



Diagnóstico Bioquímico y Genómico

## Interpretación de los resultados en muestras derivadas a un laboratorio de alta complejidad: Hemoglobinopatías, Gammapatías Monoclonales, Bandas Oligoclonales

 14 min.



En el siguiente trabajo el Área de Proteínas-Hemoglobina de Laboratorios MANLAB nos presenta algunos casos clínicos de las distintas determinaciones que se realizan en el sector de Proteínas de MANLAB realizados durante el último año.



Laura Baigorria\*, Antonella Invernizzi\*, Raquel Osatinsky\*\*  
Área Proteínas-Hemoglobinas.- Manlab.- Diagnóstico Bioquímico y Genómico

\*Bioquímicas; \*\*Bioquímica Jefa- Consultora del Área  
e-mail: [laura.baigorria@manlab.com.ar](mailto:laura.baigorria@manlab.com.ar)



En el año 2016 publicamos en esta misma revista “Evaluación e interpretación visual de la curva obtenida por Electroforesis Capilar: Resultados inesperados”, en el cual se establece la importancia de un correcto análisis de la curva electroforética. El objetivo de este trabajo es presentar algunos casos de las distintas determinaciones que se realizan en el Sector de Proteínas de MANLAB, con los que nos hemos encontrado en el transcurso del último año.

### Hemoglobinopatías

La molécula de hemoglobina (Hb) está formada por cuatro grupos hemo y cuatro subunidades proteicas denominadas globinas. Dependiendo de las cadenas globinas involucradas existen diferentes tipos de Hb.

La HbA constituye aproximadamente el 98% de la totalidad del contenido hemoglobínico eritrocitario en el adulto y está formada por dos cadenas  $\alpha$  y dos cadenas  $\beta$  ( $\alpha_2\beta_2$ ). El 2% restante está constituido por hemoglobina A2 ( $\alpha_2\delta_2$ ).

Durante el desarrollo embrionario, hay cambios en la expresión genética que permite la sustitución de la Hb Fetal ( $\alpha_2\gamma_2$ ) por

la adulta. La producción de HbA y HbA2 comienza a sintetizarse en cantidades significativas pocas semanas antes del nacimiento, y aumenta gradualmente después del parto como parte del cambio del tipo de Hb, de forma en que los primeros seis meses de vida tiene lugar un cambio completo de HbF a HbA, por lo que se recomienda solicitar estudios de elec-troforesis de Hb una vez superado este período.

Las hemoglobinopatías son alteraciones cualitativas o cuantitativas de la globina secundarias a mutaciones genéticas, cuya consecuencia puede ser una modificación estructural (hemoglobinopatías estructurales) o una disminución de la síntesis de una cadena globina estructuralmente normal (talasemias). Estas Hb anormales, se caracterizan por un cambio de aminoácido en la cadena de  $\alpha$  o  $\beta$ -globina, por mutaciones puntuales y raramente, deleciones o inserciones en los genes de  $\alpha$  o  $\beta$ -globina. Hasta el 2014 según la base de datos Globin Gene Server fueron descritas 1198 variantes de Hb, la mayoría no presentan síntomas clínicos ni cambios hematológicos. Algunas pueden evidenciar fenotipo talasémico (HbE, Hb Lepore), deficiencia en la función de transporte de oxígeno (Hb Ohio), hemólisis por tratarse de Hb inestables (Hb Koln, Hb Leiden). Y otras como Hb New York, HbD-Punjad, pueden asociarse a HbS, HbC o talasemias y presentar manifestaciones clínicas más o menos severas.

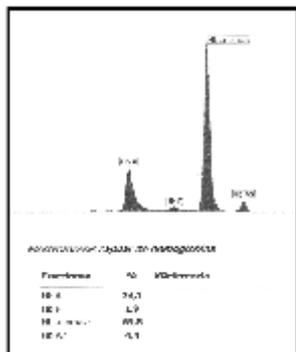
Las hemoglobinopatías más frecuentes y clínicamente significativas son HbS ( $\beta_6$  (A3) Glu→Val, GAG>GTG), HbC ( $\beta_6$  (A3) Glu→Lys, GAG>AAG), HbE ( $\beta_{26}$  (B8) Glu→Lys, GAG>AAG), presentando distintas manifestaciones según se encuentren en estado homocigota o heterocigota que incluyen distinta severidad de anemia hemolítica, cianosis, oclusión vascular, ictericia, dolor abdominal y articular entre otras. (Figura 1, 2, 3)

### Gammapatías Monoclonales

Las gammapatías monoclonales constituyen un grupo de patologías caracterizadas por la proliferación benigna o maligna de un clon de células plasmáticas, que producen una proteína homogénea denominada componente monoclonal (CM). El Mieloma Múltiple (MM) es la segunda neoplasia hematológica en orden de frecuencia. Es una enfermedad caracterizada por la proliferación clonal de células plasmáticas con capacidad para producir una paraproteína monoclonal y causar alteraciones clínicas en forma de anemia, insuficiencia renal, hipercalcemia o lesiones óseas.

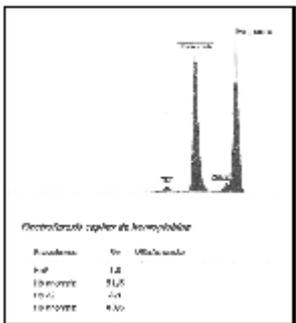


Figura 1



**Caso 1.**  
 Paciente femenina, 72 años, con quejas para debilidad y pérdida de peso. Antecedente de Absor. gastrointestinal de 18 meses y diagnóstico de anemia por 12 meses de 2019. Hormona tiroidea normal, pruebas para anemia de origen crónico.  
 El estudio solicita "Estudio PROTEOMINA (200 IC A) (Hemograma) (mg) resultado "Hemograma normal" (Normalidad). Entre los genes mutados asociados al incremento del riesgo de hemoblastosis se encuentra la mutación G2031GA del gen de la proto-oncogeno. Se solicita "Electroforesis de Hb". Resultado: Se observa HbS. La HbS altera la forma del eritrocito en las crisis hemolíticas, provocando anemia severa y crisis hemolíticas.  
 El estudio para la detección de la proteína debe ser realizado por el método de inmunoquímica todas las exploraciones para dar una etiología precisa cuando la hematología especial o un hematólogo y un laboratorio que controle prácticas de manejo y de confiabilidad.

Figura 2

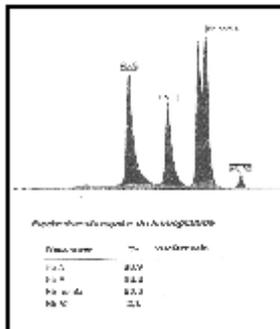


**Caso 2.**  
 Paciente masculino, edad avanzada, origen lituano. Antecedente de:  
 Hematología: Crisis de angina, angina frontal. Cardiología: HTA.  
 Hematología: Anemia de origen crónico. Neurología: Síndrome de Guillain-Barré.  
 Estudios de laboratorio: Hemograma 36%, eritrocitos 4,2 millones/mm<sup>3</sup>, Hb 11,5 g/dl, Hct 32,5%, HbA1c 5,6%, Diferencial leucocitario: 0,05, 54,1, 48,6, TGP, 25, TGO, 8,1, Creatinina 0,4; Ferritina 24,0 (referencia 200).  
 El estudio solicita "Electroforesis de Hb". Resultado: Se observan dos tipos de Hb, un 52,5% de Hb A y un 47,5% de Hb S (con electrolisis normal).  
 En este caso es el cardiólogo quien recibe antecedentes de anemia tal vez por el método de inmunoquímica y se realiza un estudio de la hemoglobina que muestra, además de Hb A y Hb S, la presencia de Hb F y Hb A<sub>2</sub>.

(Figura 4)

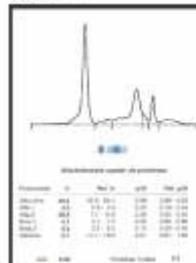


Figura 3

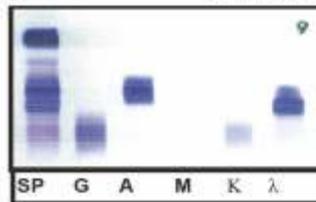


**Caso 3.**  
 Paciente femenina con diagnóstico de carcinoma de células escamosas Hiperplasia Cervix. Paciente con antecedentes de:  
 Ginecología: Cervicitis. Endo: Tabaco. Hb: 11,5. De: 36%. (Anemia) - HbS. Se solicita "Electroforesis de Hb". Resultado: Hb A: 20,0; Hb S: 79,0. Se observa anemia crónica por el tipo de Hb S. Se solicita "Electroforesis de Hb". Resultado: Se observa Hb S. La HbS altera la forma del eritrocito en las crisis hemolíticas, provocando anemia severa y crisis hemolíticas.  
 El estudio para la detección de la proteína debe ser realizado por el método de inmunoquímica todas las exploraciones para dar una etiología precisa cuando la hematología especial o un hematólogo y un laboratorio que controle prácticas de manejo y de confiabilidad.

Figura 4



**Caso 4.**  
 Paciente adulto al que se le solicita Proteínograma electroforético. No se conoce diagnóstico presuntivo. Se observa la presencia de dos Bandas Homogéneas (BH) una de movilidad Alfa 2 y otra con movilidad Beta 1 y discreta hipogammaglobulinemia. Se sugiere su estudio por inmunofijación, y se realiza la misma observándose BH que reacciona con anti IgA y BH con anti Lambda de movilidades distintas. Se trata de un hallazgo del laboratorio. Se solicita nueva muestra para proseguir y confirmar los estudios (tratar el suero con ZME para ver si la Ig A está o no polimerizada). No se recibió respuesta. La IF la realizamos sin estar solicitada para poder realizar un informe correcto del proteínograma electroforético.



Clasificación de Gammopatías Monoclonales según International Myeloma Working Group:

El MM puede ser asintomático por lo que debe diferenciarse de la Gammopatía Monoclonal de Significado Indeterminado (MGUS). Esta última condición es bastante más frecuente que el MM, con una prevalencia estimada de 3-5% de las personas mayores de 70 años. La MGUS se caracteriza por la presencia de una proteína monoclonal < 3 g/dl y una plasmocitosis en la médula ósea menor del 10%. El MM asintomático o indolente que constituye el 15% de los nuevos casos de MM, tiene una proteína monoclonal >3 g/dl y una plasmocitosis en la médula ósea >10 %, pero en ambos casos con ausencia de anemia, hipercalcemia, lesiones líticas óseas e insuficiencia renal secundaria.



## RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANA FETAL (RPMF)

rueba AMNISURE: Confiable, rápida y no invasiva

- Método **INMUNO CROMATOGRÁFICO** basado en **ANTICUERPOS MONOCLONALES**
- Detecta el **MARCADOR EXCLUSIVO DE LÍQUIDO AMNIÓTICO PAMG-1**
- Alta **SENSIBILIDAD (99%)** y **ESPECIFICIDAD (98%)** para el diagnóstico positivo o negativo de RPMF
- Prueba **SIMPLE** de hisopado vaginal
- Es un test **RÁPIDO**, que proporciona resultados en 5 a 10 minutos
- Mínimamente invasivo, **NO REQUIERE USO DE ESPÉCULO**, reactivos adicionales, ni otros equipos



AmniSure®



ISO 9001:2008  
 Management  
 System  
 www.tuv.com  
 ID: 9105021490

Estomba 964 | C1427COV CABA  
 Buenos Aires | Argentina  
 Tel: 54 11 4859 5300  
 info@tecnolab.com.ar

www.tecnolab.com.ar

Gammapatía monoclonal de significado indeterminado (MGUS): Estas gammapatías se diagnostican habitualmente en pacientes asintomáticos, como hallazgos en el proteinograma de una “banda monoclonal”

Mieloma múltiple:

- 1– Mieloma Asintomático, indolente o smoldering (SMM).
- 2– Mieloma Múltiple Sintomático.
- 3– Mieloma Múltiple No Secretor.
- 4– Plasmocitoma Solitario (de los huesos).\*
- 5– Plasmocitoma Extramedular.\*
- 6– Plasmocitoma solitario múltiple\*.
- 7– Leucemia a células plasmáticas\*

\*Formas atípicas.

Macroglobulinemia de Waldenström: caracterizado por una proliferación monoclonal de linfocitos B que infiltran médula y órganos linfoides, con capacidad de sintetizar y segregar cantidades elevadas de inmunoglobulina M monoclonal. (Infiltración linfoplasmocitaria)

Enfermedades de las cadenas pesadas: síndromes linfoproliferativos en los que una población linfocítica B tiene capacidad de liberar al suero cantidades elevadas de inmunoglobulinas incompletas que tan sólo contienen la cadena pesada.

Amiloidosis primaria: Sustancia Amiloide se deposita en los tejidos en cantidades suficientes como para deteriorar la función normal del órgano afectado.

En uno de los casos clínicos presentados se podrá observar la progresión de un SMM a MM por estudios de laboratorio bioquímico, que la cuantificación de cadenas livianas libres en suero no sustituye al uroproteinograma ni a la IF de orina; este es un dato a tener en cuenta cuando se realiza la evaluación del estadio del paciente mielomatoso. (Figura 5a, 5b)

La determinación de Cadenas Livianas Libres (CLLs) en suero contribuyeron a mejorar el diagnóstico, monitoreo y pronóstico en determinados tipos de MM, especialmente en el MM no secretor u oligosecretor, en la Amiloidosis y en el seguimiento de las MGUS (enfermedad pre-mielomatosa) considerando que la importancia de seguir esta patología en el tiempo ya que puede evolucionar a un MM.

Los valores de las CLLs y la relación que se obtienen son de un valor inestimable, tal como se menciona en el párrafo anterior, pero no siempre definen el diagnóstico.

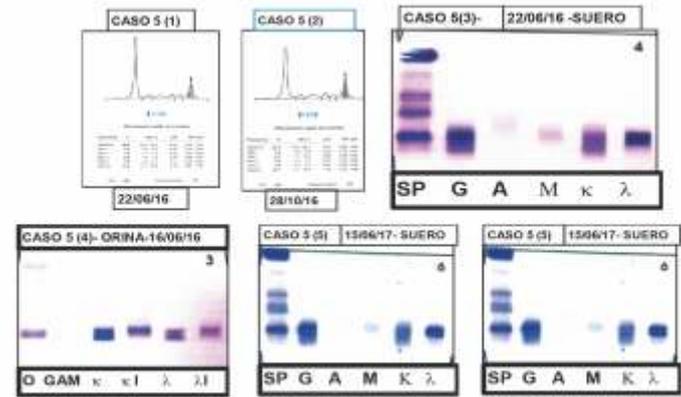
### Bandas Oligoclonales

El estudio de bandas oligoclonales (BO) se solicita ante la sospecha de una enfermedad desmielinizante. El método de detección más sensible y recomendado en la actualidad, es el isolectroenfoque (IEE) en gel de agarosa, que consiste en la separación de inmunoglobulinas IgG según sus puntos isoeléctricos, que se realiza de manera simultánea en líquido cefalorraquídeo (LCR) y en suero. Las bandas presentes se visualizan enfrentándolas a anticuerpos

específicos (anti-IgG), considerándose un resultado positivo cuando se observan 2 o más bandas oligoclonales en LCR.



Figura 5 (a)



Caso 5.- Monitoreo de un paciente con Mieloma Indolente. Estudios en suero y orina

Figura 5 (b)

**Caso 5.**  
 Paciente masculino de 69 años.- Solicitan:  
 16/06/2016  
 PE.- Se observa BH de movilidad gamma.  
 IF.- BH IgG-Lambda; IgA, IgM y Kappa oligoclonal.  
 Cadenas Livianas en orina: BH Kappa, BH Kappa Libre.- BH Lambda, BH Lambda Libre.  
 Cadenas pesadas en orina: No se observan.  
 15/06/2017  
 PE.- Persiste la Banda Homógena de movilidad gamma.  
 IF en suero: BH IgG.- BH Lambda.- IgA, IgM y Kappa polyclonal.  
 IF en orina.- CM Kappa.- BH Kappa Libre.- CM Lambda.- BH Lambda Libre.  
 Cuantificación de cadenas livianas libres en suero:  
 Kappa: 400 mg/l; Lambda: 161 mg/l; Relación k/l: 2.48  
 20/01/18.  
 PE, IF suero, IF orina se observa mismo resultado que control anterior. El paciente esta vez presenta anemia y cambia de médico tratante pero sigue con mismo laboratorio derivante. El diagnóstico presuntivo cambió de MM indolente hace 2 años a MM actualmente.  
 Podría tratarse de un mieloma (clonal): uno IgG-Lambda y un mieloma a cadenas livianas [o micromolecular].  
 Como laboratorio de derivación no siempre se puede hablar con el médico tratante para obtener más datos y/o sugerir otros estudios.

En condiciones normales la IgG presente en LCR proviene principalmente de la difusión pasiva desde el plasma. El aumento de la síntesis intratecal (SIT) de IgG evidencia una alteración inmunológica y un proceso inflamatorio en el SNC, que puede medirse de forma cuantitativa a través del índice IgG/Alb, o de forma cualitativa a través de la presencia de bandas oligoclonales.

Actualmente este estudio es el de mayor utilidad para el diagnóstico de Esclerosis Múltiple (EM) (Figura 6). No obstante, a pesar de la alta sensibilidad del método, las bandas oligoclonales no son específicas para detectar esta enfermedad, y se encuentran presentes en otras patologías inflamatorias o infecciosas como por ejemplo neuromielitis óptica, Síndrome de Guillain Barré, neurosarcoidosis, vasculitis del SNC, encefalitis virales, entre otras.

Para el análisis y evaluación de las bandas oligoclonales, existen 5 patrones estandarizados internacionalmente de IEE:

Tipo 1. Distribución policlonal en suero y LCR. No se observan bandas oligoclonales. (Normal)

Tipo 2. Presencia de bandas oligoclonales en LCR con ausencia en suero. (Síntesis intratecal de IgG).

Tipo 3. Presencia de mayor número de bandas en LCR que en suero. (Síntesis intratecal y sistémica).

# Dengue - Zika Chikungunya

**BIO-RAD**

## Dengue

- **Platelia Dengue NS1Ag**  
ELISA x 96 tests
- **Dengue NS1Ag strip**  
Inmunocromatografía – Test Rápido x 25 tests
- **MultiSure** Dengue IgG, IgA, IgM y NS1Ag  
Inmunocromatografía – Test Rápido x 20 tests
- **Dengue IgG**  
ELISA x 96 tests
- **Dengue IgM**  
ELISA x 96 tests
- **Dengue IgM captura**  
ELISA x 96 tests



## Zika

- **Zika IgM Captura**  
ELISA x 96 tests
- **DPP Zika IgM /IgG**  
Inmunocromatografía – Test Rápido x 25 tests



## Chikungunya

- **Chikungunya IgG**  
ELISA x 96 tests
- **Chikungunya IgM Captura**  
ELISA x 96 tests



Tipo 4. Similar patrón de bandas oligoclonales en LCR y suero. Inflamación sistémica.

Tipo 5. Banda monoclonal en LCR y suero.

En el caso que presentamos el patrón de bandas oligoclonales observado es tipo 5, que es poco frecuente de encontrar ya que es compatible a una Gammopatía Monoclonal, y para el diagnóstico o sospecha de las mismas no es común se solicite estudio de bandas oligoclonales. Debido a esto se decide realizar una inmunofijación al suero, confirmando nuestra sospecha al observar un componente monoclonal IgG-kappa. (Figura 7)



Figura 6

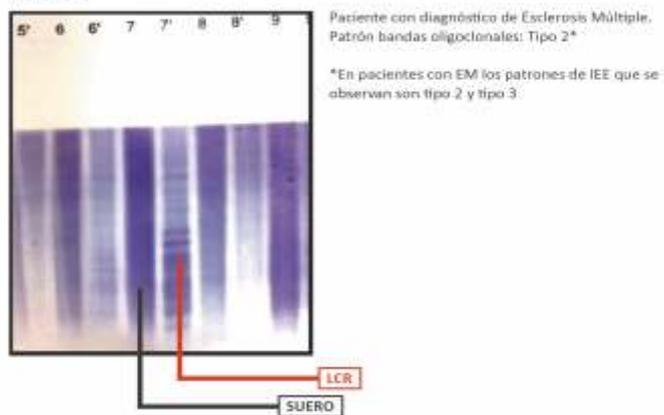
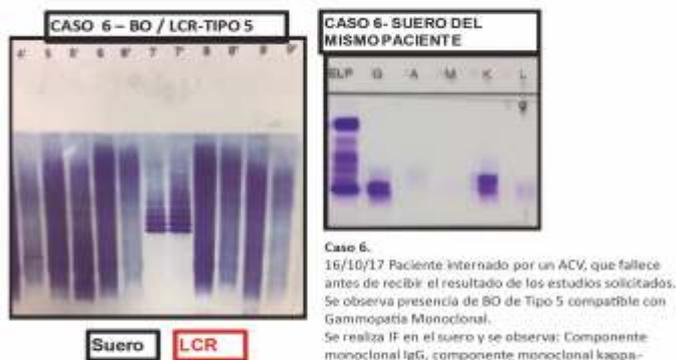


Figura 7



**MANLAB**<sup>®</sup>

Diagnóstico Bioquímico y Genómico

## Bibliografía

- 1.-  $\beta$ -Thalassemia Distribution in the Old World: an Ancient Disease Seen from a Historical Standpoint.- Vincenzo De Sanctis, Christos Kattamis, Duran Canatan, Ashraf T. Soliman, Heba Elsedfy, Mehran Karimi, Shahina Daar, Yasser Wali, Mohamed Yassin, Nada Soliman, Praveen Sobti, Soad Al Jaouni, Mohamed El Kholy, Bernadette Fiscina and Michael Angastiniotis.-www.mjhd.org.- Mediterr J Hematol Infect Dis 2017; 9; 2017018
- 2.- Detection of Compound Heterozygous of Hb Constant Spring and Hb Q-Thailand by Capillary Electrophoresis and High Performance Liquid Chromatography.- Sakorn Pornprasert , Manoo Punyamung.- Indian J Hematol Blood Transfus (Apr-June 2015) 31(2):229-232
- 3.- Detection of Co-inheritance of Hb Hope and Hb Constant Spring in Three Thai Samples by Capillary Electrophoresis.- Sithichai Panyasai, Sakorn Pornprasert.- Published online: 14 September 2015.- Indian Society of Haematology & Transfusion Medicine 2015
- 4.- Hemoglobin D-Punjab: origin, distribution and laboratory diagnosis Lidiane de Souza Torres, Jéssica Viviani Okumura, Danilo Grünig Humberto da Silva, Claudia Regina Bonini-Domingos Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brazil.- Journal of Medical Genetics, 1980, 17, 183-186
- 5.- Haemoglobin K Woolwich: a study of the family of a homozygote R CABANNES, P AMEGNIZIN, A SANGARE, D ARNE, R CASEY, AND H LEHMANN.- Global Journal of Health Science; Vol. 8, No. 3; 2016
- 6.- Hydroxyurea: Clinical and Hematological Effects in Patients With Sickle Cell Anemia.- Bijan Keikhaei, Homayon Yousefi & Mohammad Bahadoram.- Global Journal of Health Science; Vol. 8, No. 3; 2016
- 7.- The Hemoglobin E Thalassemias.- Suthat Fucharoen and David J. Weatherall Copyright # 2012 Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cite this article as Cold Spring Harb Perspect Med 2012;2:a011734
- 8.- Hemoglobinopathies: A Longitudinal Study Over Four Decades.- Elisabeth Kohne, Enno Kleihauer Kleihauer Deutsches Ärzteblatt International | Dtsch Arztebl Int 2010; 107(5): 65-71
- 9.- <http://www.aefa.es/wp-content/uploads/2014/04/Utilidad-cl%C3%A9nica-de-las-bandas-oligoclonales.pdf>-
- 10.- [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572015000200009](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572015000200009)
- 11.- [http://portal.sctf.com/wp-content/uploads/2017/09/Hemoglobinopat%C3%ADas\\_y\\_Talasemias.pdf](http://portal.sctf.com/wp-content/uploads/2017/09/Hemoglobinopat%C3%ADas_y_Talasemias.pdf)
- 12.- Updated Diagnostic Criteria and Staging System for Multiple Myeloma.- S. Vincent Rajkumar, MD | 2016 Educational Book | Meeting Library
- 13.- Serum free light chains in clinical laboratory diagnostics.- Ellen Jenner UK Clinica Chimica Acta 427 (2014) 15-20
- 14.- International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma.- S Vincent Rajkumar, Meletios A Dimopoulos, Antonio Palumbo, Joan Blade, Giampaolo Merlini, María-Victoria Mateos, Shaji Kumar, Jens Hillengass, Efstathios Kastritis, Paul Richardson, Ola Landgren, Bruno Paiva, Angela Dispenzieri, Brendan Weiss, Xavier LeLeu, Sonja Zweegman, Sagar Lonial, Laura Rosinol, Elena Zamagni, Sundar Jagannath, Orhan Sezer, Sigurdur Y Kristinsson, Jo Caers, Saad Z Usmani, Juan José Lahuerta, Hans Erik Johnsen, Meral Beksac, Michele Cavo, Hartmut Goldschmidt, Evangelos Terpos, Robert A Kyle, Kenneth C Anderson, Brian G M Durie, Jesus F San Miguel.- www.thelancet.com/oncology Vol 15 November 2014.
- 15.- Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis.-A Consensus Statement Mark S. Freedman, MSc, MD, FRCP; Edward J. Thompson, DSc; Florian Deisenhammer, MD; Gavin Giovannoni, PhD; Guy Grimsley, PhD; Geoffrey Keir, PhD; Sten Öhman, PhD; Michael K. Racke, MD; Mohammad Sharief, PhD; Christian J. M. Sindic, MD, PhD; Finn Sellebjerg, MD, PhD, DMSci; Wallace W. Tourtellotte, MD, PhD.- ARCH NEUROL/VOL 62, JUNE 2005 WWW.ARCHNEUROL.COM ©2005 American Medical Association.

