

INSTITUTO DE ONCOLOGIA, RADIOBIOLOGIA V MEDICINA NUCLEAR

Determinación de las proteínas de Bence Jones en 2469 pacientes (I)

Por:

Lic. EMILIO GRUEIRO AZCANO, Dra. SUSANA ESQUENAZI MITRANI,
Téc. GELAYS ECHEVARRIA MADEN y Téc. VLADIMIR GRUEIRO YEN

Grueiro Azcano, E. y otros. *Determinación de las proteínas de Bence Jones en 2 469 pacientes (I)*. Rev Cub Med 22: 6, 1983.

Se efectuó un estudio de la excreción por la orina de las proteínas de Bence Jones en 2469 pacientes, utilizando la doble inmunodifusión *Ochterlony*¹ con el objetivo de esclarecer su frecuencia en enfermedades de tumores malignos, en diversas enfermedades entre las que se incluyen las nefropatías primarias, así como establecer, en los casos con PBJ que la excretan la frecuencia con que se asocia a orinas patológicas. Se obtuvieron resultados interesantes como: 21,0% en pacientes con tumores malignos "activos", ingresados en el Instituto de Oncología y Radiobiología, más del 30% de los casos con PBJ presentaban, en el momento de su excreción, orinas patológicas. Esto induce a tomar el criterio de que la PBJ excretada por la orina debe tomarse en cuenta y detectar su presencia con la técnica descrita. En los casos positivos, se debe cuantificar y controlar su excreción. Es posible atribuirle alguna relación con procesos de tumores malignos. Se estudiaron 2 469 casos.

INTRODUCCION

El descubrimiento de una sustancia peculiar, en la orina de un paciente con *Mollities ossium* fue realizado en 1846 por *Sir Henry Bence Jones*² el principal patólogo clínico de Londres de la época. El hace una descripción de sus hallazgos, con la conclusión de que la orina contenía una sustancia que le daba un precipitado directo con el ácido nítrico. El precipitado sólo aparecía si se dejaba en reposo o si se calentaba y dejaba enfriar. El recalentamiento disolvía el precipitado que reaparecía al enfriarse.

El haber encontrado que la PBJ es idéntica a la de las cadenas ligeras de la molécula de inmunoglobulinas ha permitido un conocimiento más amplio sobre la enfermedad (patogénesis) de la formación de esa proteína. La inmunoglobulina IG³ ha sido amplia y profundamente estudiada y se conoce desde su estructura hasta su fisiología. Las investigaciones inmunoquímicas han permitido el descubrimiento de dos tipos antigénicos de cadenas ligeras: Kappa y Lambda.³⁻⁵

El hecho de ser excretadas por la orina constituye de por sí una anomalía cuyo origen debemos buscarlo en las células plasmáticas encargadas de sintetizarla y que por consiguiente no lo hacen correctamente, produciendo los genes correspondientes un exceso de éstas y al NO formar parte de las gammaglobulinas pasan al torrente circulatorio y son excretadas por la orina. En muchos casos la excreción de cadenas ligeras está asociada con una gammapatía monoclonal, la cual puede ser reconocida por un pico de base estrecha, en la zona de las gammaglobulinas, al hacerse una electroforesis de las proteínas del suero humano.

Las formas asintomáticas de gammapatía monoclonal son reconocidas con una frecuencia cada vez mayor. Su reconocimiento y diferenciación de la gammapatía monoclonal sintomática son imperativos. En el laboratorio se debe seguir ésta, identificándola y monitoreándola con la proteína de Bence Jones en orina, con el pico M de proteínas en el suero y con el nivel de hemoglobina.⁶

En los casos de gammapatía monoclonal asintomática, un pico monoclonal está ausente en la electroforesis, debido a que la síntesis de las inmunoglobulinas producidas por las células plasmáticas neoplásicas presentan como única alteración, la de producir un exceso de cadenas ligeras (PBJ), y que, por su bajo peso molecular, estas proteínas pasan a través de los glomérulos y son excretadas por la orina. Se pone de relieve que la eliminación de la PBJ guarda relación con el depósito de amiloide y con la insuficiencia renal.

El trastorno renal es de grado variable, pero casi siempre obligado. El término "riñón de mieloma" se refiere a la precipitación de PBJ en los túbulos, que los obstruye, los dilata y finalmente causa uremia. Poseen mal pronóstico los mielomas en los cuales se eliminan grandes cantidades de PBJ con una frecuencia elevada de amiloidosis y trastorno renal.⁷

Se observa con mayor frecuencia que las paraproteínas producen síntomas en pacientes con enfermedades de células plasmáticas. Esto puede deberse: a su cantidad en la circulación, a alguna propiedad fisicoquímica desconocida o a su efecto biológico, como resultado de la integración con otras proteínas del suero o los tejidos. Las paraproteínas son las que elevan las afecciones circulatorias de coagulación y las nefropatías.⁸

Picos monoclonales. Son detectables por electroforesis en el 98% de los pacientes con mieloma múltiple, pero solamente en el 5% de pacientes con linfomas difusos.

Técnicas de inmunofluorescencia demostraron que la producción de proteínas monoclonales es virtualmente evidente en todos los pacientes con estos desórdenes.⁰

La excreción de más de 50 mg/l indica de forma casi segura la posibilidad de un mieloma.¹⁰

En muchos informes de estudios de la excreción de proteína de Bence Jones por la orina se informa que un solo tipo antigénico es excretado.^{10,12}

Durante un período de 40 meses se observó la evolución de 35 pacientes con enfermedades de las células plasmáticas, cuya única alteración observable fue la excreción de proteínas de Bence Jones por la orina. En dicho período se comprobó que el 25,7% evolucionó a mieloma, el 17,5% a enfermedades de células plasmáticas y en un 7% de los pacientes fue identificada la amiloidosis.¹¹

El doctor *Hallen*, quien ha seguido los pacientes con componentes M benignos en el suero durante muchos años, cree que la presencia de PBJ nos llevará a sospechar de forma muy firme la existencia de un proceso maligno.¹²

MATERIAL Y METODO

Las muestras de orina sumaron 2 469 y su composición fue: 540 pacientes ambulatorios y 447 pacientes ingresados en el IOR; 1 137 pacientes ambulatorios e ingresados en el hospital general docente "Comandante Manuel Fajardo"; 244 pacientes ingresados y ambulatorios del Instituto de Nefrología y 101 trabajadores de una empresa de servicios, la lavandería "La Cubana".

Los pacientes del IOR e Instituto de Nefrología son de edades diferentes.

Los pacientes del hospital general docente "Comandante Manuel Fajardo" y la lavandería "La Cubana", son mayores de 15 años.

Todos los casos estudiados eran de ambos sexos.

Reactivos

ID AGAR para inmunoelectroforesis reactivo OXOID.

Amido Black B-10 para cromatografía Cario Erba.

Antisuero monoespecífico Anti PBJ-K (SEVAC).

Antisuero monoespecífico Anti PBJ- (SEVAC).

Antisuero monoespecífico Anti IgG (Wellcome).

Se utilizó la técnica de doble inmunodifusión (*Ochterlony*) modificada con el amortiguador de fosfato, pH-7.¹³ Las orinas fueron estudiadas dentro de las 12 horas de recogida la muestra y no se concentraron.

Las placas se hicieron con gel al 1,3% y un grosor de 1-2 mm. A estas placas se les abren orificios en el gel con un sacabocado.

Se utiliza como solución colorante: 60 ml de metanol, 33 ml de agua, 7 ml de ácido acético glacial y 0,5 g de Amido Black, y como solución decolorante, ácido acético al 3%.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro I se muestra un estudio de 540 pacientes ambulatorios del IOR a los cuales se les investigó la presencia en la orina de la inmunoglobulina gamma G y las cadenas ligeras Kappa y Lambda (PBJ); nótese que el 24,7% de los pacientes que excretaron por la orina, alguna o algunas de las proteínas investioadas (las positivas), excretaron la gamma G, mientras que en el grupo de Dacientes ingresados en el IOR, 447 (cuadro II), a los cuales se les realizó un estudio similar, el 36,1% excretó la gamma G, lo cual puede ser indicativo de un mayor daño renal. En ambos grupos la frecuencia de la excreción por la orina de la PBJ tipo Lambda fue baja con el 5,4 y 7,4% de los positivos.

El cuadro III muestra la frecuencia de las PBJ y la gamma G excretada por la orina de 1 137 pacientes del hospital general docente "Comandante Manuel Fajardo" que fueron investigados; nótese que el 43,3% de los positivos (104 pacientes) excretó la gamma G, esto es más alto que lo encontrado en los pacientes ambulatorios e ingresados del IOR.

CUADRO I
PBJ EXCRETADA POR LA ORINA. PACIENTES AMBULATORIOS. INOR
 (De 540 pacientes, 93 excretaban PBJ y γ G, el 17,2%)

Tipos antigénicos	Positivos*	%
K	33	35,5
λ	5	5,4
K λ	32	34,4
γ G	9	8,8
K γ G	7	7,5
λ γ G	1	1,1
K λ γ G	6	6,4
	93	

* Excretaban γ G 23 de 93 positivos, para el 24,7%.
 Excretaban PBJ 70 de 93 positivos, para el 75,3%.

CUADRO II

PBJ EXCRETADA POR LA ORINA. PACIENTES INGRESADOS EN EL INOR
(De 447 pacientes, 94 excretaban PBJ y γ G, el 21,0%)

Tipos antigénicos	Positivos*	%
K	24	25,5
λ	7	7,4
K λ	29	30,8
γ G	17	18,0
K γ G	5	5,3
K γ G λ	12	12,8
	<u>94</u>	

* Excretaban γ G 34 de 94 positivos, para el 36,1%.

Excretaban PBJ de 94 positivos, para el 63,9%.

CUADRO III

PBJ EXCRETADA POR LA ORINA. PACIENTES DEL HOSPITAL "M. FAJARDO"
(De 1 137 pacientes, 104 excretaban PBJ y γ G, el 9,1%)

Tipos antigénicos	Positivos*	%
K	24	23,1
λ	13	12,5
K λ	28	26,9
γ G	20	19,2
K γ G	7	6,7
K γ G λ	12	11,5
	<u>104</u>	

* Excretaban γ G 39 de 104 positivos, para el 43,3%.

Excretaban PBJ 65 de 104 positivos, para el 56,7%.

Se puede atribuir a que en los pacientes de un hospital general como el "Comandante Manuel Fajardo" debe haber una frecuencia mayor de pacientes con afecciones renales que en el IOR.

El cuadro IV muestra un estudio de 244 pacientes del Instituto de Nefrología, nótese que 20 de 50 que excretaban las proteínas estudiadas (los positivos) excretaban gamma G, el 40%, esto pudiera indicarnos el daño renal.

El cuadro V muestra los resultados al investigar la presencia de los PBJ y la gamma G en la orina de 101 trabajadores de la lavandería "La Cubana". En cinco de éstos 101, se encontró la presencia de PBJ en el momento de la investigación. Estos pacientes no presentaban síntomas de afección renal. Dos de ellos son pacientes inscritos en el IOR y los otros tres trabajadores habían sido objeto de tratamiento por distintas causas.

El cuadro VI muestra la frecuencia de la presencia de la PBJ y la gamma G en los grupos de pacientes y "sanos" estudiados. Nótese que el 4,7% del total excretó la gamma G, y el 9,3% del total excretó la PBJ. El tiempo y el costo empleado en este trabajo se justifica por los resultados obtenidos, ya que se demuestra que esta prueba de laboratorio puede efectuarse con una técnica distinta a la usual, que es más sencilla y exacta.

Esta prueba de laboratorio se efectuó en un estudio de pesquisaje y sus resultados permiten clasificar a un grupo de pacientes que presentan enfermedades, complicaciones,

CUADRO IV
PBJ EXCRETADA POR LA ORINA. PACIENTES DEL INSTITUTO DE NEFROLOGIA
 (De 244 pacientes, 50 excretaban PBJ y γ G, el 20,5%)

Tipos antigénicos	Positivos*	%
K	4	8
λ	6	12
K λ	20	40
γ G	12	24
K γ G	3	6
K λ γ G	5	10
	50	

* Excretaban γ G 20 de 50 positivos, para el 40%.
 Excretaban PBJ 30 de 50 positivos, para el 60%.

CUADRO V

PBJ EXCRETADA POR LA ORINA. TRABAJADORES DE LA LAVANDERIA "LA CUBANA"
(De 101 trabajadores, 5 excretaban PBJ, el 5%)

Tipos antigénicos	Positivos	%
K	2	40
λ	0	0
K λ	3	60

CUADRO VI

FRECUENCIA DE LA EXCRECION DE LA PBJ

Lugar	No. de pacientes	Positivos	%	γ G*	%	PBJ**	%
Pacientes ambulatorios INOR	540	93	17,2	23	24,7	70	75,3
Pacientes ingresados INOR	447	94	21,0	34	36,1	60	63,5
Pacientes del hospital "M. Fajardo"	1 137	104	9,1	39	43,3	65	56,7
Pacientes del Instituto de Nefrología	224	50	20,5	20	40,0	30	60,0
Trabajadores de la lavandería "La Cubana"	101	5	5,0	—	—	5	100,0
	2 469	346	14,0	116	33,5	230	66,5

* Excretaban γ G de 2 469 - 116, para el 4,7%.

** Excretaban PBJ de 2 469 - 230, para el 9,3%.

o ambas que esta prueba de laboratorio ayudaría a evaluar. Esto se discute en el trabajo II, "Determinación de las proteínas de Bence Jones en 447 pacientes ingresados en el IOR por la técnica Ochterlony".

CUADRO VII		
FRECUENCIA DE TIPOS ANTIGENICOS		
Tipos antigénicos	Positivos*	%
K	87	25,1
λ	31	8,9
Kλ	112	32,4
γG	58	16,8
KγG	22	6,4
λγG	1	0,3
KγGλ	35	10,1
	346	

* Excretaban γG 116 de 346 positivos, para el 33,5%.
Excretaban PBJ 230 de 346 positivos, para el 66,5%.

Obsérvese el cuadro VII en el que se muestra la frecuencia de las proteínas investigadas en el total de pacientes y "sanos" que fueron objeto de estudio y resultaron "positivos". El 33,5% de éstos excretaron la molécula de gamma G, el 32,4% excretaron las PBJ (Kappa + Lambda) y el 25,1% excretó la PBJ del tipo Kappa. Estos resultados es necesario interpretarlos a partir de una evaluación del paciente, que excretaba cada tipo de proteína lo cual debe ser motivo de un trabajo con el médico asistencial. Sería conveniente evolucionar los pacientes positivos cualificando estas proteínas en la orina.

Con la técnica utilizada y los reactivos de producción nacional, el costo es menor de un centavo por paciente. Un técnico puede efectuar más de 500 determinaciones cada día.

SUMMARY

Grueiro Azcano, E. et al. *Determination of Bence Jones proteins in 2 469 patients (D- Rev Cub Med 22: 6, 1983.*

A study of urinary excretion of Bence Jones proteins in 2 469 patients, using double Immunodiffusion Ochterlony was carried out with the object of elucidate their frequency in malignant tumor disease, in several diseases where primary nephropathies are included, as well as to establish, in cases with Bence Jones proteins excreting them, frequency of their association to pathologic urines. Interesting results were obtained, such as: 21,0% in patients with "active" malignant tumors hospitalized at the Institute of Oncology and Radiobiology. More than 30% of the cases presented pathologic urines at the time of their excretion. This fact induces to undertake the criterium that Bence Jones proteins excreted by urine must be taken into consideration and their occurrence must be detected by means of the technique described. In positive cases, excretion must be quantified and controlled. It is possible to establish some relation to malignant tumors. The study comprised 2 469 cases.

RÉSUMÉ

Grueiro Azcano, E. et al. *Dosage des protéines de Bence Jones chez 2 469 patients (I)*. Rev Cub Med 22: 6, 1983.

Il a été réalisé une étude de l'excrétion urinaire des protéines de Bence Jones chez 2 469 patients, au moyen de l'emploi de l'immunodiffusion double Ochterlony*, afin d'éclaircir sa fréquence dans les maladies de tumeurs malignes, en diverses maladies, dont les néphropathies primaires, ainsi que pour établir, dans les cas avec PBJ qui l'excrètent, la fréquence d'association à des urines pathologiques. Les résultats obtenus ont été intéressants: 21,0% chez des patients porteurs de tumeurs malignes "actives", hospitalisés à l'institut d'Oncologie et de Radiobiologie: plus de 30% des cas avec PBJ présentaient, au moment de l'excrétion, des urines pathologiques. Ceci nous conduit au critère que la PBJ excrétée par l'urine doit être prise en considération et qu'on doit détecter sa présence au moyen de la technique décrite. Dans les cas positifs, il faut quantifier et contrôler son excrétion. Il est possible qu'il existe un certain rapport avec les processus de tumeurs malignes. Au total, on a étudié 2 469 cas.

BIBLIOGRAFIA

1. *Ochterlony, O.*: Antigen-Antibody Reaction in Gels. Acta Pathol Microbiol Scand 26: 507-515, 1949.
2. *Bence Jones, H.*: Papers on chemical pathology, prefaced by the gulstonian lectures read at the Royal College of Physicians. 1846. Lancet 5: 254-257, 1847.
3. *Putnam, E. W.*: In: The Proteins, II Neurath. Vol. 3. New York, Academic Press, 1965.
4. *Edelman, G. M.; J. Agally*: The nature of B. J. proteins, chemical similarities to polypeptides of myeloma globulins and normal gammaglobulins. J Esp Mell 116: 207, 1962.
5. *Putnam, F. W.*: Immunoglobulin structure variability and homology science. 163: 633, 1969.
6. *Stephan, E. M. D.; D. L. Fitzman*: Idiopathic (Asymptomatic) monoclonal gammopathies. Arch Intern Med 135: 95-106, 1975.
7. *Flosen, B. J.*: Mieloma multiple. Revisión Clínica. Clin Med de Norteam: 375-386, marzo 1976.
8. *Osterland, C. K.; L. Ft. Espinosa*: Biological properties of myeloma proteins. Arch. Intern. Med. 135: 32-39, 1975.
9. *Alexanin, Fl.*: Monoclonal Gammopathy in Lymphome. Arch Inter Med 135: 62-66, 1975.
10. *Waldenstrom, J.*: Diagnóstico diferencial de la gammapatía monoclonal benigna. En su: Mieloma múltiple. Diagnóstico y tratamiento. Capítulo X. Barcelona, Ed. Científico- Médica, 1973, Pp. 145-156.
11. *Marvin, J. S.; E. D. Frenkel*: The Clinical Spectrum of Light Chain myeloma. Am J Med 58: 600-619, 1975.
12. *Waldenstrom, J.*: Proteína de Bence Jones y cadenas ligeras de la molécula de gammaglobulina. En su: Mieloma múltiple. Diagnóstico y tratamiento. Capítulo VI. Barcelona, Ed. Científico-Médica, 1973, Pp. 101-111.
13. *Williams, C. A.; M. W. Chase (Eds.)*: Methods in immunology and immunochemistry. t. II, New York, Academic Press, 1969. P. 141.

Recibido: 21 de noviembre de 1982.

Aprobado: 24 de noviembre de 1982.

Lic. *Emilio Grueiro Azcano*

Instituto de Oncología y Radiobiología.

29 y D, Vedado.

Ciudad de La Habana.