inclusión se determinó que a los pacientes no se les hubiera aplicado el tratamiento radiante y la poliquimioterapia.

En Laboratorio Clínico, para determinar la efectividad o utilidad de una prueba, estadísticamente se aplica la determinación de la sensibilidad, la especificidad analítica y el valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN).^{12,13}

Se dice que una prueba es altamente sensible cuando es capaz de clasificar correctamente a un individuo enfermo; es decir la capacidad de la prueba para detectar la enfermedad o sea, la sensibilidad medirá la certeza de la prueba para detectar la enfermedad. La sensibilidad se calcula mediante la relación entre los verdaderos positivos y la sumatoria de estos y de los falsos negativos.

La especificidad es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, por lo que un sujeto sano deberá obtener un resultado negativo. Se determina por el cociente entre los verdaderos negativos y la sumatoria de estos con los falsos positivos por ciento.

La especificidad medirá la certeza de la prueba para detectar la ausencia de enfermedad. Los VPP y VPN se utilizan para definir la probabilidad que tiene una

persona con la prueba diagnóstica positiva de tener la enfermedad, así como dar negativo en el caso de una persona sana, respectivamente.

El VPP se determina por la relación entre los verdaderos positivos y la sumatoria de estos y los falsos positivos. El VPN se determina por la relación entre los verdaderos negativos y la sumatoria de estos y los falsos negativos.

Es necesario destacar que en el caso de que se estuviera en presencia de una enfermedad con una frecuencia baja como es el caso de la patología de esta investigación (MM), pudiera suceder que la sensibilidad y la especificidad calculadas se comportaran altas. De ahí de que estadísticamente se utiliza el cálculo de los valores predictivos, con el objetivo de lograr una mejor interpretación de la utilidad diagnóstica de una prueba.

En el estudio se determinó la efectividad diagnóstica de las siguientes pruebas para el diagnóstico del componente monoclonal M del MM: Test de Sia, PBJ y el Test del formol-gelificación (TFG). El Test de Sia se utiliza para la evaluación de la fracción de euglobulinas y se basa en la insolubilidad de las mismas en agua destilada.

El TFG es una prueba cualitativa utilizada para la detección de paraproteínas, la cual se basa en la insolubilidad de las mismas en una solución de cloroformo. Se realizó la PBJ en orina concentrada de recolección en 24 horas con acidificación de la misma con ácido acético al 2% para eliminar interferencias con otras proteínas.

Estas pruebas son del tipo de exámenes cualitativos, que prácticamente no llevan gastos de reactivos clínicos ni de productos químicos, los cuales fueron preparados por los autores según lo descrito en los procedimientos de normas y operación (PNO). Las pruebas Proteínas de Bence Jones, el Test de Sia y el TFG se realizaron según lo descrito en la literatura científica especializada.¹⁴

El organigrama, flujograma o mapa de proceso es una representación, con el uso de símbolos, de la secuencia de actividades de un sistema donde el enfoque estratégico es un diagrama que muestra la progresión paso a paso de un procedimiento o proceso.

En el trabajo se utilizó el método empírico de criterio de expertos para a través de una encuesta realizada a 15 especialistas y profesores de más de 15 años de experiencia en el perfil, valorar la factibilidad del flujograma utilizado en la conducta diagnóstica del MM (Anexo 1).

Los especialistas cumplieron los requisitos siguientes: más de 15 años de experiencia profesional, más de 10 años de actividad asistencial en la Atención Secundaria de Salud, poseer grado científico o académico, ostentar categoría docente u ocupar alguna función en el Sistema Nacional de Salud cubana desde el punto de vista de la administración de laboratorio clínico.¹⁵ Los datos fueron recogidos en un formulario y procesados por medios computarizados. Se presentan en tablas para su mejor comprensión.

La encuesta garantizó el anonimato y la confiabilidad en el procesamiento de los datos como principios éticos fundamentales.

Resultados

La PBJ en el estudio, tuvo una sensibilidad del 84% y una especificidad del 60%. El Test de Sia tuvo una sensibilidad de 72%, lo que significa la capacidad de detección de una prueba como herramienta diagnóstica.

La especificidad fue del 76%. En cuanto al TFG, tuvo una especificidad del 80% y una sensibilidad con el mismo porcentaje.

En cuanto a las pruebas estadísticas de probabilidad aplicadas, el VPP se comportó respectivamente según el orden mencionado de las pruebas en 0,84, 0,86 y 0,88. Con relación al VPN, se obtuvieron los siguientes valores: 0,29, 0,35 y 0,26 (Tabla 1).

Tabla 1 Cálculo de la sensibilidad, especificidad y valor predictivo de cada prueba.

Examen de laboratorio	Pacientes	Datos obtenidos			Resultado obtenido
		Prueba positiva	Prueba negativa	Total	
Test de Sia	Enfermos	11	4	15	Especificidad: 76%
	No enfermos	3	12	15	Sensibilidad: 72%
	Total	14	16	30	VPP: 0,84
					VPN: 0,29
PBJ	Enfermos	10	5	15	Especificidad: 60%
	Nnoenfermos	12	3	15	Sensibilidad: 84%
	Total	22	8	30	VPP: 0,86
					VPN: 0,35

TFG	Enfermos	11	4	15	Especificidad: 80%
	No enfermos	4	11	15	Sensibilidad: 80%
	Total	20	25	30	VPP: 0,88
					VPN:0,26

Fuente: Formulario.

De las tres pruebas estudiadas las de mayor sensibilidad (capacidad de detección de la enfermedad) fueron la determinación de la PBJ y el TFG. En la especificidad se obtuvieron diferentes resultados, por lo que se infiere que las pruebas con mayor utilidad para el diagnóstico del criterio de la detección del componente M en el MM son el TFG y el Test de Sia, lo que quiere decir que el 80% y el 72% respectivamente de los individuos diagnosticados con MM tuvieron resultados alterados en dicha prueba. (Tabla 1)

En el índice de VPP, más altos los obtuvieron el Test de Sia y el TFG, lo que indica que de las tres pruebas estudiadas, éstas son las que mejor diagnostican a un paciente enfermo (proporción de casos positivos que padecen la enfermedad).

Por otro lado, en el VPN, el cual se utiliza para definir la proporción de casos negativos que no poseen la enfermedad, los resultados estadísticamente mejores lo obtuvieron el TFG y la PBJ.

Los resultados de la encuesta realizada a especialistas del perfil determinaron que es pertinente aplicarla en el nivel de atención primaria de salud. La encuesta igualmente acotó acerca de la importancia de las pruebas séricas y urinarias, sobre todo en laboratorios de cualquier nivel de atención de salud.

En Cuba, los niveles de atención médica se organizan de acuerdo con la complejidad de las acciones preventivo-curativas y de rehabilitación, así como con la mayor especialización de los servicios. El primario da cobertura y solución a problemas de salud de la población por lo general sana, tiene fines de prevención y se realizan acciones de promoción y protección de salud. El secundario da cobertura a los problemas de salud de la población enferma por parte de unidades asistenciales más especializadas (hospitales).¹⁵

El terciario da cobertura a problemas de salud relacionados con las complicaciones y las secuelas de una determinada enfermedad. Así mismo, los especialistas estuvieron

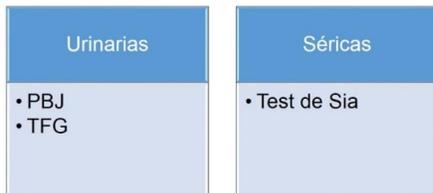
de acuerdo en cuanto a la orientación que se presenta en el flujograma en cuanto a la inclusión de exámenes imagenológicos complejos como la Resonancia magnética y exámenes radiológicos complejos como el survey óseo.

Se realizó el diseño del flujograma de la conducta a seguir en el diagnóstico del mieloma, considerando sobre todo la detección del componente M en pruebas de laboratorio tanto séricas como en orina, teniendo en cuenta su factibilidad tanto para el cribado como para el seguimiento de esta enfermedad la disponibilidad de las pruebas, las cuales pueden realizarse en cualquier laboratorio de instituciones de salud a cualquier nivel de atención, por la poca complejidad desde el punto de vista de la técnica analítica, según se muestra en el Esquema 1.

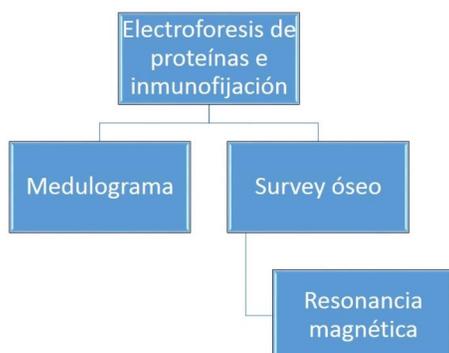
Esquema 1. Flujograma que propone la conducta a seguir en el diagnóstico de Laboratorio Clínico del MM.



Si existen al menos tres de las cinco pruebas de screening alteradas, **considerar** Pruebas para la detección del componente M.



Si la institución de salud lo realiza



Discusión

En pacientes con MM de células plasmáticas no secretoras hay ausencia de componente M en suero sanguíneo y en orina y el diagnóstico se establece mediante el estudio de médula ósea y los criterios clínicos respectivos. Se postula que en este caso el componente M debe ser identificado en las propias células plasmáticas por métodos de inmunofluorescencia o hibridación in situ.

De ahí, que las especificidades obtenidas en las tres pruebas no se espera que superen valores porcentuales por encima del 90%. Sin embargo, se ha expresado que en el diagnóstico del MM se precisa la demostración de la proteína M que en ocasiones se encuentra presente en la orina y no en el suero.¹⁶

En cuanto a la PBJ, la especificidad del 60% obtenida coincide con lo reportado por Rajkumar¹⁶, ya que la presencia de paraproteínas en la orina es patognomónica de algunos tipos de MM. Sin embargo, la sensibilidad de la PBJ en el estudio corresponde a declarar esta prueba como adecuada ya que muestra la proporción de enfermos que han estado bien clasificados.¹⁶⁻¹⁹

La PBJ puede ser demostrada en la orina en más de 80% de los pacientes con MM y constituye en muchos casos el único componente monoclonal. La concentración de la PBJ excretada depende principalmente de la masa tumoral y de la función renal, tan comprometida en éstos pacientes. Al revisar los procedimientos de operación de la PBJ, los reportes obtenidos por Holding et al²⁰, coinciden con la especificidad y sensibilidad analítica obtenida en este trabajo.¹⁸⁻²⁰

La sensibilidad y especificidad analítica obtenida en la prueba de precipitación de las euglobulinas (test de Sia) corresponde a declarar este examen como adecuado según su utilidad diagnóstica. A partir de lo reportado por Delgado²¹, esta prueba puede proporcionar la primera pista para traducir agregación de paraproteínas en las gammapatías monoclonales.^{21,22}

Con respecto al TFG, no se encuentran reportes con esta prueba en la literatura revisada, sin embargo la sensibilidad y especificidad analítica obtenida lleva a declararla aceptada en este trabajo para realizarla, tanto como para el cribado como en el seguimiento de la evolución del paciente, en cuanto a las pruebas para la detección de paraproteínas que se deben realizar en pacientes aquejados de esta enfermedad.

Conclusiones

Las pruebas de mayor sensibilidad (capacidad de detección de la enfermedad) fueron la determinación de la PBJ y el TFG.

En la especificidad, por lo que se infiere las pruebas con mayor utilidad para el diagnóstico del criterio de la detección del componente M en el MM, sobresalen el TFG y el Test de Sia.

Las pruebas presentadas en la investigación poseen utilidad tanto para el cribado como para el diagnóstico y seguimiento del MM en cuanto al criterio de detección del componente M, demostrado en los valores calculados de sensibilidad y especificidad analíticas y los valores predictivos positivo y negativo calculados.

Se considera factible la utilización del flujograma que propone la conducta para el diagnóstico de laboratorio del MM, ya que resulta orientador con respecto a la conducta a seguir desde el punto de vista diagnóstico, tanto para el cribado como para el seguimiento de esta enfermedad, teniendo en cuenta la disponibilidad de las pruebas que pueden realizarse en cualquier laboratorio de instituciones de salud y a cualquier nivel de atención, por la poca complejidad desde el punto de vista de la técnica analítica.

Referencias Bibliográficas

1. Farreras VP, Rozman C. Medicina Interna, 17 ed. Barcelona: Elsevier; 2012.
2. Godman L, Cecil A. Tratado de Medicina Interna. 24 ed. Barcelona: Elsevier; 2012.
3. Casciato DA, Territo MC. Manual de Oncología Clínica. 7 ed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins; 2012.
4. Pedroza Vázquez A. Utilidad de pruebas de laboratorio en el diagnóstico de mieloma múltiple. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab 2015; 62 (1): 55-62.
5. Caballero Sarmiento R. Un método de detección de gammapatías monoclonales de Ig M en un autoanalizador de la ONU. Rev Lab Clin 2014; 6(2): 55-59.
6. Oudart JB, Vichita OK. Interferencia de paraproteína M en ensayos automatizados de urea. Química Clínica y Medicina de Laboratorio 2015; 51 (7) :1-3.

7. Rajkumar ST. Multiple Myeloma. Update on diagnosisrisk. Stratification and management. European Journal of Cancer 2014; 42 (11): 1510-9.
8. Kyle RA, Rajkumar ST. Multiple Myeloma. N Engl J med 2013; 351:1860-73.
9. Bladé J, Rosiñol L, Cibeira MT, Rovira M, Carreras E. Hematopoietic stem cell and plasmatic cell in multiple myeloma. Blood 2013; 11: 3655-70.
10. Harousseau JL, Dreyling M. Guidelines Working Group. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2010; (21):155-7.
11. Leleu X, Attal M, Arnulf B. Pomalidomide plus low dose dexamethasone is active and well tolerated in bortezomib and lenalidomide refractory multiple myeloma. Blood. 2013 ;16(3):123-45.
12. Artilés Visbal L, Otero Iglesias J, Barrios Osuna I. Metodología de la Investigación para las Ciencias de la Salud. La Habana: Ecimed; 2009.
13. CECAM. Informática Médica. Bioestadística. T II. La Habana: Ecimed; 2004.
14. Mayor Hernández EG, Castillo Pérez IA, Joa Calviño CR. Fuentes de Información en las Ciencias Médicas. La Habana: Ecimed; 2009.
15. Toledo Curbelo JG. Fundamentos de Salud Pública. La Habana: Ecimed; 2013.
16. Rajkumar SV. Multiple myeloma: update on diagnosis. Am J Hematol 2011; 86:57-65.
17. National Cancer Institute. Physician Data Query (PDQ). Plasma Cell Neoplasms (Including Multiple Myeloma) Treatment. 2015 [citado 2015 Ene 12]. Disponible en: <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/myeloma/health>.
18. Rosenberg SA. Cáncer: principles and practice of oncology. 9na ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
19. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. N Engl J Med. 2013; 364(11):1046 60.
20. Holding S, Spradbery D, Hoole R, Wilmot R, Shields ML, Levoguer AM et al. Use of serum free light chain analysis and urine protein electrophoresis for detection of monoclonal gammopathies. Clin Chem Lab Med 2015; 49(1):83-8.
21. Delgado M. Utilidad del ensayo de cadenas livianas libres en suero en el manejo de gammopatías monoclonales: diagnóstico, pronóstico y monitoreo. Rev Méd Urug 2015; 30(1): 65-75.

22.Ortiz Hidalgo C. De las células plasmáticas al mieloma múltiple. Una breve perspectiva. Patología 2013; 49(2): 120-31.

Anexo 1. Encuesta realizada a especialistas.

Estimado colega:

El Hospital Oncológico Provincial Docente María Curie de Camagüey, se ha propuesto desarrollar una investigación con el objetivo de establecer la validación de algunas pruebas de laboratorio para la detección del componente M en el diagnóstico del MM.

De acuerdo con ello, se solicita su colaboración en dicho estudio en calidad de especialista. Para ello, sírvase a responder las preguntas que se le hacen a continuación.

Los datos aportados por Ud., anónimamente serán procesados por personal confiable debidamente cualificado y utilizados únicamente con fines investigativos.

Le agradecemos de antemano por su colaboración.

1. ¿Considera usted que el flujograma propuesto puede aplicarse a todos los niveles de atención de salud existentes en el país, o solamente en el nivel de Atención Primaria? Sí _____ No _____

2. ¿Considera que el flujograma es útil para el diagnóstico de laboratorio de las gammopatías monoclonales como el MM? Sí _____ No _____

3. ¿Encuentra que es pertinente incluir las pruebas séricas de TFG y el Test de Sia para la detección del componente M del MM? Sí _____ No _____

4. ¿Estima argumentar alguna sugerencia para la mejora del flujograma? En caso de una respuesta positiva, puede usted escribir en el renglón siguiente. Sí _____ No _____

5. ¿Considera oportuno incluir exámenes imagenológicos como los radiográficos (survey óseo) y la Resonancia Magnética? Sí _____ No _____