

Importancia de relacionar los datos clínicos, de laboratorio y anatomopatológicos en la interpretación de resultados en pacientes con Componente Monoclonal asociados a otras patologías

>>> La amiloidosis es un trastorno en el cual las proteínas nativas con plegamiento incorrecto, se depositan de forma extracelular y causan daños a los órganos. Laboratorios MANLAB nos presenta un caso de Glomerulopatía por depósito de amiloide y la importancia de relacionar los datos clínicos, de laboratorio y anatomopatológicos en la interpretación de resultados.

# >>> AUTORES

Osatinsky R\*.,Cocucci S\*\*., Giummarra V\*\*\* Jefe de Área; \*\* Bioquímicas. Área Proteínas Manlab E-mail: proteínas@manlab.com.ar

>>> La amiloidosis es un trastorno en el cual las proteínas nativas con plegamiento incorrecto, determinado por su secuencia de aminoácidos, se depositan de forma extracelular y causan daños a los órganos.

Los diferentes tipos de amiloidosis tienen en común el depósito de estas proteínas que se agregan en forma de fibrillas en el tejido, teniendo consecuencias en la afección de los órganos, el pronóstico y tratamiento. La característica más conocida es la tinción con rojo Congo, que al ser expuesta a la luz polarizada adquiere una birrefrin-

gencia verde manzana.

El material amiloide, producido por la médula ósea, está integrado en un 95% por fibrillas de amiloide que forman polímeros insolubles constituidos por subunidades proteicas de bajo peso molecular, las que adquieren una estructura secundaria anormal en láminas  $\beta$  – antiparalelas; el otro 5 % contribuye a la estabilización de las fibrillas.

Existen por lo menos 23 proteínas humanas diferentes relacionadas con la amiloidosis y 8 animales que se consideran precursoras de la sustancia amiloide.

El tipo de amilodoisis depende de la etiología de la enfermedad, es decir del origen del precursor amiloide.



# ELITE InGenius PCR Real Time Totalmente Automatizado

<b>♥</b> Patógenos		Meningitis	Infecciones Respiratorias
de trasplante	a Antibióticos	, Viral panel 1	, Viral panel
CMV	, MRSA/SA	HSV1	Flu A
EBV	S. aureus	L HSV2	Flu B
BKV	mecA/mecC	L vzv	□ RSV
VZV			
HSV1	C. difficile	Viral panel 2	<sub>,</sub> Bacterial panel
HSV2	_ Toxin A	_ Enterovirus	_ C. pneumoniae
Parvovirus B19	∟ Toxin B	_ Parechovirus	_ M. pneumoniae
Adenovirus	CDE 21	L Adenovirus	∟ Legionella pn.
Enterovirus JCV	CRE 21 KPC	Pactorial panel	MTD - Decistores
HHV6	IMP, VIM, NDM	Bacterial panel N. meningitidis	MTB + Resistance MTB complex
HHV7	L OXA	S. pneumoniae	Rifampicin resistance
HHV8		H. influenzae	Isoniazid resistance
Toxoplasma gondii	, ESBL	36	= isomazia resistance
Hepatitis E (ŘUO)	CTX-M-1,15	Walter Barrier	_ COVID-19
WNV	CTX-M-9,14	® Enfermedades	
Aspergillus	Anale .	de transmisión	Sastro-Intestinal
	Colistin Resistance	sexual	Infection
	mc1		
	L mcr2	MG + Resistance	Norovirus
<b>♦</b> Onco-Hematológicas		M. genitalium	L Genotypes I & II
		L Macrolide resistance	, Viral Panel
Coagulation factors pa	nel	STI PLUS Panel	Rotavirus
_ Factor V	<b>一次</b> 公司,以第二人	C. trachomatis	Adenovirus
_ Factor II		N. gonorrhoeae	Astrovirus
L MTHFR	The state of the s	M. genitalium	
V M		T. vaginalis	Bacterial panel
N.			_ Campylobacter spp.
A STATE OF THE PARTY OF THE PAR		C. trachomatis	<ul> <li>Salmonella spp.</li> </ul>
		- The state of the	Y. enterocolitica
			Parasitic panel G. lamblia
		1	C. parvum
			E. histolytica

# Existen varios tipos de amiloidosis:

Amiloidosis AL (involucra a las cadenas livianas de las inmunoglobulinas), Es el más frecuente; puede afectar al corazón, los riñones, la piel, el hígado, el sistema nervioso. Se presenta cuando la médula ósea produce anticuerpos anormales.

La amiloidosis AA (conocida como "amiloidosis secundaria"). Aparece en enfermedades inflamatorias o crónicas, como la artritis reumatoidea o la enfermedad inflamatoria intestinal. Se relaciona con una producción excesiva de la proteína amiloide A (SAA).

La amiloidosis hereditaria, suele afectar el hígado, sistema nervioso, el corazón y los riñones. Existen muchos tipos de anomalías genéticas relacionadas con mayor riesgo de padecer esta enfermedad. La más común es la amiloidosis mATTR\_mediada por transtiretina mutante. Una enfermedad autosómica dominante causada por un plegamiento incorrecto de esta proteína. También denominada amiloidosis sistémica senil. Se conocen más de 100 mutaciones diferentes.

Amiloidosis relacionada con la diálisis se manifiesta cuando las proteínas se depositan en las articulaciones y los tendones. Provoca dolor, rigidez y presencia de líquido en las articulaciones, también en el síndrome del túnel carpiano. Afecta generalmente a las personas sometidas a diálisis a largo plazo.

Los factores que pueden aumentar el riesgo de padecerlas son:

**Edad:** en el tipo más frecuente, la AL, los pacientes se encuentran entre los 60 y 70 años, aunque también pueden presentarse antes.

**Sexo:** aproximadamente el 70 % con amiloidosis AL son hombres.

**Antecedentes familiares:** algunos tipos de amiloidosis son hereditarios.

**Otras enfermedades:** Tener una enfermedad infecciosa o inflamatoria crónica aumenta el riesgo de padecer el tipo AA. Las posibles complicaciones de

la amiloidosis dependen donde se deposita la sustancia amiloide.

Los signos y síntomas de la amiloidosis pueden comprender: hinchazón de tobillos y piernas, fatiga y debilidad intensas, dificultad para respirar; entumecimiento, hormigueo o dolor en las manos y en los pies, dolor en la muñeca, diarrea o estreñimiento, adelgazamiento significativo involuntario, lengua agrandada, cambios en la piel como engrosamiento o hematomas que aparecen con facilidad, manchas purpúreas alrededor de los ojos, latidos irregulares del corazón y dificultad para tragar, entre otros.

La progresión de la amiloidosis AL a Mieloma Múltiple (MM) no es muy frecuente. Se considera que un 10 a 15 % de los pacientes con MM desarrollan una amiloidosis durante su evolución. Se considera que es una enfermedad causada por una neoplasia de células plasmáticas o raramente por una neoplasia linfoplasmocitaria. Estas células secretan cadenas livianas de inmunoglobulina intacta o fragmentos, que cambian su conformación, se agregan y forman fibrillas que se depositan en varios tejidos, causando daño orgánico. Por lo tanto, la presentación clínica de la amiloidosis es variable, dependiendo de la extensión de los depósitos y los tejidos afectados, siendo frecuente la afectación sistémica.

Para realizar el diagnóstico de amiloidosis es necesario una biopsia de tejido con resultado positivo de depósito amiloide por tinción de rojo congo, observándose una birrefringencia verde manzana bajo microscopio de luz polarizada, confirmando la presencia de depósito de cadenas livianas Kappa y/o Lambda, mediante histoquímica (inmunoperoxidasa) o por espectrometría de masa. La presencia de producción de cadenas livianas en médula ósea confirma la naturaleza sistémica de la amiloidosis.

Se requiere de una batería de estudios complementarios a la biopsia como:

- Electroforesis de proteínas séricas
- .- Inmunofijación en suero y orina
- .- Cuantificación de cadenas livianas libres en suero (en la mayoría de los casos de amiloidosis AL el

nivel de cadenas livianas libres en suero es elevado. Es uno de los factores pronósticos más importante de esta enfermedad).

### Caso clínico

Se realiza un proteinograma electroforético por capilaridad (Capillarys 2-Flex Piercing – Sebia), el cual presentó una curva anómala con bajas proteínas totales y un pico que podría corresponder a un componente monoclonal. Por este motivo se solicitan datos del paciente y se sugiere realizar inmunofijación de suero y orina.

Los datos remitidos por el laboratorio derivante fueron:

Paciente femenino de 25 años

Diagnóstico presuntivo: síndrome nefrótico y amiloidosis.

Estudios anteriores: biopsia renal y punción de médula ósea.

Motivo del estudio: seguimiento de la enfermedad.

# Informe anatomopatológico de la punción renal:

**Material:** Punción biopsia renal. Examen microscópico

Biopsia renal cortical con 16 glomérulos Sector glomerular: la mayoría de los glomérulos muestra depósito mesangial de una sustancia acelular, eosinofílica clara, que se extiende a algunas paredes capilares y a la pared vascular de arteriola aferente. Sector túbulo intersticial escasa inflamación crónica focal. Aislados túbulos con cilindros hialinos, túbulos proximales con gotas de resorción proteica en el epitelio. Sector vascular: sin lesión en los cortes evaluados. Se realiza coloración especial con Rojo Congo resultando positivo bajo la luz polarizada en depósitos mesangiales y en paredes capilares.



# DETECCIÓN DE SARS-CoV-2

# PCR REAL TIME

PRODUCTO: EUROREALTIME. CÓDIGO: MP 2606

- Kit IVD con marca CE (Unión Europea)
- Detección específica de SARS-CoV-2
- Detección rápida y simple del patógeno en un solo paso
- Alta sensibilidad
- Solo una reacción por muestra

# ELISA

ELISA PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI SARS-COV-2 DE TIPO IGG E IGA (\*)

- Kits IVD con marca CE
- Para uso en la recolección de datos epidemiológicos
- Excelente sensibilidad y especificidad
- Antígenos en diferentes kits:
  - Dominio S1 de la proteína espiga
  - Proteína de la nucleocápside modificada utilizando solo los epítopes relevantes para diagnóstico (NCP)



MÁS INFORMACIÓN SOBRE ESTOS PRODUCTOS:

# >>> DIAGNÓSTICO

Glomerulopatía por depósito de amiloide. Nota: sugiero correlacionar con hallazgos clínicos y de laboratorio

# Informe anátomopatolígico

Material: BMO

Examen microscópico Cilindro de médula ósea con 10 espacios intertrabeculares evaluables, con relación celularidad / grasa (60/40) con presencia de 3 series hematopoyéticas. Se observa células plasmocitoides dispuestas principalmente en torno a vasos sanguíneos y escasos grupos intertrabeculares.

Estudio inmunohistoquímico IHQ: Las células plasmáticas expresan Kappa y Lambda; sin restricción de cadenas.

# >>> DIAGNÓSTICO

# Parámetros de laboratorio

**Inmunofjación en suero:** Se observa componente monoclonal IgM de tipo Lambda.

**Inmunofijación en orina:** Se observa componente monoclonal Lambda y Lambda libre.

**Uroproteinograma:** Se observa proteinuria de tipo mixta.

Cuantificación de Cadenas Livianas Libres en suero: Kappa: 17.7 mg/lLambda: 538 mg/l Relación kappa / lambda: 0.033

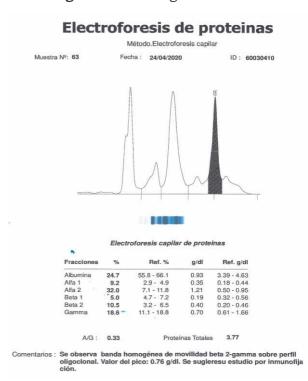
## Análisis del caso.

Cabe recordar que nuestro laboratorio trabaja con muestras derivadas por colegas, razón por la cual carecemos de los datos del paciente. Los solicitamos ante presencia de alteraciones en el proteinograma electroforético. No pudimos contactarnos con el médico que solicitó el estudio.

En este paciente llamó la atención que además de presentar una curva compatible con un

síndrome nefrótico (proteínas totales bajas (3.77g/dl), albúmina de 0.93 g/dl y una fracción alfa 2 muy elevada (1.21 g/dl)), se observó un pico de movilidad beta2/gamma (0,76 g/dl) que podría corresponderse con un componente monoclonal (Figura 1). Por esta razón se solicitó mayor información de signos y síntomas clínicos del paciente y resultados de estudios anteriores.

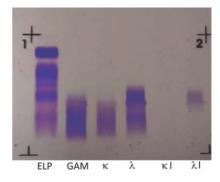
>> Figura 1: Proteinograma electroforético



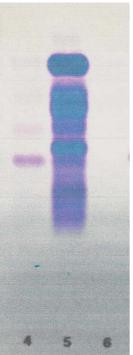
>> Figura 2: Inmunolectroforesis en suero: Se observa CM en IgM y CM en Lambda



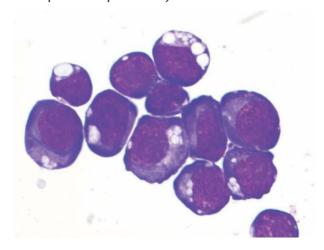
>> Figura 3: Inmunofijación en orina: Se observa CM Lambda y CM Lambda libre



>> Figura 4: Uroproteinograma en agarosa HR.- Paciente N° 5 se observa proteinuria de tipo



>> Figura 5: Características de las células plasmáticas en punción medular. (ilustración- no corresponde al paciente)



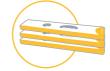
Los resultados de la inmunofijación en suero arrojaron un CM de tipo IgM/Lambda (Figura 2), que condice con el CM Lambda y Lambda libre hallado en el uroproteinograma y en la inmunofijación en orina. (Figura 3 y 4).



Sistema portátil de inmunoensayo por fluorescencia (FIA)



Muestra: 10 µl de suero, plasma o sangre total.



Kits de 25 determinaciones.

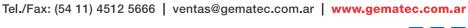


Lectura automatizada de la reacción.



Int. Ávalos 3651 | (1605) | Munro, Buenos Aires, República Argentina





Mientras que el informe anatomopatológico nos hace pensar en una amiloidosis del tipo AA, la BMO no nos aclara si "las células plasmocitoides" son maduras o inmaduras o si la presencia de cadenas livianas son clonaes o no. (Figura 5)

Sin embargo, la birrefringencia verde manzana que presentó el material bajo luz polarizada frente a la tinción con rojo Congo permite concluir que el diagnóstico de amiloidosis se corresponde con los resultados obtenidos. Además, la alteración de la relación kappa/lambda observada por la cuantificación de las cadenas livianas libres, lo confirman.

# La duda que queda es la siguiente:

El CM que se observa corresponde a IgM y la cadena liviana involucrada es lambda. La punción de médula ósea no aclara porcentaje de infiltración ni calidad de los plasmocitos (maduros, inmaduros, en mitosis, morfología). Deberían realizarse los estudios para descartar si el CM corresponde a un mieloma o si se trata de una macroglobulinemia que suelen asociarse a amiloidosis, o son patologías distintas que presenta el paciente. El mieloma IgM es muy poco frecuente (0.5%) y la posibilidad que se trate de una macroglobulinemia es muy extraña a la edad de la paciente (la presentan adultos mayores).

El mieloma es una enfermedad mieloproliferativa; la macroglobulinemia es linfoproliferativa, la punción de MO lo define así como los estudios por citometría de flujo. Además, los tratamientos son diferentes.

En conclusión, podemos agregar consideraciones que nos enseña la experiencia en este tipo de tareas. El desarrollo de la tecnología asociada a la informática y complejidad de las metodologías que se emplean ha producido un cambio importante en el ejercicio de nuestra profesión. Es la razón por la que no siempre es factible que un laboratorio pueda resolver todas las prestaciones que se solicitan y sea necesario derivar muestras a los que poseen más complejidad. Por ello es necesario e imprescindible el intercambio de datos para realizar una buena

interpretación de los resultados obtenidos. Debemos tener presente que cada individuo es único, y así corroborar que los resultados obtenidos aportan a que los médicos tratantes curen y/o mejoren la calidad de vida de los pacientes.



Diagnóstico Bioquímico y Genómico



# >>> REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- AL Amyloidosis.-Estelle Desport, Frank Bridoux, Christophe Sirac, et.al.- Orphanet Journal of Rare Diseases 2012,
- 2 .- AL amyloidosis: from molecular mechanisms to targeted therapies.-Giampaolo Merlini .- Hema-tology 2017.-
- 3.- Update on treatment of light chain amyloi-dosis.-Shameem Mahmood, Giovanni Palladini, Vaishali Sanchorawala, and Ashutosh Wecha-lekar.- ©2013 Ferrata Storti
- 4.- Amyloidosis—the Diagnosis and Treatment of an Underdiagnosed Disease.-Sandra Ihne, Caroline Morbach, Claudia Sommer, Andreas Geier, Stefan Knop, Stefan Störk Deutsches Ärzteblatt International | Dtsch The J Pathol Clin Res; July 2019; 5: 145–153
- 5.- Hereditary transthyretin amyloidosis: mole-cular basis and therapeutical strategies.-Maria João Mascarenhas Saraiva.- 14 May 2002.- Cambridge University Press
- 6.-The complementary role of histology and proteomics for diagnosis and typing of systemic amyloidosis.- Tamer Rezk , Janet A Gilbertson, P Patrizia Mangione, Dorota Rowczenio, Nigel B Rendell et.al.-J Pathol Cln Res; July 2019; 5: 145–153
- 7.- CME Information: Immunoglobulin Light Chain Amyloidosis: 2016 Update on Diagnosis, Prog-nosis, and Treatment .- Gertz - 2016 - American Journal of Hematology -Wiley Online.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajh.24433/abstract

- 8.- Light chain (AL) amyloidosis: update on diagnosis and management Michael Rosenzweig1 and Heather Landau... - Journal of Hematology & Oncology 2011, 4:47 and 2011 an
- 9.- Light Chain Amyloidosis.- Paolo Milani, Giampaolo Merlini and Giovanni Palladini..-Mediterr J Hematol Infect Dis 2018, 10(1): e20-18022, DOI: http:// dx.doi.org/10.4084/MJHID.2018.022
- 10.- Monoclonal gammopathy of undetermined significance in systemic transthyretin amyloidosis (ATTR).-Pooja, Vaishali S. et al.-Published in final edited form as: Amyloid. 2018 March; 25(1): 62-67.
- 11.- Renal failure due to primary amyloidosis: a case report and literature review.-Ramon Andrade Bezerra de Mellol, Dania Sofia Neiva Marques Santos II, Margarida Paula Rebelo Nunes Freitas et.al.-Internal.-Sao Paulo Med J. 2011; 129(3):176-80
- 12.- Treatment of Immunoglobulin Light Chain Amyloidosis: Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) Consensus
- Statement.- Angela Dispenzieri, MD; Francis Buadi, MD; Shaji K. Kumar, MD; Craig B. Reede; Tamur She; Martha Q. Lac; Robert A. Kyle, Joseph R. Mikhael; Vivek Roy, MD; Nelson Leung, MD; Martha Grogan, MD; Prashant Kapoor, MD; John A. Lust; David Dingli; Ronald S. Go,Yi Lisa Hwa; Suzanne R. Hayman,; Rafael Fonseca;Sikander Ailawadhi,; P. Leif Bergsagel, ; Ascher Chanan-Khan, S. Vincent Rajkumar,; Stephen J. Russell,; Keith Stewart; Steven R. Zeldenrust,; and Morie A. Gertz,.-1054 Mayo Clin Proc. n August 2015-;90(8):1054-1081
- 13.- Congo Red and amyloids: history and relationship.-lmira I. Yakupova , Liya G. Bobyleva, Ivan M. Vikhlyantsev and Alexander G. Bobylev.- Bioscience Reports (2019) 14.- Immunoglobulin light chain amy-loidosisdiagnosis and treatment algorithm 2018.-
- Morie A. Gertz1 Blood Cancer Journal (2018) 8:44 15.- Improving sensitivity of amyloid detection by Congo red stain by using polarizing microscope and avoiding pitfalls.- Ashraf El-Meanawy1\*, Christopher Mueller and Kenneth A. Iczkowski Diagnostic Pathology (2019)
- 16.- Assessment of minimal residual disease using multiparametric flow cytometry in patients with AL amyloidosis.- Andrew Staron, Eric J. Burks, John C. Lee, Shavna Sarosiek, J. Mark Sloan, and Vaishali Sanchorawala, 2020 by The American Society of Hematology.-880 10 MARCH 2020 x VOLUME 4, NUMBER 5
- 17.- AMILOIDOSIS RENALTIPO AA: FRECUEN-CIA EN NUESTRO MEDIO.
- Ferrari Matias, Tais Renzo, Delgado Soruco Pamela, Alberton Valeria, Lococo Bruno, Malvar Ana..- Revista Nefrología Argentina | ISSN 2591-278X | Edición diciembre 2017
- 18.- The evaluation of monoclonal gammopathy of renal significance: a consensus report of the International Kidney and Monoclonal Gammo-pathy Research Group.-Nelson Leung 1, Frank Bridoux, Vecihi Batuman, Aristeidis Chaidos, Paul Cockwell, Vivette D. D'Agati, Angela Dispenzieri, Fernando C. Fervenza, Jean- Paul Fermand, Simon Gibbs, Julian D. Gillmore, Guillermo A. Herrera10, Arnaud Jaccard, Dragan Jevremovic, Efstathios Kastritis, Vishal Kukreti, Robert A. Kyle, Helen J. Lachmann, Christopher P. Larsen, Heinz Ludwig, Glen S. Markowitz, Giampaolo Merlini, Peter Mollee, Maria M. Picken, Vincent S. Rajkumarı, Virginie Royal, Paul W. Sanders, Sanjeev Sethi, Christopher P. Venner, Peter M. Voorhees, Ashutosh D. Wechalekar, Brendan M. Weiss and Samih H. Nasr.---Nature Reviews | Nephrology volume 15 | JANUARY 2019 | 4