

Utilidad del cociente entre las excreciones de proteínas específicas y la excreción de proteína para descartar una proteína de Bence Jones

E. Bergón Jiménez*, E. Miravalles González*, I. Miranda Nicolás*, M. Bergón Sendín**, J. Pastor Pérez*, E. Bergón Sendín***

Resumen

Se estudiaron las características diagnósticas básicas de los cocientes entre las excreciones de proteínas específicas y la excreción total de proteína para la detección de la proteinuria de Bence Jones. Se analizaron 2268 muestras de orina de 24 horas, 355 de ellas con una proteína de Bence Jones identificada mediante la técnica de inmunofijación con antisueros dirigidos contra las cadenas ligeras libres. La cuantificación de proteína se realizó con el procedimiento colorimétrico del rojo de pirogalol-molibdato y las proteínas específicas mediante nefelometría continua. La especificidad diagnóstica de esta alternativa para el cribado de la demanda de una proteína de Bence Jones fue muy baja, entre 0 y 0,78, dependiendo de las proteínas específicas utilizadas y del patrón de excreción proteico. La baja especificidad de esta alternativa no permite su aplicación en el cribado de la demanda, excepto en aquellas orinas que tengan un patrón tubular de excreción de proteínas y se utilice la suma de las excreciones de albúmina, α_1 -microglobulina e inmunoglobulina G con respecto a la excreción total de proteína (sensibilidad 0,94-0,96; especificidad 0,62-0,66).

Palabras clave: cribado, Bence Jones, cocientes proteicos, orina.

Introducción

La inmunofijación es el procedimiento de rutina más sensible y específico para la detección e identificación de la proteína de Bence Jones. No obstante, la laboriosidad, el coste del procedimiento y el moderado porcentaje de resultados positivos sobre la demanda aconsejan la utilización de procedimientos de cribado de las peticiones (1). Se han propuesto diversas alternativas con esta finalidad, como la electroforesis de orina (2,3), el cociente de cadenas ligeras en orina (1,4), la inmunofijación con un antisuero divalente o pentavalente (5,6) y el cociente entre las excreciones de proteínas específicas y la excreción total de proteína para la detección de proteinurias prerrenales (7-9), incorporada esta última alternativa en algunos algoritmos de interpretación de la proteinuria (9). Sin embargo, el grave inconveniente de esta alternativa es la utilización de la excreción total de proteína, ya que no existe ningún procedi-

Summary

We studied the performance characteristic of protein excretion ratios, albumin/total protein and (albumin + α_1 -microglobulin + immunoglobulin G)/total protein for Bence Jones protein screening. Two thousand two hundred sixty eight 24h urine samples, without gross hematuria, were analyzed, 355 urine samples were immunofixation positive for Bence Jones protein. Total protein was measured for pyrogallol red method and albumin, α_1 -microglobulin and immunoglobulin G by kinetic nephelometry. Diagnostic specificity of ratios for Bence Jones protein screening was low, 0-0.78, according to specific protein ratios used and proteinuria patterns. The low specificity of this strategy does not allow its use for Bence Jones protein screening, except in urine samples with a tubular pattern and using albumin plus α_1 -microglobulin plus immunoglobulin G to total protein ratio (sensitivity 0.94-0.96, specificity 0.62-0.66).

Key words: screening, Bence Jones, protein excretion ratios, urine.

miento conocido hasta la actualidad que permita medir con exactitud el total de proteína excretada en la orina (10,11). Se han utilizado distintos valores discriminantes para la detección de una proteinuria prerrenal dependiendo de las proteínas específicas utilizadas, 0,4 para el cociente albúmina/proteína (8) y 0,6 (8) ó 0,7 (9) para el cociente (albúmina+ α_1 -microglobulina+inmunoglobulina G/proteína).

El objetivo de este trabajo fue estudiar las características diagnósticas de los cocientes proteína específica/proteína en orina para desestimar una proteinuria de Bence Jones.

Material y métodos

Se analizaron 2 268 muestras de orina de 24 horas sin hematuria macroscópica, 355 de ellas con una proteína de Bence Jones. Las orinas se centrifugaron a 3 000 xg durante 10 minutos, cuantificándose las proteínas el mismo día de su recepción. La clasificación de la proteinuria se realizó según el protocolo utilizado en nuestro laboratorio (12). La proteinuria se clasificó como sobrecarga cuando la única excreción patológica era la de la proteína de Bence Jones.

*Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de Getafe. Madrid

**Departamento de Medicina Interna. Hospital Universitario «La Paz». Madrid

***Departamento de Pediatría. Hospital Universitario «12 de Octubre». Madrid

Recibido: 20-3-02

Aceptado: 22-8-02

Procedimientos de medida

Para determinar la concentración de proteína se utilizó el procedimiento colorimétrico del rojo de pirogalol-molibdato en el autoanalizador Integra 700 (TPU, ref 07-5723-3, Roche Diagnostic, Suiza) y para las proteínas individuales la nefelometría continua (Albumin, ref. 447690; α_1 -microglobulin, ref. 447690; Immunoglobulin G, ref. 447020, Beckman Instrumens, Brea, EE.UU.) en los analizadores nefelométricos Array 360 o Immage (Beckman Instrumens, Brea, EE.UU.). Los coeficientes de variación interdiaria fueron inferiores al 7,4% (tabla I).

Estudio de la proteína de Bence Jones

Se realizó el procedimiento de cribado utilizado habitualmente en este laboratorio (1). Brevemente, las orinas con un cociente κ/λ superior a 2,8 o inferior a 1 se concentraron conforme a la excreción de las cadenas ligeras, para proseguir con una inmunofijación. Ésta se realizó en gel de agarosa con antisueros dirigidos contra las inmunoglobulinas G, A y M y las cadenas ligeras kappa y lambda totales y *libres* (Hydragel Bence Jones, ref. 4033; Sebia, Issy-les-Moulineaux, Francia).

Estudio estadístico

Las características diagnósticas básicas de los cocientes se estudiaron mediante el programa informático Epi-Info v.5.01.

Resultados

Se analizaron las características diagnósticas globales, sin separación por patrones de excreción de proteínas, de los cocientes de proteínas, albúmina/proteína y (albúmina+ α_1 -microglobulina+inmunoglobulina G)/proteína, utilizando los valores discriminantes de 0,4 y 0,6 ó 0,7, respectivamente. La especificidad fue muy baja en todos los casos, 0,26 (I.C. 95% 0,24-0,28), 0,34 (I.C.95%, 0,32-0,36) y 0,27 (I.C. 0,25-0,29) respectivamente, restando valor a este procedimiento para el cribado de las solicitudes de estudio de una proteína de Bence Jones. Además, con esta estrategia de cribado, no se detectarían entre el 10 y el 13% de los especímenes con una proteína de Bence Jones (sensibilidad 0,88, 0,87 y 0,90, respectivamente).

Las características diagnósticas mejoraron cuando se estudiaron en los distintos patrones de excreción de proteínas pero no

Tabla I. Calidad metrológica de los procedimientos de medida de las proteínas en orina (coeficiente de variación interdiaria, n=20)

	\bar{x} (mg/L)	s (mg/L)	CV (%)
uri-Proteína	234,2	6,5	2,8
	731,7	16,1	2,2
uri-Albúmina	10,25	0,8	7,4
	30,7	0,8	2,7
uri- α_1 -Microglobulina	11,3	0,6	5,3
	48,9	1,5	3,0
uri- Inmunoglobulina G	13,6	0,5	3,7
	48,5	0,8	1,6

\bar{x} : media; s: desviación estándar; CV: coeficiente de variación

lo suficiente para permitir descartar una proteína de Bence Jones con una seguridad aceptable (tablas II, III, IV). Solamente el cociente entre la suma de las tres proteínas con respecto a la excreción total de proteína en las orinas con un patrón de excreción tubular, presentó un rendimiento aceptable para ser utilizado como alternativa para el cribado del estudio de la proteína de Bence Jones (sensibilidad 0,94-0,96; especificidad 0,62-0,66).

La cuantificación de la proteína en orina fue inferior a la suma de las excreciones de albúmina, α_1 -microglobulina e inmunoglobulina G en el 3,1% de las orinas con una proteína de Bence Jones.

Discusión

La incorporación en los analizadores automáticos de procedimientos inmunoquímicos para la medición de proteínas específicas en orina dio lugar a la aparición de algoritmos de estudio de la proteinuria (8,9,13,14), incluyendo la detección de una proteinuria prerrenal (8,9,13). Las proteínas procedentes del riñón y vías urinarias, principalmente la proteína de Tamm-Horsfall, representan menos del 40% de las proteínas excretadas en la orina, proviniendo el 60% restante de las proteínas plasmáticas filtradas en el glomérulo y no reabsorbidas en el túbulo

Tabla II. Características diagnósticas básicas del cociente albúmina/proteína <0,4 en orina según el tipo de proteinuria

Proteinuria	n	Sensibilidad (i.c. 0,95)	Especificidad (i.c. 0,95)	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo	Eficacia
Excreción normal	926	0,98	0,02	0,06	0,94	0,08
Sobrecarga	94	(0,90-1)	(0,01-0,03)			
Tubular	274	0,98	0	0,32	0	0,32
PBJ ¹	132	(0,94-1)	(0,00-0,01)			
Glomerular	323	0,38	0,78	0,06	0,97	0,76
PBJ ¹	13	(0,15-0,68)	(0,73-0,82)			
Glomerular NS ²	103	1	0,37	0,07	1	0,40
PBJ ¹	5	(0,48-1)	(0,28-0,47)			
Mixta	287	0,72	0,68	0,46	0,86	0,69
PBJ ¹	111	(0,63-0,78)	(0,62-0,73)			

¹PBJ+: proteína de Bence Jones positiva; ²NS: no selectiva.

Tabla III. Características diagnósticas básicas del cociente [(albúmina+ α_1 -microglobulina+inmunoglobulina G)/proteína] <0,6 en orina según el tipo de proteinuria

Proteinuria	<i>n</i>	Sensibilidad (i.c. 0,95)	Especificidad (i.c. 0,95)	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo	Eficacia
Excreción normal	926	0,98	0,02	0,06	0,95	0,08
Sobrecarga	94	(0,90-0,99)	(0,01-0,03)			
Tubular	274	0,94	0,66	0,57	0,96	0,75
PBJ + ¹	132	(0,88-0,97)	(0,60-0,72)			
Glomerular	323	0,69	0,67	0,08	0,98	0,67
PBJ + ¹	13	(0,39-0,85)	(0,61-0,71)			
Glomerular NS ²	103	1	0,39	0,07	1	0,42
PBJ + ¹	5	(0,48-1)	(0,30-0,48)			
Mixta	287	0,69	0,69	0,47	0,85	0,69
PBJ + ¹	111	(0,60-0,77)	(0,64-0,74)			

¹PBJ+: proteína de Bence Jones positiva. ²NS: no selectiva.

Tabla IV. Características diagnósticas básicas del cociente [(albúmina+ α_1 -microglobulina+inmunoglobulina G)/proteína] <0,7 en orina según el tipo de proteinuria

Proteinuria	<i>n</i>	Sensibilidad (i.c. 0,95)	Especificidad (i.c. 0,95)	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo	Eficacia
Excreción normal	926	0,98	0,02	0,06	0,94	0,07
Sobrecarga	94	(0,90-0,99)	(0,01-0,03)			
Tubular	274	0,96	0,62	0,55	0,97	0,73
PBJ + ¹	132	(0,91-0,98)	(0,56-0,67)			
Glomerular	323	0,77	0,52	0,06	0,98	0,53
PBJ + ¹	13	(0,46-0,90)	(0,46-0,57)			
Glomerular NS ²	103	1	0,25	0,06	1	0,29
PBJ + ¹	5	(0,48-1)	(0,17-0,34)			
Mixta	287	0,77	0,50	0,37	0,85	0,57
PBJ + ¹	111	(0,67-0,83)	(0,44-0,56)			

¹ PBJ+: proteína de Bence Jones positiva. ² NS: no selectiva

proximal, fundamentalmente la albúmina (15). Un aumento de la excreción total de proteína no justificado por las proteínas específicas medidas hará sospechar la presencia de una proteína plasmática de baja masa molar (proteína de Bence Jones, lisozima, mioglobina, β_2 -microglobulina, hemoglobina) que se está filtrando libremente por el glomérulo en cantidades importantes como para saturar la capacidad reabsortiva del túbulo proximal y excretarse en la orina. Sin embargo, la cuantificación de la excreción total de proteína en la orina presenta importantes problemas metodológicos (15-17), habiéndose recomendado su abandono (18), lo que, *a priori*, hace impracticable esta alternativa. El alto porcentaje de falsos positivos para descartar una proteína de Bence Jones, alrededor del 70%, obtenidos globalmente en nuestra serie, sin tener presente el patrón de la proteinuria, unido al 10-13% de falsos negativos, prácticamente no reduciría la carga de trabajo ni permitiría cribar con una seguridad del 95% la demanda de esta prueba, independientemente de que se utilice la albúmina o la suma de albúmina, α_1 -microglobulina e inmunoglobulina G. Boege *et al.* (7) refieren una sensibilidad del 100% y una especificidad del 76,8% en una muestra formada por 84 pacientes con gammapatía monoclonal en suero (40 de ellos con proteína de Bence Jones) y 69 pacientes sin gammapatía monoclonal y con proteinurias glomerulares, tubulares o

mixtas. En nuestra serie, si bien es cierto que la sensibilidad y especificidad aumentan cuando se tiene en cuenta el patrón de la proteinuria, solamente en las orinas con una proteinuria tubular se podría utilizar esta alternativa con una sensibilidad del 96% y especificidad del 62%. Las desigualdades metodológicas existentes entre los dos estudios no parecen justificar estas diferencias. Boege *et al.* (7) cuantifican la proteína en orina mediante nefelometría a punto final con ácido tricloroacético, añaden al cociente la cuantificación de la transferrina en orina y utilizan un valor discriminante de 0,69. Ivandic *et al.* (9) no refieren en su algoritmo de estudio de la proteinuria las características diagnósticas del cociente proteico y Regeniter *et al.* (14) no especifican que incluyan la detección de la proteinuria prerrenal en su programa informático MDI Lablink para el estudio de la proteinuria, aunque el software del programa está basado en los trabajos de Hofmann y Guder.

Por último, el que se haya encontrado en nuestra serie un 3,1% de orinas con una proteína de Bence Jones positiva y una proteína en orina inferior a la suma de los tres marcadores proteicos utilizados, únicamente puede explicarse por los problemas metodológicos que tienen los procedimientos de medida de la proteína en orina, sobre todo para las proteínas de baja masa molar (16,17).

En resumen, los resultados encontrados en este estudio no permiten recomendar la utilización de cocientes proteicos que incluyan la excreción total de proteína para el cribado de la demanda de la proteína de Bence Jones.

Correspondencia:
Enrique Bergón Jiménez
Servicio de Análisis Clínicos
Hospital Universitario de Getafe
Cta de Toledo Km 12,5
28905 Getafe (Madrid)

Bibliografía

1. Bergón E, Bergón M. Uso del cociente cadenas kappa/cadenas lambda en orina para el estudio de la proteína de Bence Jones. *Quim Clin* 1999; 18: 266-70.
2. Marshall T, Williams KM. Electrophoretic analysis of Bence Jones proteinuria. *Electrophoresis* 1999; 20: 1307-24.
3. Aguzzi F, Gasparro MR, Bergami M, Merlini M. High-sensitivity electrophoretic method for the detection of Bence Jones protein and the study of proteinuria in unconcentrated urines. *Ann Clin Biochem* 1993; 30: 287-92.
4. Levinson SS. An algorithmic approach using κ/λ ratios to improve the diagnostic accuracy of urine protein electrophoresis and to reduce the volume required for immunoelectrophoresis. *Clin Chim Acta* 1997; 262: 121-130.
5. Beetham R. Detection of Bence Jones protein in practice. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 563-70.
6. Keren DF, Alexanian R, Goeken JA, Gorevic PD, Kyle RA, Tomar RH. Guidelines for clinical and laboratory evaluation of patients with monoclonal gammopathies. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123: 106-7.
7. Boege F, Koehler B, Liebermann F. Identification and quantification of Bence Jones proteinuria by automated nephelometric screening. *J Clin Chem Clin Biochem* 1990; 28: 37-42.
8. Guder WG, Ivandic M, Hofmann W. Physiopathology of proteinuria and laboratory diagnostic strategy based on single protein analysis. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36: 935-9.
9. Ivandic M, Hofmann W, Guder WG. Development and evaluation of a urine protein expert system. *Clin Chem* 1996; 42: 1214-22.
10. Chambers RE, Bullock DG, Whicher JT. Urinary total protein estimation-fact or fiction?. *Nephron* 1989; 53: 33-6.
11. Chambers RE, Bullock DG, Whicher JT. External quality assessment of total urinary protein estimation in the United Kingdom. *Ann Clin Biochem* 1991; 28: 467-73.
12. Bergón E, Granados R, Fernández-Segoviano P, Miravalles E, Bergón M. Classification of renal proteinuria: A simple algorithm. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 1.143-50.
13. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comisión de proteínas. Protocolo de estudio de la proteinuria. *Quim Clin* 1998; 17: 389-91.
14. Regeniter A, Siede WH, Scholer A, Huber P, Frischmuth N, Steiger JU. Interpreting complex urinary patterns with MDI Lablink: a statistical evaluation. *Clin Chim Acta* 2000; 297: 261-73.
15. Borque L. Proteinuria. En *Química Farmacéutica* Bayer ed. Madrid 1994: 23-32.
16. Waller KV, Ward KM, Mahan JD, Wismatt DK. Current concepts in proteinuria. *Clin Chem* 1989; 35: 755-65.
17. Lim CW, Chisnall WN, Stokes YM, Debnam PM, Crooke MJ. Effects of low and high relative molecular protein mass on four methods for total protein determination in urine. *Pathology* 1990; 22: 89-92.
18. Ballantyne FC, Gibbons J, O'Reilly DSTJ. Urine albumin should replace total protein for the assessment of glomerular proteinuria. *Ann Clin Biochem* 1993; 30: 101-103.