

ARTÍCULO ORIGINAL

Estado del arte en el área de proteínas. Resultados de la encuesta realizada por el Foro de Proteínas desde octubre de 2018 a marzo de 2019 en Argentina

State of the art in the protein study field. Results of the survey carried out by the protein forum from October 2018 to March 2019 in Argentina

Acastello, Nélide Esther¹; Arco, Silvia Estela²; Baquio, María Isabel³; Bovone, Nora Silvia⁴; Crispiani, Isabel Amalia⁵; De Marco, Beatriz⁶; Desimone, Isabel Viviana⁷; Factorovich, Adriana Marcela⁸; Fernandez, Diego Javier^{9*}; García, Mónica Alicia¹⁰; Giani, Miriam Patricia⁴; Lorenzon, María Victoria¹¹; Lunazzi, Graciela¹²; Madalena, Leticia Bibiana¹³; Nievez, Luciano David⁷; Osatinsky, Raquel¹⁴; Pijuan, María Carla¹⁵; Ríos, María de Lourdes¹⁶; Santoro, Silvina Andrea⁶; Tavella de Del Río, Ofelia¹⁷

¹Policlínica Obra Social Bancaria Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

²Laboratorio Hidalgo. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

³Instituto de Bioquímica Clínica. Rosario, Santa Fe, Argentina.

⁴Laboratorio de Proteínas y Autoinmunidad. Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. El Palomar, Buenos Aires, Argentina.

⁵Laboratorio Pérez Crispiani. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

⁶Laboratorio Central, Hospital Interzonal General de Agudos General San Martín. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

⁷Hospital Interzonal General de Agudos Evita. Lanús, Buenos Aires, Argentina.

⁸Laboratorio Central, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

⁹Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

¹⁰Laboratorio Bioquímico Dra. García. Castelar. Buenos Aires, Argentina.

¹¹Laboratorio Central, Hospital Italiano. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

¹²Hospital Interzonal General de Agudos Dr. Paroissien. Isidro Casanova, Buenos Aires, Argentina.

¹³Laboratorio de Proteínas. Universidad de Buenos Aires. Hospital de Clínicas, José de San Martín. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

¹⁴Laboratorio Manlab. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

¹⁵Instituto de Análisis Fares Taie. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

¹⁶Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Carlos G. Durand. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

¹⁷Laboratorio Central, Hospital Militar Central Cirujano Mayor Dr. Cosme Argerich. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Fernandez, Diego Javier; Laboratorio Central. Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich, Pi y Margall 750, C1155 AHD, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, forodeproteinasargentina@gmail.com.

Resumen Introducción: el laboratorio clínico es uno de los pilares para la caracterización de las gammopatías monoclonales tanto en la etapa diagnóstica como en el monitoreo del tratamiento. Sin embargo, ante la heterogeneidad observada tanto en las metodologías utilizadas como en la confección del informe de los estudios proteicos, surge, desde el Foro de Proteínas, la necesidad de conocer la situación del área de proteínas a nivel nacional. Objetivo: relevar las metodologías utilizadas y la forma de expresión de los resultados en los laboratorios de análisis clínicos de la República Argentina para la detección, cuantificación y tipificación de los componentes monoclonales. Materiales y Métodos: desde el mes de octubre de 2018 hasta febrero de 2019, se envió una encuesta voluntaria y anónima a diferentes laboratorios para conocer el estado del arte en el estudio de gammopatías monoclonales. Resultados: se obtuvieron 270 respuestas provenientes de todo el país, en total. El 64,4 % realiza el proteinograma electroforético en su laboratorio, y el 44,8 % lo efectúa sobre gel de agarosa. El 87,3 % expresan las distintas fracciones en g/dl y el 62,6 % incluye tanto el valor porcentual como el absoluto. El 67,2 % de los participantes cuantifica el componente monoclonal. Conclusiones: las respuestas obtenidas evidencian la falta de homogeneidad en los ítems evaluados. Al focalizar en estos aspectos, surge la necesidad de elaborar en un futuro un consenso para la unificación de criterios tanto metodológicos como de presentación de resultados.

Palabras clave: proteinograma electroforético, componente monoclonal, encuesta, informe.

Abstract Introduction: The clinical laboratory has a main role in the characterization of monoclonal gammopathies not only during the diagnostic stage but also during the treatment monitoring. However, given the heterogeneity observed both in the methodologies used and in the report of protein studies, the Protein Forum wants to know the situation of the protein study field in Argentina. Objective: To survey the methodologies used and the form of expression of the results in the clinical analysis laboratories of Argentina for the detection, quantification and typification of monoclonal components. Materials and Methods: From October 2018 to February 2019, a voluntary and anonymous survey was sent to different laboratories, to know the state of the art in the study of monoclonal gammopathies. Results: A total of 270 responses were obtained from all over the country. Results showed that: 64.4% perform the electrophoretic proteinogram in their laboratory, whereas 44.8% perform it on agarose gel; 87.3% express the different fractions in g/dl, whereas 62.0% include both the percentage and absolute value; and 67.2% of the participants quantify the monoclonal component. Conclusions: The responses obtained show the lack of homogeneity in the items evaluated. Focusing on these aspects, a consensus will be written for the unification of both methodological criteria and the presentation of results.

Keywords: electrophoretic proteinogram, monoclonal component, survey, report.

Introducción

Las gammopatías monoclonales (GM) se caracterizan por la proliferación maligna de un clon de células plasmáticas, que tiene la capacidad de producir una inmunoglobulina o fragmento de ella y que, generalmente, puede detectarse en sangre u orina. El laboratorio juega un rol central en la investigación de estas proteínas monoclonales, que se comportan como marcador tumoral de las discrasias de células plasmáticas.

Diversas sociedades científicas que se dedican al estudio de estas hemopatías como, por ejemplo, el *International Myeloma Working Group*, publican periódicamente estrategias de trabajo consensuadas por especialistas, tanto para el diagnóstico como para el monitoreo de las GM¹. Estos documentos contienen actualizaciones de los criterios diagnósticos, paneles de screening y metodologías de trabajo recomendadas. Sin embargo, la ausencia de propuestas específicas respecto del reporte de los estudios proteicos séricos y urinarios genera una gran variabilidad en los informes emitidos por diferentes laboratorios. Trabajando en la búsqueda de consensos, tanto la Asociación de Bioquímica Clínica Australiana como la Sociedad Canadiense de Química Clínica han aportado en la última década valiosas recomendaciones con el objeto de estandarizar el informe del proteinograma electroforético (PE).^{2,3}

La técnica de electroforesis permite detectar, en numerosas situaciones, el componente monoclonal (CM) presente en sangre u orina y cuantificarlo por densitometría o espectrofotometría.⁴⁻⁸ Los componentes monoclonales suelen migrar mayoritariamente en la región gamma, y pueden hacerlo en beta o, menos frecuentemente, en alfa. Se recurre a métodos automatizados, semiautomatizados o manuales para realizar la corrida electroforética sobre soportes sólidos (agarosa y acetato de celulosa) o líquidos (electroforesis capilar).^{9,10}

La cuantificación del CM resulta un dato clave para el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de las GM.¹¹⁻¹³ Los equipos y *softwares* más modernos permiten cuantificar el pico de diferentes formas (perpendicular a línea de base o tangencial), aunque todavía está en discusión, a nivel mundial, cuál es la metodología más adecuada.¹⁴

Al analizar la expresión de resultados de los estudios proteicos, se observa una falta de homogeneidad en varios aspectos: unidades de concentración, nomenclatura y formato del informe.^{2,15,16} Todas estas variables marcan la necesidad de conocer la forma de trabajo del área dedicada al estudio de proteínas. Es por ello que, desde el Foro de Proteínas, se propuso realizar una encuesta a nivel nacional, con el objetivo de conocer la metodología adoptada en los laboratorios de análisis clínicos del territorio nacional para la detección, cuantificación y tipificación de los componentes monoclonales y la expresión de los resultados obtenidos a partir del proteinograma electroforético.

La información recabada se utilizará como punto de partida para la redacción de un acuerdo con el fin de unificar criterios respecto del procesamiento e interpretación bioquímica del informe del proteinograma electroforético.

Materiales y métodos

Desde el mes de octubre de 2018 hasta febrero de 2019, se envió una encuesta voluntaria y anónima, en formato de formulario de Google, a diferentes laboratorios del ámbito público y privado, a nivel nacional, para conocer el estado del arte en la investigación de GM. Con la difusión colaboraron: la Asociación Bioquímica Argentina (ABA), la revista de difusión científica *Novedades Bioquímicas*, colegios bioquímicos regionales, *Wiener Lab. S.A.I.C.* y distintas redes sociales. Las preguntas fueron diseñadas con formato de opciones múltiples y se recabó información únicamente respecto de las técnicas realizadas en los propios laboratorios.

Figura 1. Laboratorios participantes del estudio.

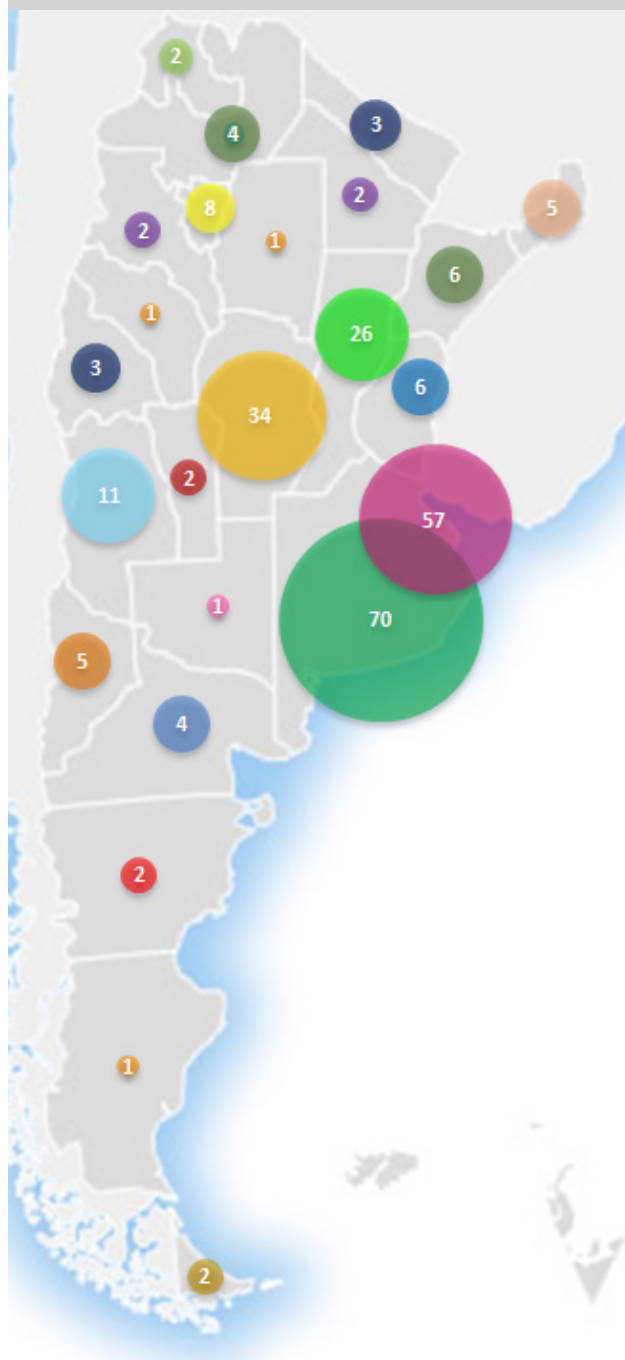


Figura 2. Soporte del proteinograma electroforético.

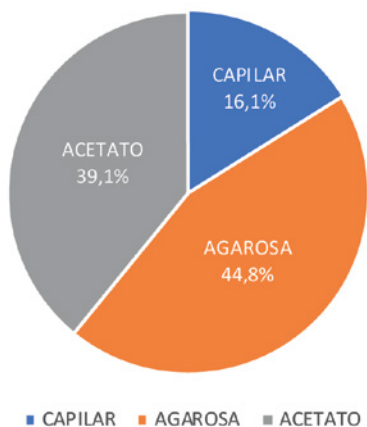
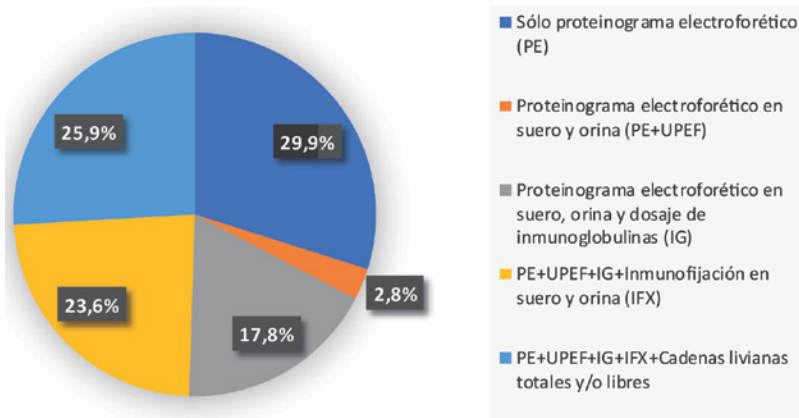


Figura 3. Metodologías empleadas en el área de Proteínas en los distintos laboratorios encuestados.



Resultados

Demográficos: distribución de laboratorios por provincia

Se obtuvieron 270 respuestas provenientes de todo el territorio nacional y se logró obtener, al menos, 1 respuesta de cada provincia. La provincia con mayor participación fue Buenos Aires, con un 25,9 % (70/270), seguida por la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, con 21,1% (57/270), Córdoba, con 12,6 % (34/270) y Santa Fe, con 9,6 % (26/270) (Figura 1).

Metodología: soporte utilizado y técnicas disponibles

De los 270 laboratorios que participaron de la encuesta, el 64,4 % (174/270) realiza el PE en su propio establecimiento, mientras que un 35,6 % (96/270) lo deriva a otra institución. El PE sobre soporte sólido resultó ser la metodología más utilizada, ya que el 44,8 % (78/174) realiza PE sobre gel de agarosa, 39,1 % (68/174), sobre acetato de celulosa y un 16,1 %

(28/174) utiliza electroforesis capilar (Figura 2).

El 29,9% (52/174) solo realiza el PE sérico en su laboratorio. El 2,8% (5/174) realiza tanto PE como uroproteinograma electroforético (UPEF), mientras que el 25,9% (45/174) realiza todas las técnicas relevadas en su laboratorio (Figura 3).

Informe del PE: expresión de resultados y denominación del CM

Con respecto a las unidades en las que se expresan las distintas fracciones, la encuesta mostró que la mayoría de los laboratorios, un 87,3 % (152/174), lo hace en g/dl, mientras que un 7,5 % informa en g/l (Figura 4a).

En cuanto a la forma de expresión de resultados, un 62,6 % (109/174) incluye tanto el valor porcentual como el absoluto en el informe, mientras que un 5,2 % (9/174) informa únicamente valores porcentuales (Figura 4b).

Ante la presencia de un pico en el trazado electroforético, si

Figura 4a. Unidades de expresión de las fracciones proteicas.

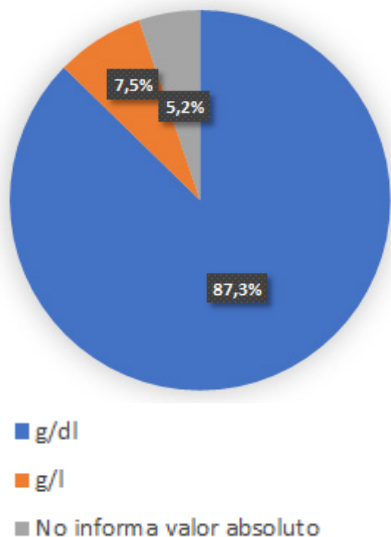
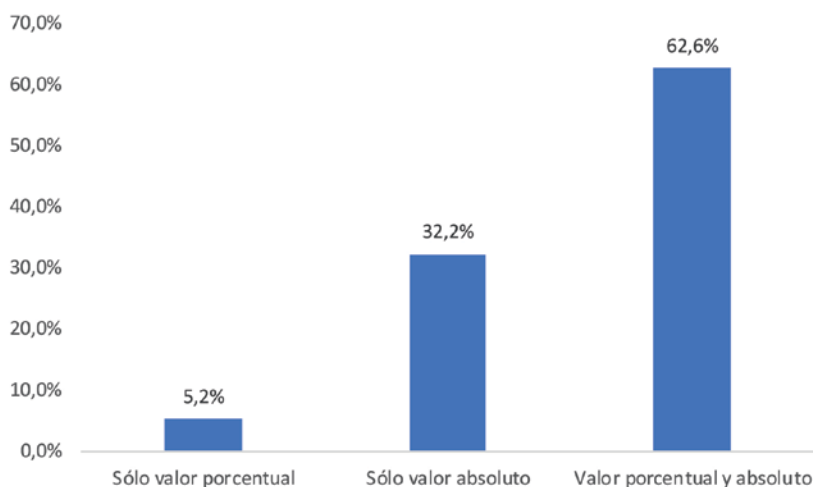


Figura 4b. Forma de expresión de las fracciones proteicas.



el mismo no tiene antecedente alguno y/o es la primera vez que se detecta en el paciente, el 63,8 % (111/174) utiliza el término “banda homogénea” para nombrarlo; en cambio, cuando el pico ya fue caracterizado mediante técnicas inmuno-electroforéticas y/o tiene antecedentes de laboratorio o clínicos, el término utilizado por el 62,1 % de los participantes (108/174) pasa a ser “componente monoclonal” (Figura 5).

Gran parte de los laboratorios incluye en el informe la movilidad del pico. Un 70,1 % (122/174) indica si está presente en zona alfa, beta-1, beta-2 o gamma y un 58,0 % (101/174) expresa, además, su posición relativa, si el pico está presente en zona gamma, como gamma rápida, media o lenta respecto de su proximidad a la fracción de las betaglobulinas. Algunos participantes incluyen, además, una breve descripción de la zona gamma, tales como “CM sobre hipogammaglobulinemia” o “CM sobre fondo policlonal”.

La curva densitométrica se encuentra presente en el informe del 54,0 % (94/174) de los laboratorios. La mayoría de los participantes lleva un registro de los pacientes que presentan GM, sin embargo, el 85,0 % (148/174) no incluye esos antecedentes en el informe ni hace comentarios con respecto a cambios en la concentración del CM.

Cuantificación del componente monoclonal

Respecto de la cuantificación del CM en zona gamma, un 32,8 % (57/174) de los participantes no la realiza. Tomando en cuenta los 117 laboratorios que sí cuantifican el CM, un 86,3 % (101/117) informa la concentración del mismo como parte de la zona gamma, mientras que un 13,7 % (16/117) resta su concentración al total de la zona gamma (Figura 6).

Figura 5. Denominación del componente monoclonal.



► CM, componente monoclonal.

El método de medida del CM en zona gamma más utilizado es la forma perpendicular a la línea de base, elegido por el 86,4 % (150/174) de los encuestados y sólo 13,6 % (24/174) lo hace con el método tangencial (Figura 7). En cambio, cuando el CM se encuentra en las fracciones de las alfa o beta globulinas, el 59,8 % (104/174) no lo cuantifica (Figura 8).

Cabe aclarar que, si bien son 117 los laboratorios que cuantifican el CM en zona gamma, los laboratorios que no lo hacen también respondieron sobre si medirían el componente monoclonal de forma perpendicular a la línea de base o de forma tangencial.

Interpretación de la inmunofijación

Se consultó de forma teórica a los 174 laboratorios que realizan el proteinograma en su propia sede sobre cómo proceder frente a una IF sérica donde sólo se visualiza inmunoprecipitado frente a cadena liviana (kappa o lambda) y no, frente a cadenas pesadas (gamma, alfa o mu). Un 20,1 % (35/174) respondió que realiza una segunda IF incorporando antisueños frente a cadenas livianas kappa y lambda libres y/o anti cadenas pesadas delta y epsilon. Un 44,8 % (78/174) sugiere una segunda IF con los antisueños mencionados anteriormente y un 23,0 % (40/174) no realiza ni sugiere estudios complementarios (Figura 9).

Discusión

En la encuesta participaron, al menos, un laboratorio por provincia de distintos ámbitos de la Salud. Se recibieron respuestas de laboratorios tanto públicos como privados. El mayor porcentaje de

Figura 6. Cuantificación del componente monoclonal.

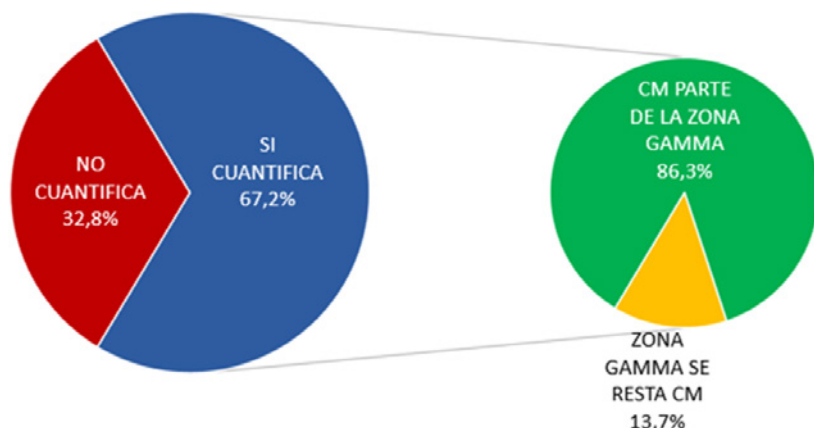


Figura 7. Medida de componente monoclonal en zona gamma.

METODO DE MEDIDA CM



participación correspondió a las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y a la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

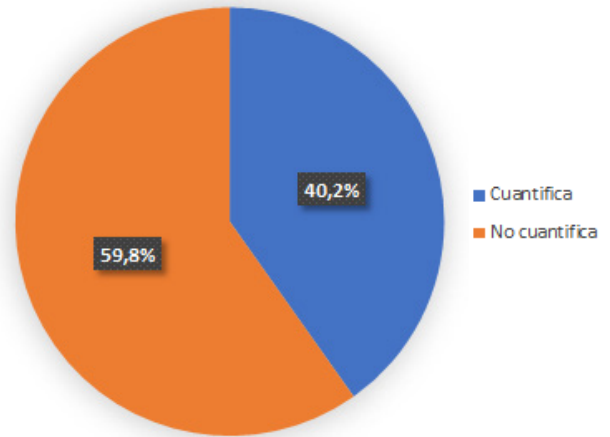
Teniendo en cuenta el carácter voluntario del sondeo, el número de laboratorios participantes (270) revela el interés de los mismos en trabajar en pos de una armonización metodológica.

De acuerdo con los datos recabados, la electroforesis en gel de agarosa resultó ser el método más utilizado. Sin embargo, y a diferencia de lo que ocurre en los países más desarrollados, un alto porcentaje de los encuestados aún utiliza acetato de celulosa con metodologías manuales o semiautomatizadas.

Respecto del número de técnicas utilizadas para el estudio de GM, este varía de acuerdo con las características del área de proteínas con que cuenta el laboratorio. Así, los laboratorios con alta prevalencia de patologías hematológicas disponen usualmente de técnicas con mayor resolución y realizan otras determinaciones indispensables para el estudio de GM, como son el uroproteinograma, inmunofijación en sangre y orina y dosaje de cadenas livianas libres (CLL).

Si bien la cuantificación del CM de forma perpendicular a la línea de base es la metodología que se utiliza desde hace varias décadas, algunos *softwares* actuales incorporan la medida

Figura 8. Medida de componente monoclonal en zona no gamma.



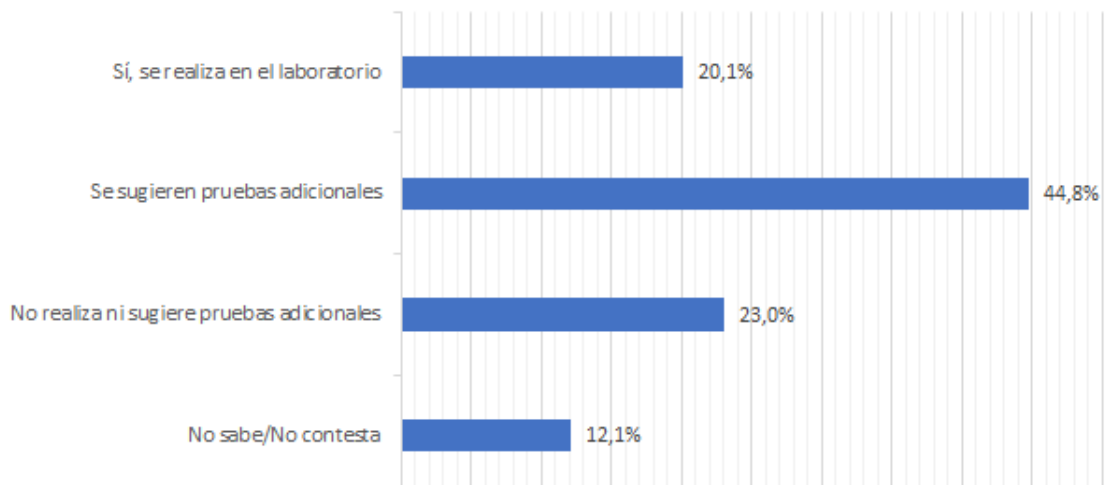
por método tangencial. Ambas técnicas presentan ventajas y desventajas, pero debe remarcar la importancia de hacer el seguimiento del paciente siempre por el mismo método.^{17,18}

Cuando el CM migra en zona alfa o beta, se presentan dificultades para su cuantificación. De acuerdo con la encuesta, la mayoría de los laboratorios no mide dichos picos. Sin embargo, se puede recurrir a diferentes alternativas que permiten hacer seguimiento cuantitativo del CM.¹⁹

Por último, frente a la pregunta de interpretación del resultado de una inmunofijación donde se observa solo precipitación monoclonal frente a una cadena liviana y precipitación policlonal frente a las cadenas pesadas gamma, alfa y mu, el 65,3 % de los bioquímicos realizan o sugieren los estudios pertinentes, mientras que un 34,7 % no realiza ninguna otra acción, lo que llevaría a un resultado erróneo o incompleto. Cabe destacar que esta pregunta responde a un primer sondeo sobre una de las técnicas complementarias al PE.

Como conclusiones de este estudio se puede afirmar que

Figura 9. Interpretación de un caso de inmunofijación.



la falta de consensos a nivel mundial sobre cómo informar los estudios proteicos séricos y urinarios obligaron a los profesionales del área a recabar información en cuanto a las técnicas utilizadas, nomenclatura y diseño del informe de resultados en nuestro país. Esta primera encuesta fue enfocada especialmente en la búsqueda y cuantificación del CM a través del PE.

Se observa una variabilidad en las respuestas de los siguientes ítems evaluados: soporte utilizado, unidades de medida de las fracciones proteicas del proteinograma, nomenclatura (uso del término “banda homogénea” o “componente monoclonal” según antecedentes), informe de la movilidad del CM y breve descripción de zona gamma, cuantificación del CM.

El abordaje de otros temas como la tipificación del CM mediante IF y otras técnicas útiles para el diagnóstico de GM deberán ser enriquecidos con futuros trabajos.

Autores

El Foro de Proteínas está integrado por un grupo de profesionales especialistas en el área Proteínas, que se reúne periódicamente y de forma ininterrumpida desde el año 2007 en la sede de la Asociación Bioquímica Argentina para consensuar criterios que puedan ser utilizados como herramientas en la transmisión de resultados clínicamente útiles. Desde su creación, cuenta con la participación de la referente y consultora, Dra. Raquel Osatinsky. Actualmente, está integrado por 20 profesionales tanto del ámbito público como privado de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, de la Provincia de Buenos Aires y de la Provincia de Santa Fe.

Agradecimientos

Se agradece a la Asociación Bioquímica Argentina (ABA), a la revista de Novedades Bioquímicas, a los colegios bioquímicos regionales, y a *Wiener Lab.* S.A.I.C, que nos permitieron difundir la encuesta en todo el país.

Referencias bibliográficas

- Rajkumar S, Dimopoulos M, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12): 538-48.
- Tate J, Caldwell G, Daly J, Gillis D, Jenkins M, Jovanovich S, et al. Working Party on Standardised Reporting of Protein Electrophoresis. Recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Ann Clin Biochem.* 2012;49(Pt 3): 242-56.
- Bootha R, McCudden C, Balionb C, Blasutig I, Byouhtiauyd I, Rodriguez-Capotee K, et al. Candidate recommendations for protein electrophoresis reporting from the Canadian Society of Clinical Chemists Monoclonal Gammopathy Working Group. *Clin Biochem.* 2018;51: 10-20.
- Osatinsky R. Las proteínas séricas. Buenos Aires. Argentina: Emma Fiorentino. Publicaciones Técnicas S.R.L.; 2012.
- Vavricka S, Burri E, Beglinger C, Degen L, Manz M. Serum Protein Electrophoresis: An Underused but Very Useful Test. *Digestion.* 2009;79(4): 203-210.
- Karcher R, Launders JP. Electrophoresis. En: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns D. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis.* St Louis: Elsevier Saunders. 2006;121:40.
- Mc Taggart M, Kearney E. Evidence-based use of serum protein electrophoresis in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med.* 2012;51: 1-3.
- Kohn J. A cellulose acetate supporting medium for zone electrophoresis. *Clin Chem Acta.* 1957;2(4):297-303.
- Jolliff CR, Blessum CR. Comparison of serum protein electrophoresis by agarose gel and capillary zone electrophoresis in a clinical setting. *Electrophoresis.* 1997;18(10):1781-4.
- Lissoir B, Wallemacq P, Maisin D. Électrophorèse des protéines sériques: comparaison de la technique en capillaire de zone Capillarys (Sebia) et de l'électrophorèse en gel d'agarose Hydrasys (Sebia). *Ann Biol Clin.* 2003;61(5): 557-62.
- Kyle R, Willricha M, Murraya D. Laboratory testing for monoclonal gammopathies: Focus on monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Clin Biochem.* 2018; 51:38-47.
- Katzmann J, Kyle R, Benson J, Larson D, Snyder M, Lust J, et al. Screening Panels for Detection of Monoclonal Gammopathies. *Clin Chem* 2009; 55(8) 1517-22.
- Bravo García-Morato M, Padilla-Merlano B, Nozal P, Espino M, Juárez C, Villar L et al. Guía de laboratorio para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con gammopatías monoclonales. *Rev Clin Esp.* 2016;216(3): 128-134.
- Keren D. Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins. *Arch Path Lab Med.* 1999;123(2):126-32.
- Pérez Surribas D, Cárdenas Fernández MC, Zapico Muñoz D. Recomendaciones sobre la separación electroforética de las proteínas plasmáticas en suero. *Documentos de la SEQC.* 2014:91-104.
- Chan PC, Chen Y, Randell EW. Monoclonal Gammopathy Interest Group (MGIG), Canadian Society of Clinical Chemists. On the path to evidence-based reporting of serum protein electrophoresis patterns in the absence of a discernible monoclonal protein – A critical review of literature and practice suggestions. *Clin Biochem.* 2018;51: 29-37.
- Mc Cudden C, Mathews S, Hainsworth S, Chapman J, Hammet-Stabler C, Willis S, et al. Performance comparison of capillary and agarose gel electrophoresis for the identification and characterization of monoclonal immunoglobulins. *Am J Clin Pathol.* 2008;129: 451-8.
- Keren DF, Schroeder L. Challenges of measuring monoclonal proteins in serum. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6):947-61
- Willrich M, Katzmann J. Laboratory testing requirements for diagnosis and follow-up of multiple myeloma and related plasma cell dyscrasias. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6): 907-919.