

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina Interna



TESIS DOCTORAL

Estudio de la función plaquetaria y del síndrome de coagulación intravascular diseminada en pacientes afectados de discrasia de células plasmáticas y su correlación con el tipo de inmunoglobulina monoclonal presente en el suero

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

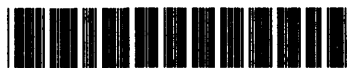
Enrique Riopérez Carmena

Madrid, 2015

Enrique Riopérez Carmena

TP
1981

130



* 5 3 0 9 8 5 6 1 5 8 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

X-53-003620-2

ESTUDIO DE LA FUNCION PLAQUETARIA Y DEL SINDROME
DE COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA EN PACIENTES AFECTOS
DE DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICAS Y SU CORRELACION
CON EL TIPO DE INMUNOGLOBULINA MONOCLONAL PRESENTE
EN EL SUERO

Departamento de Medicina Interna
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1981



BIBLIOTECA

© Enrique Riopérez Carmena
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-15933-1981

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de MEDICINA

CATEDRA DE PATOLOGIA Y CLINICA MEDICA

PROF. Dr. D. Amador Schüller Pérez

ESTUDIO DE LA FUNCION PLAQUETARIA Y DEL SINDROME DE COAGU
LACION INTRAVASCULAR DISEMINADA EN PACIENTES AFECTOS DE -
DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICAS Y SU CORRELACION CON EL
TIPO DE INMUNOGLOBULINA MONOCLONAL PRESENTE EN EL SUERO.

Trabajo para optar al grado de
Doctor en Medicina y Cirugía.

Presenta:

D. Enrique Riopérez Carmena

Madrid, 1.980.



A mi mujer,
A mis hijos.

Esta Tesis Doctoral ha sido posible gracias a la colaboración desinteresada de múltiples personas, que en este momento no queremos dejar de recordar.

En primer lugar, los enfermos, elementos indispensables de nuestro quehacer diario, que con su total entrega y colaboración han hecho posible la realización de la presente Tesis.

Al Prof. Schüller Pérez, que con su habitual maestría y cariño, siempre supo encontrar tiempo en su Cátedra del Hospital Clínico, para guiarme, estimularme y enseñarme el camino a seguir en cada instante.

A todos mis compañeros del Departamento de Medicina Interna - por su espíritu de compañerismo y colaboración inestimable.

- INDICE ~

PRIMERA PARTE

	<u>Págs.</u>
I.- JUSTIFICACION	1
II.- INTRODUCCION	3
III.- BASES Y FUNDAMENTO DE LAS INMUNOGLOBULINAS	8
1) Estructura de las Inmunoglobulinas	8
2) Clases y subclases de Inmunoglobulinas	9
3) Biosíntesis de las Inmunoglobulinas	19
4) Ensamblado y Secreción de las Inmunoglobulinas	21
5) Desórdenes en la Biosíntesis de las Inmunoglobulinas	25
6) Metabolismo de las Inmunoglobulinas	25
IV.- DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICAS	28
1) Concepto	28
2) Análisis de los métodos de Laboratorio utilizados para el estudio de las Discrasias de Células Plasmáticas	30
2.a) Electroforesis del Suero	31
2.b) Inmunolectroforesis del Suero	35
2.c) Inmunodifusión Radial	37
2.d) Inmunofijación	38
2.e) Viscosimetría sérica	38
2.f) Crioglobulinas	39

	<u>Págs.</u>
2.g) Piroglobulinas	40
2.h) Test de Sfa	40
2.i) Electroforesis e Inmunolectroforesis en Orina	41
3) Clasificación de las Discrasias de Células Plasmáticas..	46
 V.- PLAQUETAS	 47
1) Morfología Plaquetaria	47
2) Fisiología estructural de la Plaqueta	50
3) Metabolismo Plaquetario	52
4) Función Plaquetaria	53
5) Cinética Plaquetaria	57
 VI.- COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA (C.I.D.)	 59
1) Concepto	59
2) Patogenia	59
3) Fisiopatología	60
4) Causas de C.I.D.	61
5) Manifestaciones Clínicas de C.I.D.	63
5.a) C.I.D. Aguda	63
5.b) C.I.D. Crónica	63
6) Diagnóstico de Laboratorio de C.I.D.	64
 VII.- EXPERIMENTACION ANIMAL EN EL ESTUDIO DE LAS DISCRASIAS DE - CELULAS PLASMATICAS	 67

SEGUNDA PARTEAPORTACION PERSONAL

	<u>Págs.</u>
VIII.- HIPOTESIS DE TRABAJO	69
IX.- MATERIAL	70
X.- METODOS	71
1) Electroforesis del Suero	71
2) Inmunolectroforesis del Suero	71
3) Inmunodifusión Radial - Nefelometría	72
4) Recuento de Plaquetas	73
5) Tiempo de Hemorragia (T.H.)	73
6) Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	74
7) Tiempo de Protrombina (T.P.)	75
8) Fibrinógeno sérico	76
9) Productos de degradación de Fibrinógeno-Fibrina (P.D.F.)	78
10) Viscosimetría del Suero	79
11) Metodología Estadística	80
XI.- RESULTADOS	83
a) En el Mieloma Múltiple	83
b) En la Macroglobulinemia de W.	87
c) Resultados Estadísticos	89

IV

	<u>Págs.</u>
XII.- ANALISIS DE LOS RESULTADOS	89
a) En el Mieloma Múltiple IgG	89
b) En el Mieloma Múltiple IgA	93
c) En el Mieloma Múltiple IgD	95
d) En el Mieloma No Secretor	96
e) En el Mieloma de Cadenas Ligeras	97
f) En la Macroglobulinemia de W.	98
XIII.- CONCLUSIONES	
XIV.- BIBLIOGRAFIA	101

I - JUSTIFICACION

I - JUSTIFICACION

Si bien, son conocidas desde hace bastante tiempo, las alteraciones en el sistema hemostático que pueden aparecer en el seno de la evolución clínica de los pacientes afectados de Discrasia de Célula Plasmática, son poco numerosos los trabajos que pormenorizan todas y cada una de estas alteraciones, a la par que las distintas series de estudio, no han implicado a un gran número de pacientes.

Es por ello, por lo que a lo largo de la presente Tesis, iremos estudiando y analizando, en una amplia serie de pacientes (100) afectados de Discrasias de Células Plasmáticas, por un lado la función plaquetaria, y por otro el Síndrome de Coagulación Intravascular Diseminada -- (CID) intentando correlacionar los distintos parámetros estudiados entre sí.

Podemos resumir diciendo que:

- 1) Son muy escasas las publicaciones, que hacen referencia al estudio analítico y comparativo de ambos parámetros, en una amplia serie de pacientes, afectados de Gammapatía Monoclonal.
- 2) No hemos encontrado referencias bibliográficas que hagan mención al estudio del Síndrome de C.I.D., en los pacientes afectados de Macroglobulinemia de Waldeström.
- 3) Asimismo son raras las publicaciones, que estudian el Síndrome de C.I.D., en pacientes con Mieloma Múltiple IgG e IgA.
- 4) No existen publicaciones, que hagan referencia al estudio del Síndrome de C.I.D., en los pacientes afectados de Mieloma Múltiple IgD, Mieloma Múltiple No Secretor y Mieloma Múltiple de Cadenas Ligeras.

Así pues, el estudio en una amplia serie de enfermos con Discrasias de Células Plasmáticas (100 casos), de la función plaquetaria y del Síndrome de C.I.D., es analizado.

Hemos valorado de forma sistemática los siguientes parámetros:

- Recuento de Plaquetas.
- Tiempo de hemorragia (T.H.).
- Adhesividad Plaquetaria "in vitro".
- Tiempo de Protrombina (T.P.).
- Fibrinógeno Sérico.
- Productos de degradación de Fibrinógeno-Fibrina en suero (PDF).
- Cuantificación de las Inmunoglobulinas séricas.
- Presencia de trastorno en la hemostasia, clínicamente manifestado.

En todos los pacientes estudiados se realizó electroforesis en sangre y orina e inmunolectroforesis en sangre y orina.

Ocasionalmente se investigó la viscosimetría sérica.

Por tanto, ésta y no otra, es la base de la presente Tesis Doctoral.

< 100

II - INTRODUCCION

II - INTRODUCCION

En el año 1847, Mac Intyre y Watson, comunicaron el 1º caso de Mieloma Múltiple (1). Desde entonces, muchas han sido las publicaciones que han hecho referencia a esta enfermedad, y a sus distintas complicaciones. Dentro de éstas, puede que las alteraciones diversas en el mecanismo de la coagulación, sean unas de las más frecuentes a la par que de las más graves, que pueden aparecer en estos pacientes.

Durante estos últimos años, el conocimiento cada vez más profundo de la hemostasia normal, el perfeccionamiento de las técnicas de laboratorio, la aparición del microscopio electrónico y la comprensión de la bioquímica y fisiología plaquetarias, han hecho posibles el estudio minucioso de las diversas alteraciones hemostáticas, que pueden complicar y ensombrecer el pronóstico de los enfermos afectados de Discrasia de Célula Plasmática.

Actualmente, y merced a un gran número de investigaciones clínicas y de laboratorio, así como de experimentación animal, está perfectamente delimitado el amplio espectro de alteraciones hemostáticas, que pueden presentar los enfermos con gammapatía de origen monoclonal. Sin embargo, nuevos avances en la técnica diagnóstica, es casi seguro que traerán como consecuencia la aparición de alteraciones hemostáticas -- distintas a las hoy conocidas.

De igual manera, en el campo de la terapéutica, es necesaria la investigación constante, que conlleve a un pronóstico más favorable en el curso clínico y tratamiento de estos pacientes.

Nuevas técnicas de tratamiento sumadas a las ya existentes podrán en un futuro, quizás no muy lejano, prolongar la supervivencia de este tipo de enfermos.

Las anomalías en el mecanismo hemostático de los pacientes con Síndrome Disproteínico Maligno, pueden en general ser divididas en 2 grupos fundamentales:

- a) Anomalías asociadas con hemorragia.
- b) Anomalías asociadas o que predisponen a la trombosis.

Las primeras son relativamente frecuentes, y en las distintas series amplias de estudio, comprenden aproximadamente entre un 15% y un 40% (2). Por el contrario, las complicaciones trombóticas son menos frecuentes, pero, sin embargo, pueden aparecer con una frecuencia que oscila entre el 3% y el 25%, según las distintas series (3), (4), (5).

La tendencia hemorrágica en estos pacientes, puede estar directamente relacionada con la proteína anómala, o bien puede estar asociada con situaciones que complican la enfermedad primaria, tales como: Uremia, hiperesplenismo, enfermedad hepatocelular, síndrome de defibrinación, sepsis y quimioterapia.

De todas estas posibles causas, las relacionadas con la proteína anormal son las que vamos a comentar y fundamentalmente las asociadas a: Defectos cuantitativos o cualitativos de las plaquetas, anomalías en el mecanismo de la coagulación, síndrome de hiperviscosidad y mecanismos varios, entre los que podemos incluir la fibrinólisis primaria y las alteraciones en la pared de los vasos.

La siguiente clasificación etiopatogénica tomada de Lackner (6), nos ayudará a comprender las distintas anomalías en la hemostasia de los pacientes con discrasia plasmocítica.

I) ALTERACIONES HEMORRAGICAS.-A) Anormalidades de las Plaquetas (Trombocitopatías).

- 1) Trombocitopenia.
- 2) Función plaquetaria anómala.

B) Anormalidades de los Factores Plasmáticos de la Coagulación.

- 1) Inhibidores del mecanismo de la Coagulación.
 - a) Inhibidor de la "agregación del monomero de fibrina".
 - b) Inhibidor del Factor VIII.
 - c) Inhibidor no específico del "Test de generación de Tromboplastina".
 - d) Inhibidores varios:
 - Inhibidor del Tiempo de Protrombina.
 - Inhibidor del Factor V.
 - Inhibidor del Factor VII.
 - e) Deficiencia del Factor X, debida a inactivación "in vivo".
- 2) Depresión de varios factores de la Coagulación:
 - Factores: II, V, VII, VIII, X y Fibrinógeno.
 - C.I.D. crónica.

C) Síndrome de Hiperviscosidad.

- D) Alteraciones varias:
- Fibrinolisis Primaria.
 - Lesión de la Pared Vasular.

II) ANORMALIDADES TROMBOTICAS.-

6.

Como puede verse, en esta clasificación, muchas son las anomalías descritas en el mecanismo hemostático normal de los pacientes con gammapatía de origen monoclonal. Sin embargo, desde el punto de vista práctico, sólo unas cuantas de estas alteraciones, están asociadas de forma frecuente con hemorragia clínicamente manifiesta. En este sentido la disfunción plaquetaria, cuanti o cualitativa, es la alteración que con más frecuencia induce hemorragia clínica, junto con el síndrome de hiperviscosidad.

Las alteraciones en los factores de la Coagulación, sólo rara vez, originan trastorno hemorrágico en estos pacientes.

Por otra parte, las complicaciones Trombóticas, aunque no tan frecuentes, sí constituyen una entidad clínica con personalidad propia en estos enfermos. Alrededor del 10% de los pacientes afectados de Mieloma - en la serie de Taberman (5), murieron de Tromboembolismo Pulmonar.

Las causas que pueden inducir trombosis en estos pacientes no han sido aclaradas, si bien los siguientes factores que a continuación se enumeran, pueden intervenir en su patogenia:

- 1) Hiperfibrinogenemia.
- 2) Niveles elevados de Factor VIII.
- 3) Amiloidosis renal + Trombosis de venas renales.
- 4) Síndrome de hiperviscosidad.
- 5) C.I.D. crónica.
- 6) Crioglobulinemia (F. de Raynaud, oclusiones vasculares, gangrena periférica).
- 7) Formación "in vivo" de un complejo procoagulante Heparina-Proteína Monoclonal.
- 8) Edad elevada de estos pacientes.

9) Reposo prolongado en cama, por la enfermedad de Fondo.

En suma, el enfermo afecto de discrasia de célula plasmática, puede presentar un trastorno hemorrágico, originado por uno o más de los mecanismos anteriormente citados, sin que en ocasiones se sepa, cuál es el causante de la hemorragia.

Por el contrario, el paciente con trastorno múltiple del mecanismo hemostático, puede no presentar hemorragia o trombosis durante la evolución del proceso.

Como es lógico, de todo lo dicho se desprende, que las manifestaciones hemorrágicas serán más frecuentes en los enfermos con un nivel sérico alto de paraproteína, generalmente superior a 5 g/100ml.

En estos casos, el tratamiento con plasmaféresis, al reducir el "pool" intravascular del componente M, puede ser beneficioso, mejorando el mecanismo de la hemostasia.

Esta terapéutica, será fundamentalmente de utilidad en los enfermos con Macroglobulinemia de Waldenström, puesto que en esta entidad, la proteína anómala está confinada en su mayor parte en el espacio intravascular, no ocurriendo lo mismo en los casos de Mieloma Múltiple IgG e IgA, en los que el componente M, presenta una distribución diferente, con menor pool intravascular. La terapéutica citotóxica debe ser empleada para el control a largo plazo de estos pacientes.

703

III - BASES Y FUNDAMENTOS

DE LAS

INMUNOGLOBULINAS

1.- ESTRUCTURA DE LAS INMUNOGLOBULINAS.-

Las actividades biológicas de las inmunoglobulinas sólo pueden ser entendidas sobre la base del conocimiento de su estructura.

Las inmunoglobulinas son glucoproteínas compuestas de 82-96% de polipeptidos y de 4-18% de carbohidratos. El componente polipeptídico posee casi todas las propiedades biológicas asociadas con las moléculas de anticuerpos. Las moléculas de anticuerpos son altamente heterogéneas como puede demostrarse con el análisis serológico (es decir, antigénico), electroforético y del orden de sucesión de los aminoácidos. Esta heterogeneidad, dificultó los estudios iniciales de su estructura. Dos descubrimientos mayores fueron introducidos durante el período del estudio estructural detallado de los anticuerpos. El primero de ellos fue el descubrimiento de que las enzimas podrían ser empleadas para digerir las moléculas de inmunoglobulinas y transformarlas en componentes más pequeños. El segundo de ellos fue la verificación de que la proteína electroforéticamente homogénea encontrada en el suero y en la orina de un paciente con Mieloma Múltiple estaba relacionada con las inmunoglobulinas normales. Se encontró que esa proteína del Mieloma tenía una estructura homogénea. También fue denominada proteína monoclonal ya que era sintetizada por un solo clono de células plasmáticas malignas. Nuestro conocimiento actual de la estructura de las inmunoglobulinas está basado primordialmente en los estudios de las proteínas monoclonales.

Cada inmunoglobulina contiene una unidad básica o monómero que comprende cuatro cadenas polipeptídicas (fig. 1). En 1959, Porter (7), empleó la enzima proteolítica papaina para desdoblar la inmunoglobulina G del conejo en fragmentos que retenían su actividad biológica. Edelman, demostró que las moléculas de inmunoglobulina G (IgG) podían ser separadas en las cadenas componentes H y L después de la

reducción de los enlaces disulfuro con mercaptoetanol. Estos estudios establecieron un modelo de cuatro cadenas para la IgG. Subsiguientemente se ha demostrado que todas las inmunoglobulinas normales tienen esta estructura básica. Cada unidad básica, tiene una región de bisagra, localizada en la mitad de las cadenas gamma, alfa y probablemente de las cadenas delta y cerca de la mitad de las cadenas mu y epsilon. La unidad básica de cuatro cadenas es flexible en la región de la bisagra, en la cual abunda la prolina y está más expuesta y es más vulnerable al desdoblamiento por las enzimas proteolíticas. La digestión por la papaina de la IgG del conejo y de la IgG₁ humana produjo dos fragmentos Fab y un fragmento Fc. Cada fragmento Fab retiene la actividad fijadora de antígenos y es capaz de fijar un determinante antigénico. Por otra parte, el fragmento Fc posee la mayor parte de las otras funciones biológicas incluyendo la fijación del complemento, transferencia placentaria, anafilaxia cutánea pasiva, catabolismo, etc. En condiciones apropiadas, muchas otras enzimas (pepsina y tripsina) y sustancias químicas (bromuro de cianógeno), son también capaces de desdoblar las inmunoglobulinas en la región de la bisagra produciendo dos fragmentos Fab y un fragmento Fc. Es importante señalar que aunque todas las inmunoglobulinas, poseen las características unidades básicas de cuatro cadenas, ocasionalmente se han observado inmunoglobulinas anormales que son derivadas de su estructura general. Estas inmunoglobulinas anormales incluyen la proteína de Bence-Jones -- que consta de cadenas L, la enfermedad de cadenas pesadas H que se compone de cadenas H incompletas y en raras ocasiones de cadenas L incompletas.

2.- CLASES Y SUBCLASES DE INMUNOGLOBULINAS.-

Los determinantes antigénicos de las diversas cadenas pesadas -- (H) y ligeras (L) de las diferentes inmunoglobulinas se pueden identificar usando antisueros monoespecíficos para las inmunoglobulinas. -- Las inmunoglobulinas se clasifican en clases y subclases de acuerdo con las diferencias antigénicas de las regiones constantes de las cadenas H (cuadro 1). En forma semejante, las cadenas L se clasifican --

se clasifican en tipos Kappa y Lambda. Los subtipos de las cadenas L han sido identificados ocasionalmente en ciertas especies por métodos serológicos o bioquímicos.

Cinco clases (8) de inmunoglobulinas han sido descritas en el hombre. Las cadenas H antigénicamente diferentes son designadas como γ , α , μ , δ , y ϵ , correspondiendo a las clases inmunoglobulina IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE, respectivamente. La mayor parte de estas clases de inmunoglobulinas se han subdividido en subclases. Por Ejemplo, -- las moléculas humanas de IgG se dividen en cuatro subclases (cuadro 2), a saber: IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄, caracterizadas por las cadenas H γ_1 , γ_2 , γ_3 y γ_4 , respectivamente. De manera semejante han sido definidas claramente dos subclases de IgA, a saber: IgA₁ e IgA₂, que se caracterizan por las cadenas H α_1 y α_2 , respectivamente. Los estudios preliminares mediante el mapeo de péptidos y la actividad de fijación del complemento indican la existencia de cuando menos dos subclases de IgM, a saber: IgM₁ e IgM₂, que se caracterizan por las cadenas H μ_1 y μ_2 , respectivamente.

IgG

En los adultos normales, la IgG humana constituye aproximadamente el 75% del total de las inmunoglobulinas del suero. Dentro de las clases de IgG, las concentraciones relativas de las cuatro subclases son aproximadamente como sigue: IgG₁ 60-70%, IgG₂ 14-20%, IgG₃ 4-8% e IgG₄ 2-6%. Estas cifras, varían algo de individuo a individuo y se correlacionan con la presencia de ciertos marcadores alotípicos de la región constante (C) de la cadena H. Por lo tanto, la capacidad de un determinado individuo para producir anticuerpos de una u otra subclase IgG puede estar bajo control genético. Tiene un peso molecular de 150.000 y un coeficiente de sedimentación de 6-7 S (cuadro 3). A un pH alcalino (pH 8,6) la IgG posee la movilidad electroforética más lenta de todas las proteínas principales del suero, exceptuando al componente C 1 q del sistema del complemento. Esta propiedad faci

lita el aislamiento de IgG mediante cromatografía de intercambio iónico en las columnas de dietilaminoetilcelulosa. Algunos anticuerpos -- frente a bacterias y virus son de la clase IgG. Agentes reductores tales como el mercaptoetanol rompen los enlaces disulfuro de las cadenas polipeptídicas de la IgG. Si la proteína reducida es alquilada -- con iodoacetamida y fraccionada en un solvente (tal como guanidina o urea) capaz de disociar los enlaces no covalentes, dos clases de cadenas polipeptídicas pueden ser obtenidas: pesadas (H) y ligeras (L).

CADENAS PESADAS

En cada molécula de inmunoglobulina, las cadenas pesadas son de la misma clase, y las cadenas ligeras son o bien K o bien λ . Cada cadena pesada γ (IgG) tiene un peso molecular de 55.000 y está formada por 440-450 aminoácidos. Cada cadena tiene una región variable (V_H) -- en la cual algunos aminoácidos son sustituidos, lo que hace a cada cadena diferente de las demás y una región constante (C_H) en la cual -- hay pocas diferencias con las otras regiones constantes de la cadena

. La región variable de cada cadena pesada γ está formada por aproximadamente 110 aminoácidos y constituye la porción aminoterminal de la cadena. La región constante de cada cadena γ está constituida por -- 310-330 aminoácidos, conteniendo tres regiones homólogas o dominantes designadas $C\gamma_1$, $C\gamma_2$, $C\gamma_3$. La región homóloga $C\gamma_1$ está en el fragmento Fd y consta de 110-220 aminoácidos. La región homóloga $C\gamma_2$ está en el fragmento Fc y consta de 220-330 aminoácidos y la porción homóloga -- $C\gamma_3$ comprende la porción carboxiterminal de la molécula.

El análisis inmunológico de las proteínas del Mieloma ha desglosado cuatro subclases distintas de cadenas H de la IgG, designadas como IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄. La vida media biológica de la IgG₁, IgG₂ e IgG₄ es de 21 días, mientras que la vida media de la IgG₃ es de 7 a 8 días. Aunque algunos antígenos provocan alguna respuesta de anticuerpos dentro de las subclases de la IgG proporcional a su distribución en el suero normal, otros producen anticuerpos principalmente só

lo de una subclase, por ejemplo, casi todos los anticuerpos frente al factor VIII encontrados en hemofílicos, en el post-parto y en pacientes ancianos son de la clase IgG₄, mientras que cuando no hay predilección sólo un 3 a un 4% de los anticuerpos pueden ser de esta subclase (9). Una alta proporción de anticuerpos frente al dextrano y ácido teitónico está limitada a la subclase IgG₂. Los anticuerpos antiplacentarios en la púrpura trombocitopénica idiopática son de la clase IgG₃ e IgG₁ y de la IgG₃ fijada al complemento a través de la vía clásica. La subclase IgG₄ no fija el complemento.

CADENAS LIGERAS

Históricamente las cadenas ligeras fueron encontradas primero, cuando MacIntyre (10) y Henry Bence-Jones (11) notaron que la orina de un paciente con Mieloma Múltiple precipitaba cuando se calentaba, se aclaraba cuando hervía, pero volvía a precipitar cuando se enfriaba. Cien años más tarde, se encontró que estas proteínas urinarias con esta propiedad, eran los componentes de cadena ligera de la molécula inmunoglobulínica. En 1962, Edelman y Gally (12), demostraron que las cadenas ligeras separadas del suero de una proteína IgG mielomatosa tenía las mismas propiedades que la proteína de Bence-Jones de la orina del mismo paciente.

Las cadenas ligeras tienen un peso molecular de 22.500 Daltons y contienen de 210-220 aminoácidos. Dos grupos distintos de proteína de Bence-Jones (grupo I, grupo II) fueron reconocidos por Bayne-Jones y Wilson (13) en 1922. Las dos clases principales son ahora designadas Kappa (K) y Lambda (λ) (14). Alrededor del 70% de las proteínas séricas IgG monoclonales son del tipo K y alrededor del 30% son del tipo λ . Los pacientes con Macroglobulinemia poseen el 80% del tipo K y en el mieloma IgD el 90% de las cadenas ligeras son del tipo λ .

El análisis de la secuencia de los aminoácidos en las cadenas ligeras, ha demostrado regiones constantes y regiones variables. La re-

gión de la cadena ligera desde el aminoácido número 107 a la posición carboxiterminal 210-220, es muy similar en cadenas ligeras del mismo tipo (K ó λ) y ha sido designado como la región constante (C_L), aunque sustituciones de aminoácidos han sido encontradas en posiciones diferentes en la región constante de la cadena λ humana (15). La región -- desde el amino (NH_2) terminal (posición 1) hasta aproximadamente el -- aminoácido número 107 es diferente en cada cadena ligera y por eso es llamada región variable (V_L). La mitad variable de la cadena ligera, contiene las características de solubilidad térmica específicas de -- las proteínas de Bence-Jones (16). La diferencia de aminoácidos en -- las porciones constantes de las cadenas ligeras, pueden ser relacionadas con ciertos marcadores genéticos. En las cadenas K si el aminoácido Leucina está en la posición número 191, la proteína es denominada Inv_1 o Inv_2 , mientras que si la Valina se encuentra en esta posición citada en lugar de la Leucina, la proteína resultante se denomina -- Inv_3 . En contraste, no han sido identificados factores genéticos para las cadenas λ humanas. Los estudios de secuencia de aminoácidos, han revelado cuatro grupos básicos de cadena ligera K, designados K_1 , K_2 , K_3 y K_4 (17). La frecuencia de aparición de cada uno de estos grupos de cadena ligera K en las cadenas ligeras K monoclonales es aproximadamente 60, 10, 28 y 2%, respectivamente; como uno puede pensar, esto refleja la proporción de cadenas ligeras K_1 , K_2 , K_3 y K_4 en las inmunoglobulinas del suero normal (18). Las cadenas ligeras λ no han sido delineadas, pero cinco subclases de cadenas ligeras λ han sido reportadas (19).

Las proteínas de Bence-Jones son sintetizadas de novo y no son -- productos de degradación de la molécula inmunoglobulínica completa -- del suero. Las cadenas ligeras, se sabe que son catabolizadas por la célula tubular renal. Primariamente, las cadenas ligeras K se encuentran en forma monomérica (peso molecular 22.500) pero pueden existir como Dimeros o como una mezcla de monomeros y Dimeros, mientras que -- las proteínas λ , aparecen como Dimeros con enlace covalente (peso molecular 45.000) a través de su residuo Cisteínico (18). Además, las --

cadenas ligeras K precipitan máximamente sobre un estrecho margen de pH mayor que el de las cadenas ligeras λ (20).

FRAGMENTOS Fab y Fc

El tratamiento de la IgG con el enzima proteolítico papaina rompe a esta molécula en tres piezas: dos fragmentos Fab llamados así, - porque poseen actividad de combinación con el antígeno y un fragmento Fc llamado así, porque en ciertas especies puede ser cristalizado. Cada fragmento Fab (peso molecular 52.000), está formado por la porción aminoterminal de la cadena pesada H y una cadena ligera completa. Tres regiones de hipervariabilidad han sido identificadas en V_L : posiciones 24 a 34, 50 a 56 y 89 a 97 (21). Esta hipervariabilidad y la existencia de regiones hipervariables similares en la porción variable de la cadena pesada H (V_H) en posiciones 30 a 37, 51 a 68, 84 a 91 y 101 a 110 (22), permite la formación de sitios de combinación diferentes de antígeno.

El fragmento Fc consta de la porción carboxiterminal de ambas cadenas pesadas, las cuales están unidas entre sí por enlaces disulfuro. Su peso molecular es de 43.000. Las actividades biológicas del fragmento Fc incluyen: fijación del complemento, anafilaxia cutánea pasiva, unión con el factor reumatoide, unión con los receptores de macrófagos y linfocitos, reacción con la proteína A estafilocócica y transferencia a través de la placenta. La especificidad isotópica (para cadenas α , γ , μ , δ y ϵ) reside en el fragmento Fc. El fragmento Fc no tiene actividad de anticuerpo.

FACTORES Gm

Los factores genéticos que están asociados a la IgG y están presentes sobre la cadena γ son llamados factores Gm o determinantes (23). Si un hematie Rh+ se recubre con un anticuerpo incompleto Rh, la adi-

ción de suero reumatoide (antiglobulina IgG), produce aglutinación. El suero que previene la aglutinación es llamado Gm+. Por alteración de la cubierta del hematíe y el suero aglutinante, más de 20 factores Gm pueden ser distinguidos. Factores Gm individuales están asociados con subclases individuales de IgG; hay numerosos determinantes Gm sobre IgG₁ e IgG₃ y algunos sobre las otras dos subclases.

IgA

Dos cadenas pesadas alfa (α) y dos cadenas ligeras, ambas K ó λ forman la molécula de inmunoglobulina IgA (24) (figura 2). Tiene un peso molecular de 170.000 y un coeficiente de sedimentación de 7S, pero también tiene una gran propensión para formar polimeros con coeficiente de sedimentación de 9S a 15S. Su índice catabólico es de 5,8 días, siendo mayor que el de la IgG. Alrededor del 90% de las proteínas IgA monoclonales del suero son del tipo K. La IgA puede fijar los últimos componentes del complemento, empezando por el C₃ (vía alterna). Hay dos subgrupos de cadena pesada: α_1 y α_2 , resultando en IgA₁ e IgA₂. Casi el 95% de las proteínas IgA monoclonales son de la clase IgA₁. Las moléculas de IgA₂ son únicas entre las inmunoglobulinas ya que sus cadenas ligeras están unidas a las cadenas pesadas α_2 por fuerzas no covalentes.

La IgA secretoria también llamada SIgA (figura 3) se encuentra en altas concentraciones en las secreciones de algunas glándulas del tracto respiratorio y tracto gastrointestinal así como en las lágrimas, calostro y orina. La SIgA tiene un coeficiente de sedimentación de 11S y un peso molecular de 390.000. Está formada por dos moléculas de IgA unidas por puentes de disulfuro a una Glicoproteína (peso molecular 60.000) llamada pieza secretoria o pieza S. La pieza secretora es sintetizada en las células epiteliales de la mucosa y aumenta la resistencia de la molécula contra la digestión por tripsina y pepsina. La SIgA posee actividad antibacteriana y tiene efecto neu--

tralizante sobre la replicación viral (25). La producción de IgA comienza cuatro semanas después del nacimiento y alcanza el nivel del adulto a partir del primer año de vida. No existen cambios significativos en la concentración de la IgA durante la infancia.

CADENA J

La cadena J no es una inmunoglobulina, con un peso molecular de 15.000 (26), está unida por puentes de disulfuro a la porción Fc de la cadena pesada y puede formar dímeros o polímeros de IgA, así como la estructura pentamérica de la IgM. Nunca es encontrada en la IgG o en los monómeros de IgA, pero está presente en las células del mielo ma secretoras de IgG monomérica. Sólo una cadena J está presente en cada polímero de IgA o en cada pentámero de IgM. La cadena J de la - IgM es idéntica a la cadena J de la IgA.

IgM

La molécula de IgM está compuesta por subunidades ligadas por puentes disulfuro (27). La cadena pesada μ de la IgM tiene un peso molecular aproximado de 70.000; las subunidades compuestas de dos cadenas H y dos cadenas L tienen cada una peso molecular de 180.000- - 190.000. Puesto que el peso molecular de la IgM es aproximadamente - de 900.000 es evidente que está compuesta de 5 subunidades. La cadena μ recientemente secuenciada, consta de una porción variable (V_H) y cuatro porciones constantes ($C\mu_1, C\mu_2, C\mu_3, C\mu_4$) (28). Aunque la - IgM tiene un coeficiente de sedimentación de 19S, pueden verse IgM - con coeficiente de sedimentación de 22S (compuestos de dímeros en la molécula 19S) y 35S. IgM de bajo peso molecular (coeficiente de sedimentación 7S) ha sido encontrada en pacientes con varias situaciones patológicas, incluyendo L. E. S., macroglobulinemia, desórdenes linfoproliferativos y cirrosis.(29).

Mediante el microscopio electrónico se ha demostrado que la IgM tiene una estructura similar a una araña (figura 2) con un cuerpo --

central donde se encuentra la porción Fc junto con la cadena J y unas patas constituidas por los fragmentos Fab. Las subclases de la cadena μ han sido reportadas por algunos laboratorios, pero hasta el momento actual subclases específicas de la IgM no son reconocidas. Los anticuerpos IgM son los primeros producidos en una respuesta inmunitaria primaria y fijan rápidamente el complemento sérico. Crioaglutininas, isoaglutininas, factor reumatoide, anticuerpo heterófilo y anticuerpo de Wasserman así como también anticuerpo anti-varias bacterias son de la clase IgM. La síntesis rápida de la IgM comienza en los primeros días del nacimiento y los niveles séricos del adulto son alcanzados aproximadamente hacia el primer año de la vida. La concentración de IgM, desciende alrededor de la sexta década de la vida. Aproximadamente el 80% de las proteínas monoclonales IgM son del tipo K.

IgD

En 1965, Rowe y Fahey (30), encontraron una proteína del Mieloma conteniendo una cadena pesada distinta a la de las otras inmunoglobulinas. Esta clase llamada IgD está presente en una distribución trimodal con módulos de 0,25 U.I./ml, 5 U.I./ml y 35 U.I./ml. Esta distribución, sugiere que los niveles de la IgD en personas normales están estrechamente influenciados por la herencia a través de un mecanismo monogénico (31). La IgD es rápidamente catabolizada y tiene una vida media en el suero de 2,8 días. Alrededor del 75% de la IgD es intravascular, una distribución que puede ser debida a irregularidades en la forma de la molécula. Aunque la actividad de combinación con el antígeno asociada con la IgD han sido reportadas con Tiroglobulina, antígenos nucleares e Insulina, las funciones de la molécula que son atribuibles a las cadenas pesadas siguen permaneciendo oscuras. La IgD se encuentra a menudo sobre la superficie del linfocito (32). Ya que el 90% de la IgD Mielomatosa es del tipo λ en contraste con el predominio de la IgD tipo K encontrada sobre la superficie del linfocito, se ha sugerido que la IgD del suero y la IgD unida a la célula pueden representar dos subclases distintas de IgD (33).

IgE

Esta inmunoglobulina ha sido purificada del suero de los pacientes alérgicos (34). No más de 12 casos de Mieloma IgE han sido publicados en la literatura mundial. Posee un peso molecular de 200.000 y un coeficiente de sedimentación de 8S. La combinación de una vida media muy corta (2, 3 días) y un índice muy bajo de síntesis, resultan, en una concentración sérica extremadamente baja en las personas normales. La IgE, media la reacción alérgica asociada en reagínicos y se une a los basófilos. La IgE es fijada sobre la célula blanco normal y la histamina es liberada del interior de la célula cuando la IgE fijada a la célula reacciona con el alérgeno. En contraste con la IgG, -- IgA e IgM la inmunoglobulina IgE posee un definido catabolismo extravascular (35). Algunos pacientes con asma extrínseco y fiebre del heno tienen una concentración elevada de IgE (36).

BIOSINTESIS DE LAS INMUNOGLOBULINAS.-

Gran número de células de diferentes procedencias han sido empleadas para el estudio de la biosíntesis de las inmunoglobulinas. Estas incluyen células en cultivo de corta duración, provenientes, de ganglios linfáticos, bazo, médula ósea o sangre periférica de sujetos humanos o animales.

La mayor parte de los anticuerpos se producen en las fases G₁ tardía e inicial S del ciclo de reproducción de la célula (figura 4). La síntesis, puede empezar más precozmente en la fase G₁ de las células plasmáticas que en los linfocitos. De manera semejante puede persistir por más tiempo en la fase S de las células plasmáticas. La inmunoglobulina sintetizada por un linfocito en el cultivo de células, puede comprender sólo el 5% del total de proteínas sintetizadas por la célula, mientras que en una célula plasmática puede abarcar hasta el 43% de las proteínas sintetizadas en un lapso corto de tiempo. Esta correlación entre la cantidad de inmunoglobulina sintetizada y el tipo de célula, está directamente relacionada con la demostración histológica de un Retículo Endoplásmico mal desarrollado en los Linfocitos (37) y de un Retículo Endoplásmico granuloso marcadamente desarrollado en las células plasmáticas.

La síntesis de las proteínas específicas es la función principal y probablemente la única de las células plasmáticas. La abundancia de RNA citoplásmico, explica la basofilia y la pironinofilia características de las células plasmáticas y el aparato de Golgi muy desarrollado es causa del típico halo paranuclear o zona clara. El estudio de células plasmáticas por microscopia electrónica ha demostrado que el RNA citoplásmico está organizado en forma de gránulos (ribosomas) unidos a una red bien desarrollada de Retículo Endoplásmico. Todas estas características estructurales ahora se relacionan con las funciones complejas de síntesis y secreción de proteínas. El núcleo de la célula plas-

mática con su cromatina característicamente aglomerada (DNA) contiene la información genética que rige la estructura de la proteína al ser sintetizada. La síntesis de RNA ribosómico tiene lugar sobre un DNA localizado en el nucleolo. Diversos RNA mensajeros que rigen la estructura de las proteínas específicas que van a sintetizarse por estos ribosomas provienen del DNA que no está en el nucleolo. El DNA dirige la síntesis del RNAm apropiado. El RNAm para una cadena L ha sido medido como 13S en un sistema experimental. Es mayor, de lo que podría esperarse para la síntesis de una cadena polipeptídica con un peso molecular de 23.000. Sin embargo, se ha encontrado que la mayoría de los RNAm de mamíferos contienen un largo tramo de ácido poliadenilico en un extremo del RNAm. La función de este ácido poliadenilico es desconocida. Es posible usar el RNAm en un sistema exento de células, siempre que los ribosomas, los factores de iniciación y de determinación, RNAt y las enzimas sintetizadoras de péptidos se encuentren disponibles. Este sistema puede sintetizar proteínas, pero es verosímil, que la máxima síntesis proteica, se pueda lograr, sólo cuando sea usado el RNAm con su aparato sintético homólogo correspondiente.

La síntesis de las inmunoglobulinas (38) (39), es llevada a cabo realmente por el RNAt, el cual añade aminoácidos de manera sucesiva al extremo en crecimiento de la cadena polipeptídica, trabajando desde el extremo aminoterminal al carboxi-terminal. Esta síntesis, ocurre sobre los ribosomas (figura 5). Ribosomas diferentes son usados para la síntesis de la cadena H (270-300S) y de la cadena L (190-200S). En las células plasmáticas, la síntesis proteica está asociada con agregados de ribosomas fijos a la membrana en el Retículo Endoplásmico granuloso. En los Linfocitos, es más común observarla en conexión con ribosomas lisos o libres. Como sucede con la síntesis proteica en general, la inmunoglobulina recién sintetizada es puesta en libertad de manera gradual por los ribosomas, comenzando por la primera parte de la cadena polipeptídica por sintetizar.

Las diferentes clases de inmunoglobulinas, probablemente sean sin-

tetizadas por células diferentes. NO se ha excluido la posibilidad de que una sola célula, pueda, según condiciones, sintetizar dos tipos de inmunoglobulinas diferentes simultánea o sucesivamente, pero la mayor parte de los estudios indican la síntesis de solamente un tipo de inmunoglobulina por cada célula. Estudios inmunohistoquímicos (40), utilizando antisueros monoespecíficos marcados con fluoresceína para cada uno de los grupos de inmunoglobulinas, han demostrado generalmente la síntesis de inmunoglobulina IgG en las células plasmáticas maduras típicas de tipo Marshalko. La inmunoglobulina IgA, ha sido localizada su síntesis en células con citoplasma vacuolado y relativamente más abundante, pero que todavía conserva las características principales de la célula plasmática. La síntesis de la inmunoglobulina IgM se ha relacionado con una población de células algo menores, con relativamente menos citoplasma; estas células, han sido clasificadas de forma diversa como células plasmáticas linfocitoides, linfocitos plasmocitoides, células plasmáticas atípicas y linfocitos atípicos. Células plasmáticas ovoides típicas, con núcleos excéntricos, cromatina aglomerada, nucleolos prominentes, halo paranuclear y citoplasma basófilo, se hallan ampliamente distribuidas en ganglios linfáticos, bazo, médula ósea, pared intestinal y otros tejidos y órganos. Constituyen menos del 5% de la población normal de la médula ósea.

ENSAMBLADO Y SECRECIÓN DE LAS INMUNOGLOBULINAS.-

Las cadenas H y las cadenas L son sintetizadas en cantidades equimolares o con un exceso pequeño o moderado de cadenas L. El ensamblado inicial (38) (39) de la cadena L con la cadena H puede ocurrir mientras la cadena H se encuentra todavía sobre su ribosoma. Sin embargo, la mayor parte del ensamblado ocurre, por lo general, después de que las cadenas han sido liberadas de sus ribosomas en las cisternas del Retículo Endoplásmico. Varios factores afectan el ensamblado de las inmunoglobulinas, incluyendo los siguientes:

- 1) La introducción y ajuste entre las cadenas H y L recién sintetizadas.
- 2) El número relativo de cadenas.
- 3) La concentración de cadenas H y L en los sitios individuales - en las cisternas, y
- 4) La velocidad de formación de los enlaces disulfuro.

Se puede deducir, que el ensamblado se logra con mayor rapidez si se encuentran cantidades equimolares de cadenas H y L complementarias en concentración equilibrada en las cisternas. La velocidad de formación de los enlaces disulfuro, es influida por la proximidad de las cadenas, la disponibilidad de enzimas para el enlace disulfuro y la presencia de grupos sulfhidrúlicos activos en otras proteínas distintas a las inmunoglobulinas. El enlace disulfuro que une las cadenas pesadas H es de menor energía que el que une las cadenas pesadas H a las cadenas ligeras L. Las vías que han sido descritas para el ensamblado covalente de las inmunoglobulinas las representamos en el cuadro número -- (4).

El enlace disulfuro inicial en las 3 primeras vías se encuentra - entre las cadenas H y las cadenas L; en la vía número 4 dicho enlace - se encuentra entre las cadenas H y en la vía número 5 el enlace, se en encuentra entre las cadenas L. La vía número 5, por lo general, no es -- una vía significativa en la biosíntesis normal, pero es importante en la patogenia del exceso de dímeros de cadenas L monoclonales secreta-- dos. No hay una sola vía de ensamblado que opere para todas las célu-- las o para todas las inmunoglobulinas de una clase cualquiera.

Las cadenas L libres pueden ser secretadas antes de 20 minutos -- después de su síntesis. Las IgG completamente ensambladas pueden ser - secretadas entre 30 y 40 minutos después del comienzo de su síntesis. Un factor variable, es la velocidad de formación del enlace disulfuro,

pues para que éste se produzca se necesitan aproximadamente de 2 a 20 minutos.

La velocidad de síntesis de la IgM es aproximadamente de 80 moléculas/célula/segundo. Las células B de los ratones atímicos (41) "despojados" pueden ser estimuladas por la concavalina A y fijada a ---- Sepharose para sintetizar anticuerpos. En esta situación, un incremento en la síntesis intracelular de proteínas, incluyendo la IgM, se puede demostrar antes de 10-14 horas y la iniciación de la secreción en - menos de 24-30 horas. La forma principal de la IgM en este experimento fue el monomero 7S con pequeñas cantidades de IgM 19S polimerizada. La IgM 7S contiene sólo pequeñas cantidades de carbohidrato, mientras que la IgM 19S contiene el complemento entero de oligosacaridos. En con--- traste con los tumores murinos de células plasmáticas, las células de los enfermos con Macroglobulinemia, por lo general, contienen la mayor parte de IgM intracelular en forma de 19S. En la mayoría de los sistemas estudiados, la IgM aparece en el medio, en su forma inicial 19S; - por lo tanto, la polimerización parece ser un proceso que incluye la - adición de cadenas J y grupos terminales de carbohidrato inmediatamente antes de su liberación de la célula o coincidiendo con aquélla.

La subclase principal de las IgA en el hombre es sintetizada de - manera análoga a la de la IgG, es decir H_2L_2 con enlaces disulfuro entre las cadenas H y las cadenas L y entre las dos cadenas H. Parece -- que HL constituye el principal precursor en el ensamblado. La segunda subclase de IgA no tiene enlaces disulfuro entre las cadenas H y las - cadenas L. En su lugar, las cadenas L están ligadas entre sí por covalencia. Se ha descrito una tercera subclase en la cual se forman enlaces HL pero no existen enlaces HH, con el resultado, de que la IgA sérica existe en una forma $(HL)_2$ no covalentemente enlazada que se disocia con facilidad en presencia de agentes desnaturizantes. La evidencia sugiere que aún cuando se observa polimerización molecular en el - suero de la IgA, la principal forma intracelular de IgA es el monomero

H₂L₂. Es probable, que la polimerización y la adición de la cadena J - ocurra inmediatamente antes de la secreción por la célula.

Los carbohidratos, son añadidos a las moléculas de inmunoglobulinas en una sucesión ordenada comenzando con la N-acetilglucosamina, la cual enlaza el oligosacarido al residuo apropiado de aminoácidos en la cadena polipeptídica. Las hexosatrtransferasas añaden los azúcares apropiados a la cadena de carbohidratos; los carbohidratos añadidos incluyen los grupos manosa, galactosa, ácido sialico y finalmente fucosa. - Aunque por lo general se considera que el carbohidrato facilita la secreción inicial de las moléculas de inmunoglobulinas por la célula y - su contacto subsiguiente con las membranas, el carbohidrato no resulta esencial para la secreción por la célula ya que las cadenas L que no - poseen carbohidratos, pueden ser excretadas solas.

Se ha logrado penetrar considerablemente en el control genético - de la síntesis de las inmunoglobulinas mediante el estudio de los tumores humanos que sintetizan formas mutantes de inmunoglobulinas. Estas pueden ser enfermedad de cadenas pesadas o ejemplos de Mieloma Múltiple, en los cuales, sólo se sintetizan fragmentos de cadenas L. Con el estudio de las células plasmáticas murinas, que experimentan mutaciones (41) se han obtenido considerables conocimientos sobre los mecanismos de la biosíntesis de las inmunoglobulinas. Tales mutaciones suceden de manera espontánea in vivo, pero los estudios de laboratorio han identificado las células que experimentan mutación medido su frecuencia y definido los factores que quizás influyan sobre la velocidad de - las mutaciones. Las variantes son bloqueadas en diferentes etapas de - la síntesis, ensamblado y secreción de las inmunoglobulinas y estos -- bloqueos afectan más comúnmente las cadenas L.

En los tumores murinos de células plasmáticas, el medicamento citotóxico Melfalán se acompañó de las tasas más altas de mutación. Rara vez se encuentra un enfermo con células plasmáticas anormales y otras

manifestaciones de Mieloma Múltiple, en quien no se descubran proteínas anormales en el suero o en la orina. Los estudios con inmunofluorescencia pueden descubrir las inmunoglobulinas intracelulares en estas células plasmáticas. Parece ser, que existe un defecto en la biosíntesis en estos enfermos que da por resultado la producción de una forma de inmunoglobulina que no es secretada por la célula.

Los desórdenes en la síntesis de las inmunoglobulinas se exponen de forma esquemática en el cuadro número (5).

METABOLISMO DE LAS INMUNOGLOBULINAS.-

La estimulación antigénica proveniente de muchas fuentes es un factor clave para la síntesis continua de inmunoglobulinas en los sujetos normales. En los animales criados en medios exentos de microorganismos se encuentran tasas muy bajas de síntesis de inmunoglobulinas. En el otro extremo, se encuentra aumento en la síntesis de las inmunoglobulinas en los enfermos con infección crónica. Aunque es obvio que la estimulación antigénica está asociada con el aumento en la síntesis de las inmunoglobulinas, la manera como un mecanismo de infección controla esta síntesis, es desconocida. A medida que la infección va desapareciendo, el patrón normal para la síntesis de las inmunoglobulinas disminuye de manera gradual. Posibles indicios de estos mecanismos de control son proporcionados por los estudios recientes que demuestran factores de bajo peso molecular, asociados con ciertos tipos de células plasmáticas malignas o de linfocitos. Estos factores parecen suprimir la síntesis de inmunoglobulinas normales.

Ni los factores de control, ni los sitios reales del catabolismo de las inmunoglobulinas (42) (43) han sido establecidos de manera positiva. Parece claro que es esencial una región Fc intacta para su catabolismo normal. En los estudios de transporte de las moléculas de IgG el fragmento Fc podría inhibir competitivamente el transporte de molé-

culas completas de IgG. Se desconoce qué zona del fragmento Fc controla el catabolismo de toda la molécula. La eliminación de los grupos de ácido sialico o la reducción de los enlaces disulfuro intercatenarios no parecen alterar la velocidad del catabolismo de las moléculas de IgG. Varios estudios apoyan el punto de vista de que las moléculas de inmunoglobulinas se encuentran unidas a receptores y que esta unión influye importantemente en el catabolismo de la molécula. El punto de vista principal es que la unión a estos receptores protege la inmunoglobulina del catabolismo y constituye una etapa necesaria para la captación celular específica o el transporte de la molécula unida. Por lo tanto, en esta hipótesis se piensa que las moléculas no unidas de IgG son susceptibles de ser catabolizadas. Poco es lo que se sabe en relación a los detalles del catabolismo de las inmunoglobulinas IgA, IgD e IgM.

Las investigaciones han atribuido un papel principal al sistema digestivo en este proceso catabólico. Los receptores Fc para las IgG fueron identificados en las microvellosidades de las células de la mucosa intestinal. Se postula la existencia de receptores semejantes sobre otras membranas del organismo que requieren el transporte de las inmunoglobulinas. La IgG se transmite normalmente a través de la placenta de la madre al feto, especialmente en el tercer trimestre del embarazo siendo éste, un proceso activo, ya que en muchos casos, la concentración de IgG en el suero del feto es mayor que la concentración sérica en la madre.

En los enfermos portadores de gammapatía monoclonal se encuentran aumentadas las confluencias plasmáticas y corporales de la inmunoglobulina G (IgG) y existe de la misma forma un aumento en la velocidad de la síntesis de la IgG (44). La tasa de recambio aumentó en todos los sujetos estudiados y la vida media en el plasma se halló acortada en la mayoría de los enfermos. Las concentraciones elevadas de IgG monoclonal son debidas principalmente al aumento de su síntesis y no a la

supervivencia prolongada de la IgG con catabolismo reducido. La síntesis de IgG no se correlacionó con el diagnóstico clínico ni con la gravedad de la enfermedad en cada paciente individual.

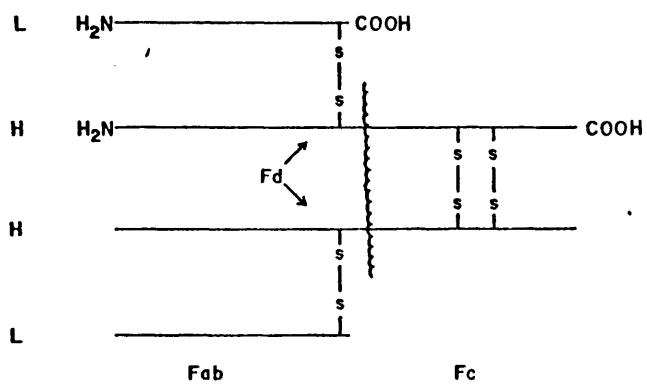


FIG. 1.- REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA MOLECULA DE IgG.
 TOMADO DE KYLE R.A.: INMUNOGLOBULINS AND SYNDROMES
 ASSOCIATED WITH MONOCLONAL GAMMOPATHIES IN TICE'S
 PRACTICE OF MEDICINE, VOL.1 CHAP.48 , 1977

CUADRO Nº 1

21²

Igs	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
SINONIMIAS	$\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$ γG	β_2, β_2A δ_1A, δ_2A	μ_1, μ_2 μM	δD	ϵE
CADENAS PESADAS	Gamma (γ)	Alpha (α)	Mu (μ)	Delta (δ)	Epsilon (ϵ)
CLASES Y SUBCLASES	IgG ₁ , IgG ₂ IgG ₃ , IgG ₄	IgA ₁ , IgA ₂	IgM ₁ , IgM ₂	?JA+LA	
CADENAS LIGERAS	K	K	K	K	K
TIPOS	λ	λ	λ	λ	λ
FORMULA MOLECULAR	$\gamma_2 \lambda_2$ $\gamma_2 K_2$	$\alpha_2 \lambda_2^+$ $\alpha_2 K_2^+$	$(\mu_2 \lambda_2)^5$ $(\mu_2 K_2)^5$	$\delta_2 \lambda_2$ $\delta_2 K_2$	$\epsilon_2 \lambda_2$ $\epsilon_2 K_2$
NOMENCLATURA	IgGK IgG λ	IgAK IgA λ	IgMK IgM λ	IgDK IgD λ	IgEK IgE λ

CLASIFICACION DE LAS INMUNOGLOBULINAS HUMANAS.

† PUEDEN FORMAR POLIMEROS.

TOMADO DE KYLE R.A : INMUNOGLOBULINS AND SYNDROMES ASSOCIATED WITH MONOCLONAL GAMMOPATHIES IN TICE'S PRACTICE OF MEDICINE, VOL.1 CHAP.48, 1977.

SUBCLASES DE IgG

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
NORMAL % DE IgG	64-70	23-28	4-7	3-4
Mgr/dl.	8,1	3,6	0,7	0,4
P. MOLECULAR	54.200	54.200	60.950	54.200
T $\frac{1}{2}$ DIAS	21	21	7,8	21
MARCADORES DE LINFOCITOS	SI	NO	SI	NO
REACCION CON LA PROTEINA A DEL ESTAFILOCOCO	SI	SI	NO	SI

TOMADO DE KYLE R.A.: MAYO CLIN. PROC., NOV. 1978

CUADRO N°3

274

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
MOVILIDAD ELECTROFORETICA	γ ó α_2	γ ó β	γ	γ ó β	γ ó β
COEFICIENTE DE SEDIMENTACION	6,75	7-155 ⁺	195 (75, 225,355)	75	85
PESO MOLECULAR	150.000	170.000 500.000 ⁺	900.000	180.000	200.000
CARBOHIDRATOS %	2,6	5-10	9,8	10-12	11
VIDA MEDIA (Dias)	23	5,8	5,1	2,8	2,3
CONCENTRACION SERICA mgr/100ml	1.000	200	120	3	0,05
INMUNOGLOBULINA TOTAL EN EL SUERO EN %	74	21	5	0,2	0,002
POOL EN EL ESPACIO INTRAVASCULAR %	45	42	76	75	51
POOL INTRAVASCULAR CATABOLIZADO/Dia %	6,7	25	18	37	89
SINTESIS NORMAL EN mgr/Kg/Dia	33	24	6,7	0,4	0,02
FIJACION DEL COMPLEMENTO	SI	NO	SI	NO	NO
TRANSFERENCIA PLACENTARIA	SI	NO	NO	NO	NO

PROPIEDADES DE LAS INMUNOGLOBULINAS HUMANAS.

TOMADO DE KYLE R.A., BIEGER R.C., GLEICH G.L.: DIAGNOSIS OF SYNDROMES ASSOCIATED WITH HYPERGLOBULINEMIA. MED. CLIN. NORTH. AM. 54 :918, 1970

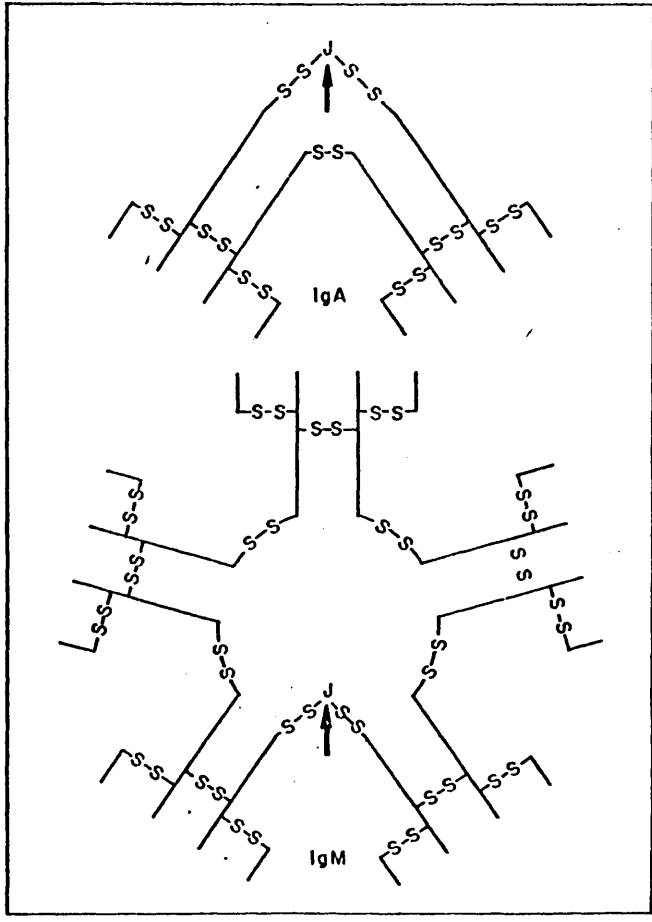


FIG. 2.- MODELO DE UNION DE LA PIEZA J A LOS MONOMEROS DE IgA e IgM PARA DAR LUGAR A LA POLIMERIZACION.
TOMADO DE KOSHLAND M.: STRUCTURE AND FUNCTION OF THE J CHAIN. ADV. INMUNOL.: 20,41, 1975.

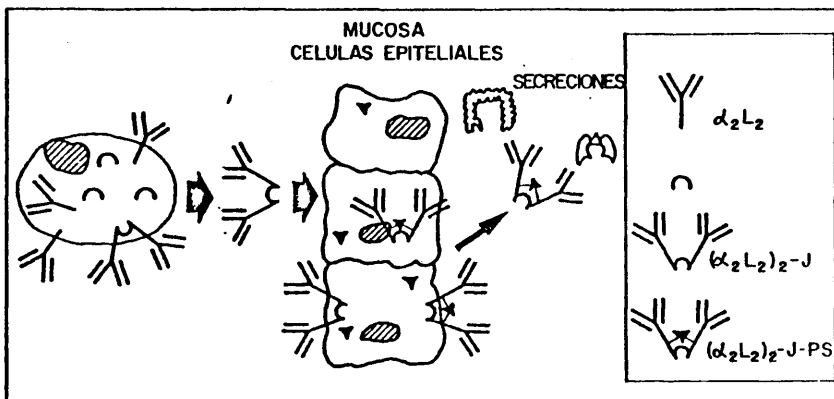


FIG.3- SINTESIS DE IgA, CON ESPECIAL ATENCION A LA IgA SECRETORA.

TOMADO DE POGER M., LAMM M.: LOCALIZATION OF FREE AND BOUND SECRETORY COMPONENT IN HUMAN INTESTINAL EPITHELIAL CELLS. A MODEL FOR THE ASSEMBLY OF SECRETORY IgA. JOURN. EXP. MED, 139,629, 1974.

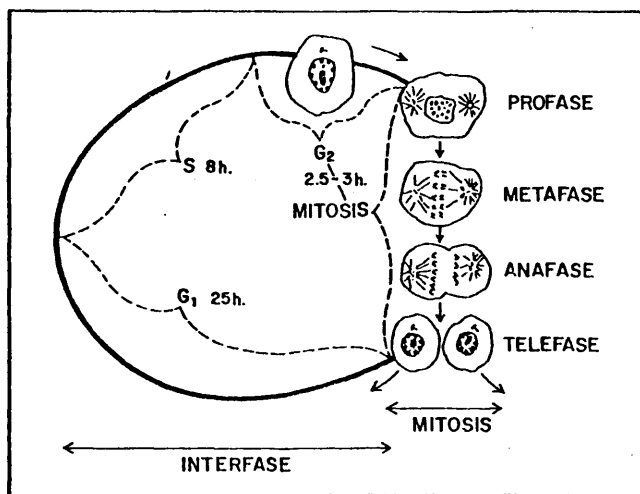


FIG. 4- FASES DEL CICLO CELULAR.

TOMADO DE YOUNG : J. CELL BIOL 14 : 357, 1962

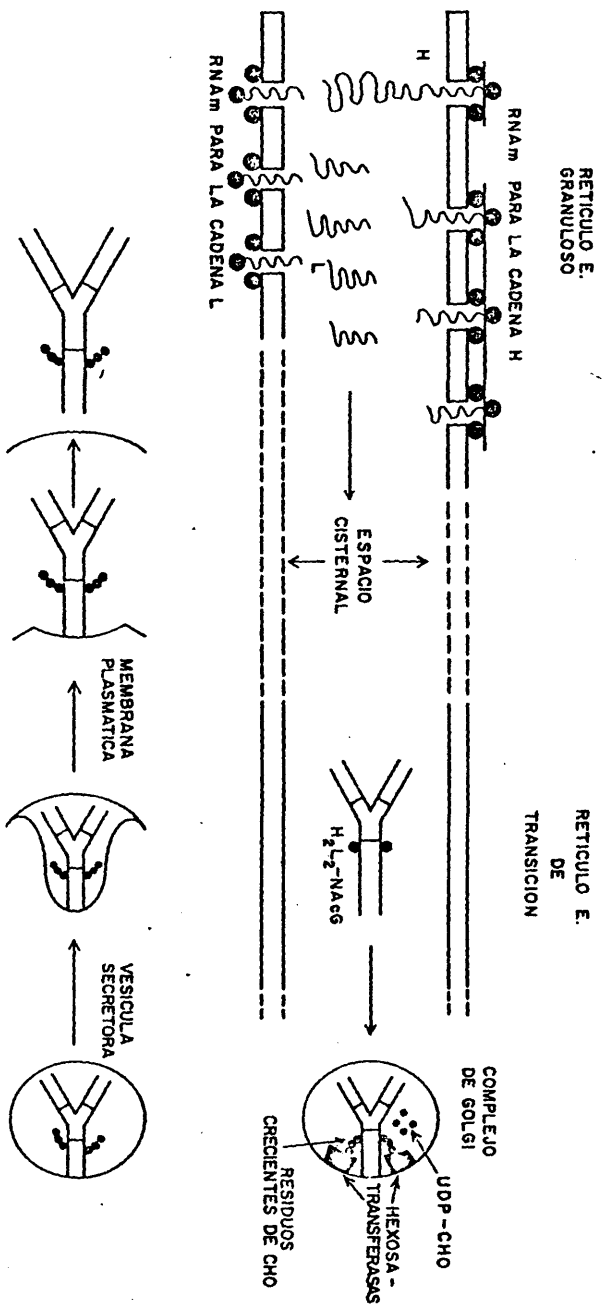


FIG. 5.- REPRESENTACION DIAGRAMATICA DE LA BIOSINTESIS Y ENSAMBLADO DE UNA MOLECULA DE INMUNOGLOBULINA.
TOMADO DE HUGH FUDENBERG H : BASIC CLINICAL IMMUNOLOGY CHAP.9, 1976

1)	H + L	→	HL
	HL + HL	→	H ₂ L ₂
2)	H + L	→	HL
	HL + H	→	H ₂ L
	H ₂ L + L	→	H ₂ L ₂
3)	H + L	→	HL
	HL + L	→	HL ₂
	HL ₂ + H	→	H ₂ L ₂
4)	H + H	→	H ₂
	H ₂ + L	→	H ₂ L
	H ₂ L + L	→	H ₂ L ₂
5)	L + L	→	L ₂
	L ₂ + H	→	HL ₂
	HL ₂ + H	→	H ₂ L ₂

VIAS DE ENSAMBLADO COVALENTE DURANTE LA BIOSINTESIS DE LAS INMUNOGLOBULINAS.

TOMADO DE HUGH FUNDERBERG H: BASIC CLINICAL IMMUNOLOGY CHAP.9, 1976.

DESORDEN	ANORMALIDAD SERICA
I) SINTESIS EQUIMOLAR : H=L	→ PROTEINA HOMOGenea EN SUERO
II) SINTESIS NO EQUIMOLAR : L>H	
Ⓐ EXCESO DE L	→ PROTEINA HOMOGenea EN SUERO + PROTEINA DE BENCE - JONES
Ⓑ SOLO L	→ PROTEINA DE BENCE - JONES
III) NO SINTESIS : H +L	→ HIPOGAMMAGLOBULINEMIA
IV) MUTACIONES ESTRUCTURALES:	
Ⓐ ENF. CADENAS PESADAS	→ BANDA O PICO EN LA E.F. SERICA
Ⓑ 1/2 MOLECULAS	→ PROTEINA HOMOGenea EN SUERO
Ⓒ MIELOMAS CON DELECIION	→ PROTEINA HOMOGenea EN SUERO

DESORDENES EN LA SINTESIS DE LAS Igs.

AUTOR : E.C. FRANKLIN , 1977

IV - DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICAS

DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICASCONCEPTO.-

Aunque en un principio se pensó que las proteínas monoclonales - eran anormales, estudios recientes han confirmado que son sólo el aumento selectivo de las inmunoglobulinas normales. Mientras que la IgG normal en el suero humano es electroforéticamente heterogénea y está distribuida desde la región γ hasta la región α_2 , las proteínas monoclonales se encuentran localizadas estrechamente en su migración -- electroforética. Kunkel (45) mostró que cada tipo de cadena ligera y cada subclase de cadena pesada en las proteínas monoclonales tienen -- su contrapartida entre las inmunoglobulinas normales y también entre los anticuerpos. Después del descubrimiento de los dos tipos de cadena ligera K y λ en las proteínas del Mieloma con un índice aproximado de 2/1, estas mismas cadenas fueron detectadas con el mismo índice entre las inmunoglobulinas normales. Similarmente las subclases de -- IgG, IgA e IgD fueron descubiertas entre las proteínas del Mieloma y fueron encontradas como componentes del suero normal. Estas identificaciones han debilitado gradualmente el pensamiento de que las proteínas monoclonales del Mieloma Múltiple y Macroglobulinemia son anormales y se ha sugerido que ellas representan la sobreproducción de un -- producto normal por una célula anormalmente funcionante. Sin embargo, algunas de las cadenas pesadas encontradas en las enfermedades de cadena pesada muestran delección significativa de los aminoácidos por -- lo que éstas son consideradas como inmunoglobulinas anormales.

Incluso los determinantes antigénicos también llamados especificidades antigénicas individuales (8) que se creía que estaban asociados sólo con las proteínas del mieloma, se han mostrado, que aparecen en los anticuerpos o inmunoglobulinas normales. Inversamente, estudios de anticuerpos altamente purificados han revelado una homogeneidad muy cercana a la vista en las proteínas monoclonales (46).

La posibilidad expresada por Kunkel (45) de que las proteínas del mieloma son anticuerpos individuales y son productos de una célula plasmática individual, naciendo de un clono único de células malignas ha sido confirmado por su actividad de combinación con el antígeno (47).

La actividad de anticuerpos monoclonales en el hombre ha sido asociada con la enfermedad de crioaglutininas, así como también con una amplia variedad de antígenos bacterianos, incluyendo estreptolisina O, proteína estafilocócica, Klebsiella y Brucella (48). Es casi seguro, que la mayoría de las proteínas monoclonales humanas tienen actividad de anticuerpo, además se ha postulado que todas las proteínas del Mieloma pueden tener actividad de anticuerpo (49). El conjunto normal de moléculas de IgG comprende pequeños aumentos de proteínas altamente homogéneas derivadas de clones de células plasmáticas diversas, o sea, que su origen es policlonal.

Si un clono único escapa al control normal, multiplicándose y reproduciéndose excesivamente, sintetizará un exceso de proteína con una clase y subclase de cadena pesada y un tipo único de cadena ligera. Esta proteína monoclonal a menudo está asociada con un proceso neoplásico. Experimentos realizados con antisueros frente a cadenas ligeras han mostrado que prácticamente todas las células plasmáticas contienen cadenas ligeras K ó λ , pero no ambas.

Normalmente, las células plasmáticas producen cadenas pesadas y un exceso discreto de cadenas ligeras que se eliminan a través de la orina. En el Mieloma IgG, alrededor del 75% de los enfermos tienen un exceso de cadenas ligeras que son excretadas por la orina o catabolizadas en el túbulo renal (proteinuria de Bence-Jones) (38). En algunos casos de Mieloma no se producen cadenas pesadas a partir de la célula plasmática y sólo se detectan cantidades excesivas de cadenas ligeras (enfermedad de cadenas ligeras) (50). Finalmente, las células plasmáticas en una pequeña proporción de pacientes con Mieloma

no secretan ni cadenas ligeras ni cadenas pesadas, debido a una insuficiencia en la producción o a un bloqueo en la secreción; estas células son llamadas no secretoras (51). A parte de estos patrones, en -- muy pocos casos, sólo un fragmento de la cadena ligera o pesada es -- producido por la célula. En algunos casos de la llamada enfermedad de cadena pesada, porciones de las cadenas pesadas de IgG, IgA o IgM pueden estar presentes en el suero o en la orina dando lugar a las enfermedades de cadena pesada α , γ y μ .

ANÁLISIS DE LOS MÉTODOS DE LABORATORIO UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO DE LAS DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICAS.-

El análisis de las proteínas monoclonales en suero y orina requiere un método de screening sensible y rápido para detectar la posibilidad de una proteína monoclonal y un ensayo específico para identificar si se trata de una clase de cadena pesada o un tipo de cadena ligera; la electroforesis sobre membranas de acetato de celulosa es el mejor test utilizado. Después de esta técnica la inmunoelectroforesis con antisueros monoespecíficos debe ser empleada para confirmar la presencia de una proteína monoclonal y para distinguir la clase de inmunoglobulina y el tipo de cadena ligera presente.

La electroforesis de las proteínas del suero debe ser hecha en todos los casos en los cuales, el Mieloma Múltiple, la macroglobulinemia o la amiloidosis sean sospechados. Además, la electroforesis está indicada en cualquier paciente con debilidad o fatiga inexplicada, -- anemia, elevación de la velocidad de sedimentación, dolor lumbar, osteoporosis, lesiones osteolíticas o fracturas, deficiencia de inmunoglobulinas, hipercalcemia, proteinuria de Bence-Jones, insuficiencia renal o infecciones recurrentes. La electroforesis de las proteínas del suero debe también ser realizada en pacientes con neuropatía periférica, síndrome del tunel carpiano, insuficiencia cardiaca congestiva refractaria, síndrome nefrótico, hipotensión ortostática o síndro-

me de malabsorción intestinal, ya que una banda localizada o un pico - alto de base estrecha en la electroforesis puede fuertemente sugerir - la existencia de amiloidosis primaria.

Una de las ventajas de la membrana de acetato de celulosa sobre - el papel de filtro para la electroforesis, es la reducción en la absor - ción del suero sobre el medio de soporte. La absorción reducida hace - posible usar una muy pequeña cantidad de suero (0,7 microlitros) y tam - bién resulta en menor borramiento y en una separación más nítida de -- las distintas bandas proteicas. Sobre el acetato de celulosa, la α_1 - globulina es muy bien separada de la albúmina, mientras que sobre el - papel de filtro la α_1 globulina es encontrada en el borde del pico de la albúmina. Tal separación nítida, prueba una sensibilidad mayor para el acetato de celulosa lo cual es una ventaja muy importante. Además - en algunos tipos de mieloma, macroglobulinemia y gammapatía monoclonal de significación desconocida, están asociadas con bandas discretas o - picos que pueden ser muy pequeños, particularmente en la gammapatía mo - noclona de significación desconocida, amiloidosis y en enfermedad de cadena pesada y que por lo tanto no pueden ser detectados sobre el pa - pel de filtro. Otra ventaja de la membrana de acetato de celulosa so - bre el papel de filtro es que la separación de las proteínas ocurre en menos de 15 minutos en contraste con las 15 horas que se necesitan -- cuando se utiliza papel de filtro.

ELECTROFORESIS DEL SUERO.-

La electroforesis sérica se debe realizar sobre membrana de aceta - to de celulosa. Las inmunoglobulinas pueden aparecer desde la región - α_2 hasta la región γ . El fibrinógeno, aparece como una banda discre - ta entre el pico de la β y γ . Por ello, uno debe examinar la muestra para coágulo cuando una banda pequeña localizada sea vista en el área $\beta - \gamma$. Un coágulo puede sugerir que el plasma había coagulado des - pués de que la electroforesis hubiese sido hecha. Si no se ve coágulo se debe añadir trombina a la muestra la cual produce coágulo si el fi -

brinógeno está presente. Si la banda desaparece cuando la electroforesis es repetida, esto prueba la presencia del fibrinógeno. Las inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM, IgD e IgE) constituyen el componente γ , - pero ellas también pueden ser encontradas en la región β y la IgG se puede extender hasta la región α_2 globulina.

Un descenso en la albúmina y un aumento de las fracciones α_1 y α_2 y ocasionalmente en la región γ globulina, son hallazgos no específicos vistos en procesos inflamatorios (inflamación tisular y destrucción de tejidos) tal como infecciones y enfermedad maligna metastásica. Los picos anchos de gammaglobulina con bordes muy separados - son vistos en infecciones crónicas, enfermedad del tejido conectivo y enfermedades del hígado. Raramente dos bandas de albúmina (bisalbuminemia) son encontradas; ésta es una anomalía familiar que no produce síntomas.

La hipogammaglobulinemia está caracterizada por un neto descenso en el componente gamma (inferior a 0,6 g/dl) y el diagnóstico debe ser confirmado, cuantificando el nivel de inmunoglobulinas. La hipogammaglobulinemia puede ser congénita (tipo Bruton) o adquirida (idiotópica o relacionada con síndrome nefrótico, Mieloma Múltiple, amiloidosis, L.L.C., linfoma o tratamiento con corticoesteroides).

Un aumento discreto en la banda β asociado con un descenso en la banda γ sugiere el diagnóstico de Mieloma Múltiple o amiloidosis. En este caso, la proteinuria de Bence-Jones está a menudo presente y la práctica de inmunoelectroforesis en suero y orina está indicada.

Un gran descenso en la fracción α_1 globulina es generalmente debido a una deficiencia congénita de α_1 antitripsina y puede estar asociada clínicamente con infecciones pulmonares recurrentes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hepatitis crónica agresiva o cirrosis hepática constituida.

Una proteína monoclonal, generalmente aparece en la electroforesis sérica como un pico estrecho o como una banda densa y discreta en la región γ , β ó α_2 sobre la membrana de acetato de celulosa. Por el contrario, un exceso de inmunoglobulinas policlonales (teniendo uno o más tipos de cadena pesada con ambos tipos K y λ de cadenas ligeras) hacen un pico de base ancha o banda ancha que generalmente se encuentra limitado a la región γ . Ocasionalmente, un suero contiene dos -- proteínas monoclonales de diferentes clases de inmunoglobulinas y a esta situación se la denomina gammapatía biclonal. Un pico homogéneo es más sugestivo de gammapatía monoclonal de significación desconocida, Mieloma Múltiple o macroglobulinemia; pero picos monoclonales pueden también aparecer en la amiloidosis primaria y en el linfoma. Otras condiciones, pueden sugerir la existencia de una proteína monoclonal en el suero. Por ejemplo, un pico ancho y grande en la región α_2 globulina puede representar complejos libres de hemoglobina-haptoglobina -- resultantes de hemolisis. El suero en estas condiciones toma una coloración rojiza y debe sugerir la posibilidad de hemolisis, en este caso, otras muestras de suero del paciente deben ser obtenidas. Grandes aumentos de transferrina en pacientes con anemia por deficiencia de -- hierro pueden presentarse como una banda localizada en la región β , esto, puede sugerir la existencia de una proteína monoclonal. En el -- síndrome nefrótico el aumento de α_2 ó β_1 globulinas (o ambas) puede simular una banda monoclonal de movilidad rápida, siendo confundido -- con una proteína monoclonal. Sin embargo, la asociación de un nivel -- bajo de albúmina e hipogammaglobulinemia debe orientarnos hacia el -- diagnóstico correcto; además, el patrón urinario está constituido fundamentalmente de albúmina.

Las infecciones crónicas, enfermedades del tejido conectivo y en fermedades crónicas del hígado, muestrana menudo un pico de gammaglobulina de base ancha (policlonal), particularmente en la hepatitis -- crónica activa, en la cual, el componente gamma puede ser de 4-5 g/dl o más. Esta gran banda de gammaglobulina puede ser confundida con la

vista en el mieloma múltiple o en la macroglobulinemia. Ocasionalmente, procesos linfoproliferativos tienen un aumento policlonal de las inmunoglobulinas y por otra parte una proteína monoclonal puede aparecer en la membrana de acetato de celulosa con base ancha induciéndonos a pensar erróneamente que se trataría de una gammapatía policlonal; cuando esto ocurre suele ser debido a agregados de polímeros de la inmunoglobulina presente (generalmente IgA) debiendo realizarse en todos estos casos inmunolectroforesis.

Debemos señalar, que un enfermo puede tener una proteína monoclonal en el suero y la concentración total de las proteínas y el valor de la β y de la γ globulina encontrarse dentro de los límites normales. Un pequeño pico monoclonal puede encontrarse oculto entre la región $\beta - \gamma$ y no visualizarse en el patrón electroforético. De hecho, el patrón electroforético en acetato de celulosa puede ser normal y existir una proteína monoclonal, por ejemplo, una cadena ligera monoclonal (proteinemia de Bence-Jones) es vista raramente mediante electroforesis sérica. En los casos de Mieloma IgD, la proteína monoclonal aparece como una pequeña banda muy poco evidente y a menudo en la enfermedad de cadena pesada no se evidencia la proteína monoclonal en la electroforesis sérica. De hecho, el patrón electroforético del suero es normal en la mitad de los casos de enfermedad de cadena pesada α y una banda ancha pequeña en la región $\alpha_2 - \beta$ es la única anomalía electroforética en los casos restantes de enfermedad de cadena pesada α . La característica banda estrecha o pico estrecho en la electroforesis sugestivo de una proteína monoclonal es raramente visto en la enfermedad de cadena pesada. En la enfermedad de cadena pesada μ , el patrón electroforético es normal salvo que existe hipogammaglobulinemia y la aparición de una banda estrecha en estos casos es excepcional. En la enfermedad de cadena pesada γ , se ve generalmente una banda localizada en el área $\beta - \gamma$, pero a menudo es ancha, heterogénea y es más sugestiva de una proteína policlonal que de una monoclonal. Por ello, un valor normal para los componentes del patrón electroforético

tico puede aún contener una proteína monoclonal, de aquí, que la inmunoelectroforesis sea crucial para el diagnóstico.

INMUNOELECTROFORESIS DEL SUERO.-

La inmunoelectroforesis es necesaria para la identificación de la proteína monoclonal y para la determinación de la clase de cada cadena pesada y del tipo de cadena ligera. Debe ser realizada cuando una banda estrecha o pico estrecho es encontrado en la electroforesis de acetato de celulosa o cuando el Mieloma Múltiple, macroglobulinemia, amiloidosis o desorden relacionado es sospechado por el clínico. Es particularmente útil para determinar cuando un plasmocitoma solitario está localizado o no. Después de terapia con radiación tumoricida, una proteína monoclonal de un plasmocitoma solitario desaparece; su persistencia tras la terapéutica dicha sugiere la existencia de Mieloma Múltiple difuso.

La inmunoelectroforesis, es esencial para diferenciar un aumento policlonal de un aumento monoclonal. Antisuero monoespecífico debe ser utilizado para determinar si el aumento de una clase de cadena pesada está asociado con un aumento de cadenas ligeras K ó λ si el exceso proteico es monoclonal; por el contrario si el exceso proteico es policlonal existirá un aumento de ambos tipos de cadenas ligeras. El aumento policlonal de las inmunoglobulinas está generalmente asociado con un proceso inflamatorio tal como infecciones crónicas, enfermedades del tejido conectivo o enfermedades crónicas del hígado. Por otra parte, una proteína monoclonal suele estar asociada con un proceso neoplásico o potencialmente maligno.

En el Mieloma Múltiple, un antisuero monoespecífico frente a cadenas pesadas γ , α , δ ó ϵ y frente a cadenas ligeras K ó λ produce un arco de precipitación frente a la cadena pesada que se trate y otro arco similar de la cadena ligera K ó λ . La mayoría de los arcos de pre-

cipitación se forman dentro de las primeras 24 horas.

En la macroglobulinemia, antisuero μ y antisuero K ó λ produce un arco de precipitación denso localizado. A veces, la proteína IgM monoclonal no muestra una anormalidad acompañante de cadenas ligeras y — ello sugiere una enfermedad de cadena pesada μ . Sin embargo, la adición de un agente reductor tal como el ditiotreitol o el mercapto-etanol en el suero produce una preparación que puede generalmente ser — identificada como proteína monoclonal IgM K ó IgM λ , cuando la inmunoelectroforesis es repetida. Para estas situaciones puede ser de utilidad la Inmunofijación (52) (53).

En la inmunoelectroforesis de una IgG monoclonal, la anormalidad en el arco de precipitación, puede ocurrir desde la región γ a la región α_2 . El aumento policlonal de una inmunoglobulina específica a menudo produce un arco de precipitación localizado de la cadena pesada — pero no se ve arco de precipitación localizado correspondiente a la cadena ligera única, debido a que ambas cadenas ligeras K y λ están aumentadas. Se debe encontrar un aumento localizado de solamente un arco de cadena ligera antes de aceptar la existencia de una proteína monoclonal.

El patrón electroforético de las proteínas del suero a pesar de — que exista una proteína monoclonal puede aparecer de base ancha; este hallazgo sugiere un aumento policlonal de las inmunoglobulinas, pero — esto no es así a veces, dado que ocasionalmente proteínas monoclonales por ejemplo la IgA, producen polímeros que ensanchan la base de inmunoglobulinas en la electroforesis del suero simulando un aumento policlonal difuso de las inmunoglobulinas. En estos casos la inmunoelectroforesis del suero demuestra la existencia de un arco de precipitación — con antisuero monoespecífico frente a la IgA y arco de precipitación — frente a cadenas ligeras K, lo que demuestra la existencia de una proteína monoclonal IgA K; lo mismo puede suceder con la IgM en la macroglobulinemia.

Valores cuantitativamente normales de inmunoglobulinas no excluyen — una proteína monoclonal pequeña particularmente de la clase IgG ya — que una proteína monoclonal pequeña puede representar la mayor parte del nivel de IgG, la cual se puede encontrar dentro de los límites — normales en su cuantificación.

La inmunolectroforesis es crucial para el diagnóstico de confir- mación de una proteína monoclonal en el suero.

Todos los sueros deben ser investigados ante la posibilidad de — la existencia de una proteína monoclonal IgD o IgE. Esta investiga— ción es absolutamente esencial cuando los arcos de precipitación de K ó λ son vistos sin una anomalía acompañante de los arcos de precipitación frente a IgG, IgA ó IgM. En estos casos, se debe usar inmuno difusión, usando antisueros IgD e IgE enfrentados al suero del pacien te. Si el enfermo tiene un aumento en la concentración de IgD o IgE — se formarán densas bandas de precipitación. Todos los sueros que han formado una banda de precipitación son entonces estudiados por inmuno electroforesis con antisuero monoespecífico frente a IgD e IgE y fren te a cadenas ligeras K y λ , ya que la mayoría de los sueros no produ cen reacción con la inmunodifusión.

INMUNODIFUSION RADIAL.-

La cuantificación de las inmunoglobulinas (54) es de gran ayuda en el diagnóstico de las gammapatías monoclonales. En este método, el antisuero frente a la inmunoglobulina específica (IgG, IgA, IgM e IgD) es mezclado con agar y colocado sobre una placa. Concentraciones cono cidas de una inmunoglobulina específica y el suero problema son colo cados en los pozos. Ya que el tamaño de la zona de precipitación que se forma es proporcional a la cantidad de antígeno en el suero inves tigado, la zona de precipitación que se produce es medida y comparada con standar d conocidos. Altas concentraciones de inmunoglobulinas pue

den producir complejos solubles invisibles que conducen a la apariencia de que no existen inmunoglobulinas, teniendo que hacer una dilución previa del suero para hacer visible la zona de precipitación.

La IgM de bajo peso molecular (7S) produce un valor elevado falso de IgM debido a que su índice de difusión es mayor que el de la IgM (19S) el cual es usado como standard. Igualmente la IgA polimérica puede producir valores bajos falsos ya que el standard consta de IgA (7S).

Si el laboratorio realiza un gran número de test cuantitativos para las inmunoglobulinas, un sistema automatizado de inmunoprecipitinas es más práctico. En este sistema, el grado de turbidez producido por la interacción antígeno-anticuerpo es medido por NEFELOMETRIA en la región próxima a ultravioletas. Ya que la técnica NEFELOMETRICA al contrario que la inmuno-difusión radial no es afectada por el tamaño molecular del antígeno se puede medir IgM 7S (55).

INMUNOFIJACION.-

Es realizada colocando el suero del paciente en un pozo con un 1% de agarosa. Se realiza previamente la electroforesis sérica y un trocito de papel de filtro impregnado con antisuero monoespecífico es colocado sobre la banda electroforética a estudiar durante 15 minutos. La presencia de una proteína monoclonal se indica por una banda localizada estrecha cuando la agarosa es teñida con azul Coomassie. El proceso es repetido para cada cadena ligera o pesada estudiada -- (52).

VISCOSIMETRIA SERICA.-

Se recomienda estudio de viscosimetría sérica en todo paciente con $> 2\text{g/dl}$ de IgM monoclonal o cuando existe $> 4\text{ g/dl}$ de IgA o IgG

monoclonal y en todos los pacientes con hemorragia oronasal, visión borrosa o síntomas neurológicos sugestivos de síndrome de hiperviscosidad. Un viscosímetro tipo Ostwald 100 es un instrumento satisfactorio para este propósito. Agua destilada y suero, separadamente se hacen fluir a través de un tubo capilar y el cociente de la duración del flujo (suero/agua) es el valor de la viscosidad plasmática. Para el suero normal el valor es de 1,6 o menos, pero los síntomas de hiperviscosidad son raros a menos que el valor sea >4 . De hecho, algunos pacientes con un valor de 10 o más, no tienen síntomas de hiperviscosidad. El viscosímetro de Wells-Brookfield es preferido ya que es más seguro y requiere menos cantidad de suero (1 c.c.). Además — las determinaciones pueden ser hechas con mucha más rapidez que con el viscosímetro de Ostwald 100, especialmente si la viscosidad del suero es alta. Según este método, todos los valores por encima de — 1,8 centipoises son patológicos.

CRIOGLOBULINAS.—

Cada muestra sérica debe ser investigada para crioglobulinas. — El suero centrifugado y fresco guardado a 37° C. es colocado en un tubo hematocrito de Wintrobe e incubado a 0° C. en un baño frío o en una habitación fría durante 24 horas. Si un precipitado o gel es visto, el tubo es calentado a 37° C. durante 30 minutos. La disolución del precipitado indica la existencia de una crioglobulina. Posteriormente el tubo es colocado en un baño frío durante otras 24 horas y — después centrifugado a 1° C. y el criocrito es leído e interpretado. Sorprendentemente algunos pacientes con grandes cantidades de crioglobulinas son asintomáticos, mientras que otros con pequeñas cantidades de crioglobulinas monoclonales tienen dolor, púrpura, Raynaud, cianosis e incluso ulceraciones tras la exposición al frío. La temperatura a la cual las crioglobulinas precipitan es mucho más importante que el aumento de la proteína. Existen casos en los que la proteína produce serios problemas precipitando a 26° C.

PIROGLOBULINAS.-

Las piroglobulinas son proteínas que precipitan irreversiblemente cuando se calientan a 56° C. y no se disuelven al enfriarse. Recuerdan a la proteína de Bence-Jones ya que ambas precipitan cuando son calentadas a 60° C., pero pueden ser distinguidas fácilmente por inmunoelectroforesis con antisuero específico. Las piroglobulinas -- son generalmente de la clase IgG pero pueden ser IgM o IgA. La piroglobulinemia está asociada con el Mieloma Múltiple o la macroglobulinemia. No producen síntomas y no son más que una curiosidad de laboratorio.

TEST DE SIA.-

El test de Sia para las euglobulinas es realizado añadiendo un poco de suero del paciente en un tubo con agua destilada, el resultado positivo consiste en la formación de precipitado o floculación -- cuando el suero es diluido con el agua. Este test ha sido recomendado para el diagnóstico de la macroglobulinemia, pero han sido vistos, falsos positivos y falsos negativos. Además, también presenta reacción positiva con el Mieloma IgG, Mieloma IgA así como cuando existe aumento policlonal de las inmunoglobulinas. En la actualidad el test de Sia no es recomendado teniendo únicamente un interés histórico.

ANALISIS DE PROTEINA M EN ORINA.-

Cuando los enfermos afectados de gammapatía monoclonal son estudiados el análisis de la orina es esencial. El ácido sulfosalicílico o test de Exton es el mejor método para la detección de proteína. El Albustix no detecta la proteína de Bence-Jones y por lo tanto no debe ser usado como test de rutina para investigación de proteinuria -- de Bence-Jones.

La mayoría pero no todas las cadenas L monoclonales en la orina - precipitan entre 40-60° C., se disuelven a 100° C. y vuelven a precipitar enfriando la orina a 40-60° C. (20). Ocasionalmente, el resultado del test del calor es positivo incluso cuando la orina del paciente no revela un pico o banda localizada en el patrón electroforético o cuando no hay evidencia de una cadena ligera monoclonal en la inmunoelectroforesis. Tales pacientes, generalmente tienen una banda gamma de base ancha en la orina y arcos de apariencia normal K y λ en la inmunoelectroforesis. Presumiblemente el test positivo del calor en ellos es debido a un exceso de cadenas ligeras policlonales. Tal resultado falsamente positivo ocurre más a menudo en casos de insuficiencia renal, enfermedades del tejido conectivo o enfermedades malignas (56). - Inversamente, en algunos casos de Mieloma la orina contiene grandes aumentos de cadenas ligeras monoclonales los cuales tienen resultado negativo para el test del calor. Por todo ello, el test del calor para las proteínas de Bence-Jones no siempre es patognomónico.

ELECTROFORESIS E INMUNOELECTROFORESIS DE ORINA.-

En todos los pacientes con proteínas monoclonales, la electroforesis y la inmunoelectroforesis de orina deben ser realizadas. Además, - ambos tests deben ser realizados en la orina en todos los casos de: -- Mieloma Múltiple, macroglobulinemia, amiloidosis, gammapatía monoclonal de significación desconocida, enfermedad de cadena pesada y en todos los casos en los que se sospeche cualquiera de estas entidades.

En primer lugar, una muestra de orina de 24 horas debe recogerse para determinar la cantidad total de proteínas excretadas por día. Esto es muy importante cuando se sigue el curso de un enfermo con una cadena ligera monoclonal en la orina, ya que la cantidad de proteína se correlaciona directamente con el tamaño y con el número de las células tumorales.

Para la electroforesis de orina una muestra de orina de 24 horas debe ser primero concentrada. A continuación la inmunoelectroforesis de la orina ya concentrada es realizada con antisuero monoespecífico K y λ .

Una proteína monoclonal urinaria aparece como una banda densa y localizada sobre la tira de acetato de celulosa o como un pico homogéneo y estrecho sobre el trazado densitométrico. Generalmente una proteína monoclonal en la orina produce una base más ancha que la proteína monoclonal en el suero por lo que la inmunolectroforesis debe ser siempre realizada. Ocasionalmente, dos bandas discretas son vistas en el trazado de acetato de celulosa. Esto puede representar una cadena ligera monoclonal y una inmunoglobulina monoclonal del suero o bien las dos bandas pueden representar monómeros y dímeros de una cadena ligera monoclonal. Un aumento policlonal de cadenas ligeras se ve como una banda muy ancha extendiéndose a través del área gamma. El trazado densitométrico es de base ancha y la inmunolectroforesis muestra arcos de precipitación K y λ . En el síndrome nefrótico se visualiza una gran banda de albúmina y pequeñas bandas α_1 , α_2 , β , γ , - en el patrón electroforético.

La inmunolectroforesis de orina debe ser realizada sobre orina concentrada en todos los pacientes con una proteína monoclonal en el suero o con un pico estrecho en el trazado de acetato de celulosa de la orina y en todos los casos de Mieloma Múltiple, macroglobulinemia, amiloidosis, o desórdenes relacionados. La inmunolectroforesis es necesaria para establecer la presencia o ausencia de cadenas ligeras y para determinar si éstas son monoclonales o policlonales. La muestra de orina concentrada es colocada en un pozo sobre un porta-microscópico cubierto con agar o agarosa al 1% sobre el que se ha realizado electroforesis para separar los distintos componentes. Posteriormente, la muestra del pozo es tratada con un antisuero específico. Las proteínas de la muestra que están dentro de la electroforesis (antígeno)

y las del antisuero (anticuerpo) son dirigidas de forma difusa hacia uno y otro lado formando líneas de precipitación o arcos a lo largo de la línea de contacto entre el antígeno y el anticuerpo. Es esencial el uso de antisuero monoespecífico para determinar si las cadenas ligeras son K, λ ó ambas (policlonales). Teóricamente, puede ser mejor usar antisuero que reconozca sólo inmunoglobulina K ó λ libre, mejor que antisuero de cadenas ligeras que reconozca cadenas ligeras que puedan estar o bien libres o dentro de inmunoglobulinas completas. Sin embargo, tales antisueros no son muy disponibles y la mayoría son no específicos o no potentes. Habitualmente, por lo tanto, se usan antisueros K y λ , que reconocen tanto a las cadenas ligeras libres como combinadas y son monoespecíficos y potentes.

Una proteína monoclonal forma un arco de precipitación (K ó λ) - que está situado de forma estricta y localizada, mientras que un aumento policlonal de cadenas ligeras origina una elongación ancha de K y λ . En los pacientes con insuficiencia renal a menudo se ve un arco K y λ difuso, mientras que en la presencia de un mieloma múltiple o amiloidosis se ve un arco restringido que reacciona específicamente contra un antisuero K ó λ . Dada la configuración de los arcos de precipitación existe muy poca dificultad para distinguir cadenas ligeras monoclonales de cadenas ligeras policlonales en la orina.

Ocasionalmente en los casos más dudosos, será necesario repetir la inmunoelectroforesis con la orina más concentrada con lo cual no existirán dudas en los arcos de precipitación. Si la electroforesis de la orina revela un pico de globulina, pero la inmunoelectroforesis no muestra evidencia de una cadena ligera monoclonal, se debe sospechar la existencia de una enfermedad de cadena pesada gamma. En este caso se debe realizar inmunoelectroforesis de orina concentrada con antisuero frente a IgG (cadenas pesadas gamma).

La inmunoelectroforesis debe ser hecha en una muestra de orina --

concentrada en todos los pacientes con sospecha de gammapatía monoclonal, incluso si el test del ácido sulfosalicílico es negativo para proteína, ya que existen casos en los que la osmolaridad de la orina era normal o elevada y la reacción para proteína negativa, en los cuales, la electroforesis de una muestra de orina concentrada 200 veces revela una banda de globulina pequeña y localizada y la inmunolectroforesis demuestra una cadena ligera monoclonal. Este hallazgo puede ser el primer dato para el diagnóstico de una amiloidosis primaria. La inmunolectroforesis con antisuero monoespecífico debe ser realizada en la orina de todos los adultos con síndrome nefrótico cuando la causa del mismo no sea evidente.

Existe un gran número de pacientes en los que la electroforesis de orina muestra un gran aumento de la albúmina y cantidades insignificantes de globulinas pero los cuales tienen cadenas ligeras monoclonales en la orina. Estos pacientes, casi siempre presentan amiloidosis primaria aunque algunos también tienen Mieloma Múltiple. La muestra de orina de 24 horas es importante dado que nos permite medir la cantidad de proteína monoclonal excretada por la orina, lo cual, es un índice excelente del progreso de la enfermedad o del efecto de la quimioterapia. De la misma manera la proteinuria de 24 horas es un excelente método para seguir el curso de un paciente con amiloidosis y síndrome nefrótico.

Todos los pacientes estudiados por inmunolectroforesis también deben ser examinados por inmunodifusión. Por este método una banda densa de precipitación confirma la presencia de proteína y de que clase de proteína se trata; cuando en la banda de precipitación existan dudas, se debe realizar inmunolectroforesis con orina más concentrada para determinar si la banda de inmunodifusión representa un aumento monoclonal de cadenas ligeras o por el contrario cadenas ligeras policlonales. La inmunodifusión es más sensible que la inmunolectroforesis y es un test de Screening útil, pero tiene el inconveniente de que reac-

ciona tanto con cadenas ligeras monoclonales como policlonales, por — ello la inmunolectroforesis debe siempre hacerse para probar que la — proteina detectada es monoclonal.

Aunque el test del calor para la proteina de Bence-Jones es útil como test clínico de Screening, uno debe recordar sus limitaciones. Para demostrar una proteina monoclonal en la orina, la electroforesis y la inmunolectroforesis de una muestra de orina concentrada son los mé todos de elección.

Todos los enfermos en los que se descubre una proteina monoclonal deben poseer una historia clínica completa y un examen físico minucioso. Si la proteina monoclonal es mayor de 2 g/dl. o una proteina monoclonal es encontrada en la orina, se debe realizar: aspirado de médula ósea con biopsia, investigación para enfermedad ósea metastásica (se—rie ósea radiológica que abarca radiografía de huesos largos, cráneo, pelvis, parrilla costal y raquis. Rastreo óseo isotópico), determina—ciones de hemograma, calcio, creatinina sérica y alcaramiento de creatinina. En todos los casos la amiloidosis debe ser siempre considerada por lo que deberá realizarse: biopsia de submucosa rectal y tinción — del material de médula ósea para la sustancia amiloide.

Si no se encuentra enfermedad maligna, el enfermo debe ser vigilado con electroforesis periódicas de suero y orina cada 6-9 meses. La — inmunolectroforesis no es necesario repartirla, a menos que existan — cambios en el patrón electroforético del suero o de la orina. Además, la electroforesis periódica de sangre y orina es lo más útil para se—guir el curso clínico de pacientes con Mieloma Múltiple o macroglobuli—nemia que estén bajo tratamiento con quimioterapia. Ello es de valor — para determinar la progresión o regresión de la enfermedad, ya que — existe una correlación directa entre el tamaño de la proteina sérica — monoclonal y el número de células malignas. Por todo ello, la electro—foresis del suero y de la orina es el método más seguro y más económi—

co para seguir el curso de un paciente con gammapatía monoclonal.

CLASIFICACION DE LAS DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICAS.-

I) GAMMAPATIAS MONOCLONALES MALIGNAS:

A) Mieloma Múltiple (IgG, IgA, IgD, IgE y cadenas ligeras)

- 1) Plasmocitoma solitario del hueso.
- 2) Plasmocitoma extramedular solitario y Múltiple.
- 3) Leucemia de células plasmáticas.
- 4) Mieloma no secretor.

B) Síndromes Linfoproliferativos malignos.

- 1) Macroglobulinemia de W.
- 2) Linfoma maligno.

C) Enfermedades de cadena pesada.

- 1) Gamma.
- 2) Alfa.
- 3) Mu.

D) Amiloidosis.

- 1) Primaria.
- 2) Amiloidosis con Mieloma.
- 3) Secundaria, formas localizadas y amiloidosis familiares.

II) GAMMAPATIAS MONOCLONALES DE SIGNIFICACION DESCONOCIDA:

A) Benigna (IgG, IgA, IgD, IgM y raramente de cadenas ligeras).

B) Asociada con neoplasias de tipos celulares no conocidos para producir proteínas monoclonales.

C) Gammapatías biclonales.

D) Síndrome de Fanconi adquirido.

V - PLAQUETAS

1.- MORFOLOGIA PLAQUETARIA.-

Desde los trabajos iniciales de Wolters y Ruska (57), gran número de trabajos se han orientado al estudio de la morfología plaquetaria - con la ayuda del microscopio electrónico junto con técnicas mejoradas de citoquímica e inmuoquímica.

Las plaquetas son una población heterogénea de factores citoplásmicos con un volumen que oscila entre $5-12 \mu\text{m}^3$, con un volumen medio de $5-7,5 \mu\text{m}^3$.

Tres zonas estructurales principales de la plaqueta han sido descritas, relacionadas cada una de ellas con aspectos específicos de la función plaquetaria. La zona periférica está relacionada estrechamente con los fenómenos de adhesividad, la zona sol-gel con la contracción y la zona de los organelos con la secreción plaquetaria.

La zona periférica de la plaqueta está constituida por una cubierta exterior por una unidad de membrana y por el área de submembrana.

La cubierta exterior tiene un grosor aproximado de $150-200 \text{ \AA}^0$ y - recubre por fuera a la unidad de membrana de la superficie celular. No existe una evidencia firme sobre la constitución química de esta estructura pero se sabe que contiene mucopolisacáridos ácidos, glicoproteínas, ATPasa dependiente de magnesio a la par que las proteínas -- plasmáticas absorbidas por ella son constituyentes importantes de la misma. La cubierta exterior de la plaqueta permanece invariable antes, durante y después de la agregación. Esta cubierta es la zona donde se realiza la adhesividad de la plaqueta aunque los mecanismos envueltos en este proceso no han sido claramente definidos (58) (59) (60).

La unidad de membrana es una membrana trilaminar esencial para la

integridad de la célula. Esta estructura juega un papel importante protegiendo la integridad del medio interno plaquetario. Otras funciones asignadas a la unidad de membrana, tales como su participación en la adhesividad y en la contracción no han sido establecidas de forma segura (61) (62).

El área de submembrana está localizado por dentro de la unidad de membrana y representa un área de transición entre la zona periférica y la matriz sol-gel del hialoplasma. Sin embargo, actualmente el área de submembrana se considera parte de la zona periférica de la plaqueta. En su seno, existen finos filamentos que establecen una estrecha relación entre la pared celular y los elementos del hialoplasma. Al parecer estas estructuras ayudan a mantener la forma discoide de la plaqueta durante la metamorfosis viscosa (63).

La zona sol-gel examinada bajo el microscopio electrónico está constituida por una masa de elementos fibrosos. De éstos, los microtúbulos de 250 \AA son los elementos más prominentes del hialoplasma. Un segundo sistema de fibras está formado por microfilamentos con un diámetro de 50 \AA .

Cada microtúbulo es en sí mismo un sistema fibroso compuesto de 12-15 subfilamentos con un diámetro de 50 \AA . Los subfilamentos son físicamente indistinguibles de los microfilamentos del área de submembrana, por lo tanto, sólo se diferencian con respecto a la localización que ocupan en la célula.

Las funciones de retracción plaquetaria son dependientes de los elementos fibrosos de la zona sol-gel, por este motivo esta estructura plaquetaria está relacionada estrechamente con la función contractil (64) (65) (66) (67).

La zona de organelos está constituida por gran variedad de elemen

tos embebidos en la matriz sol-gel de la plaqueta.

Los constituyentes más importantes de esta zona son los gránulos, los cuerpos densos y las mitocondrias. Adicionalmente existen también partículas únicas de glucógeno y otras estructuras de menos interés.

Los gránulos tienen gran importancia ya que en la actualidad se — piensa que son los productores de gran número de sustancias secretadas por la plaqueta durante la metamorfosis viscosa. Son de forma variable y están recubiertos por una unidad de membrana. La matriz interna de cada gránulo es dividida en dos zonas de diferente opacidad electrónica. Gran número de sustancias han sido identificadas dentro de los gránulos como son: fosfolípidos, enzimas hidrolíticas, fosfatasa ácida, beta glucuronidasa, catexina, fibrinógeno, trombostenina, ATP y ADP, ATP asa, serotonina, glicoproteínas y mucopolisacáridos. (68) (69).

Los cuerpos densos plaquetarios son de gran importancia en la función hemostática. Poseen opacidad al microscopio electrónico por la presencia de calcio en su interior y se piensa que la mayoría se originan a partir de los gránulos. Los cuerpos densos son la zona secretoria primaria y se sabe que disminuyen rápidamente en número durante la metamorfosis viscosa precoz estando ausentes de la plaqueta durante la metamorfosis viscosa tardía y la retracción del coágulo.

La serotonina, ADP, catecolaminas y el factor IV plaquetario están asociados con los cuerpos densos (70) (71).

La mitocondria de la plaqueta contribuye al pool metabólico de ATP y la opacidad al microscopio electrónico de la mitocondria refleja su estado de actividad. La mitocondria plaquetaria se piensa que puede funcionar como un reservorio de calcio dependiente de su actividad metabólica (72).

Independiente de estos componentes principales existen tres sistemas de membrana plaquetarios.

El primero de éstos es un sistema de canales tortuosos que comunica el hialoplasma con el plasma formando parte de la superficie celular.

El segundo sistema membranoso es el aparato de Golgi. Este está presente únicamente en un pequeño número de plaquetas y su papel es limitado.

El tercer sistema es el sistema tubular denso. Este está asociado con el sistema microtubular intraplaquetario. Recientemente se ha sugerido que este sistema puede elaborar filamentos para otros componentes fibrosos y que rija la organización microtubular intraplaquetaria (73) (74) (ver figura 6).

2.- FISILOGIA ESTRUCTURAL DE LA PLAQUETA.-

Los cambios que se desarrollan en la plaqueta durante las reacciones hemostáticas están relacionados con eventos fisiológicos y bioquímicos. Las plaquetas circulan como discos aplanados y cambios en su morfología pueden ser inducidos añadiendo trombina a una muestra de plasma citratado rico en plaquetas (C-PRP). Si la concentración de trombina añadida es de 0,1 U/ml, la única alteración es un cambio en la forma de la plaqueta. La plaqueta pierde su forma discoide y se hace irregular con emisión de pseudópodos. Al microscopio electrónico se ve reorganización estructural interna de la plaqueta con cambios en el sistema microtubular y en los organelos. Aproximadamente a los 10 minutos la morfología plaquetaria vuelve a su situación normal.

Ligeros aumentos en la cantidad de trombina añadida al C-PRP se traducen en un inicio de agregación plaquetaria, cambios en la forma y

en la reorganización interna similares a los ya descritos. Esta onda inicial de agregación plaquetaria es reversible.

Aumentando la concentración de trombina por encima de 0,2 U/ml al C-PRP aparece una doble onda de agregación plaquetaria que es irreversible y que afecta a la mayoría de la población de las plaquetas. La segunda onda de agregación plaquetaria se traduce en cambios estructurales definitivos. En esta fase los constituyentes endógenos son secretados al plasma. Estos constituyentes son ADP, ATP, serotonina, catecolaminas, potasio, calcio y factor IV plaquetario. Esta liberación constituye la reacción de liberación plaquetaria. Este proceso ocurre entre la primera y la segunda onda de agregación y es completo durante la segunda onda irreversible de agregación plaquetaria. A su vez la segunda onda de agregación es totalmente dependiente de la reacción de liberación y no se produce si se altera ésta.

El proceso de secreción es dependiente de energía y no es pasivo, ocurriendo cuando se produce la transformación interna de la plaqueta. A su vez ésta es por sí misma una manifestación de la actividad contractil de la plaqueta.

Como ya hemos citado el único elemento estructural que desaparece durante la agregación es el cuerpo denso. Todos los cambios intraplaquetarios de los otros sistemas intratubulares están destinados a verter al exterior la secreción endógena plaquetaria.

Otros agentes capaces de iniciar la agregación y la reacción de liberación plaquetaria producen cambios físicos idénticos a los causados por la trombina. Estas sustancias son: partículas de colágeno, kaolín, ADP y serotonina. El colágeno produce una onda única masiva de agregación mientras que el ADP origina una onda bisfásica similar a la de la trombina.

En resumen, hay que reseñar las tres funciones básicas de adhesión (agregación), contracción y secreción (reacción de liberación). La adhesión (agregación) y la contracción son facetas independientes de la fisiología plaquetaria, ya que la adhesión (agregación) puede ocurrir sin contracción y viceversa. La reacción de liberación es dependiente del sistema contractil plaquetario ya que la secreción no ocurre sin la contracción. La fisiología contractil domina la función plaquetaria desde el momento que se inicia el cambio de forma y la reorganización interna plaquetaria hasta que la metamorfosis viscosa y la retracción del coágulo son completas (60) (75) (76) (68) (77).

Las plaquetas humanas contienen la mayoría de los constituyentes celulares comunes excepto DNA. Glucógeno, DPN, proteínas, aminoácidos y ortofosfatos están distribuidos de forma heterogénea en las plaquetas. Esta heterogeneidad está en relación con la edad y con la actividad enzimática de la plaqueta. En términos generales los constituyentes principales de las plaquetas humanas comprenden un 77% de peso total de agua, 11-14% proteínas, 3-5% de lípidos y entre un 2-3% de carbohidratos. Otros constituyentes de la plaqueta son el RNA, DPN, aminoácidos y glutatión reducido (69).

3.- METABOLISMO DE LA PLAQUETA.-

Aunque ha sido extensamente estudiado, la revisión más extensa corresponde a Gross y Schneider. La plaqueta realiza síntesis proteica, metabolismo graso y neoglucogénesis. Se sabe que la glicolisis anaerobia y la fosforilización oxidativa son importantes dentro del metabolismo plaquetario. El metabolismo de la plaqueta es complejo debido a la presencia de la membrana la cual juega un papel fundamental. Presenta alto metabolismo glucolítico, trece veces superior al del hematíe, por lo que contiene grandes cantidades de glucógeno como reservorio de energía para importantes funciones como por ejemplo ocurre en la retracción

La importancia del glucógeno se demuestra por la activación de una fosforilasa de glucógeno que interviene en todos los procesos metabólicos. Asimismo las plaquetas contienen grandes cantidades de ATP el cual es fundamental tanto para la contractilidad como para la permeabilidad de la membrana. La retracción del coágulo depende del ATP así como la actividad de la proteína contractil trombostenina. Cuando la plaqueta envejece existe una pérdida de ATP y una disminución en su capacidad contractil. El ATP necesario es regenerado siendo producido a través de la vía glicolítica aerobia.

Cuando las plaquetas son estimuladas por gran número de agentes, aparece un aumento de la actividad metabólica que puede depender de la vía glucolítica y de la vía gluconeoglucoenergética. El AMP cíclico regula la respuesta de la plaqueta a los distintos estímulos. Es probable que en niveles aumentados de AMP cíclico disminuyan la reactividad plaquetaria mientras que niveles disminuidos de AMP cíclico aumenten la actividad plaquetaria. Diferentes autores han sugerido que gran número de drogas pueden influenciar la reactividad plaquetaria actuando sobre la síntesis o degradación del AMP cíclico. El agente más potente conocido que aumenta los niveles de AMP cíclico intraplaquetario es la prostaglandina E_1 (PPG_1), y es uno de los más eficaces inhibidores de la agregación plaquetaria inducida por ADP, sin embargo, su efecto transitorio y sus contraindicaciones le hacen ineficaz como medio terapéutico (78) (79).

4.- FUNCION PLAQUETARIA.-

La función hemostática de las plaquetas depende de tres mecanismos: adhesión, contracción y secreción.

Cada uno de estos mecanismos está relacionado con una de las tres zonas plaquetarias ya descritas. La adhesión es función de la zona pe-

riférica, la contracción depende de la zona sol-gel y la secreción de las estructuras microtubulares. La secreción es dependiente de una contracción adecuada (80).(81).

ADHESION - Si se lesiona el endotelio vascular y el tejido subendotelial es expuesto, las plaquetas se adhieren a él siendo éste el evento inicial en la formación de un coágulo hemostático. El mecanismo íntimo de la adhesividad es desconocido. Se sabe que la cubierta externa juega un papel fundamental pero no se conocen los mecanismos íntimos del desarrollo de este proceso. Asimismo intervienen alteraciones enzimáticas en presencia de hidroxiprolina y lisina. Aunque la adhesión al colágeno es importante se sabe que las plaquetas se adhieren a otras estructuras en las que no existe colágeno.

La adhesividad puede ser estudiada in vitro, añadiendo colágeno a un plasma rico en plaquetas, aunque generalmente es medida la capacidad de las mismas para adherirse a las superficies de vidrio. El método más empleado es la técnica de Salzman (82). Este test mide tanto la adhesividad plaquetaria in vitro como la agregación, a lo que se denomina test de retención plaquetaria. La adhesividad plaquetaria está disminuida en la trombostenia, uremia y es anormalmente baja en la enfermedad de Willebrand. Asimismo se ha encontrado adhesión plaquetaria defectuosa en las discrasias de células plasmáticas y en los tratamientos con clofibrato y salicilatos aunque este último punto no está totalmente confirmado. Un aumento de la adhesividad plaquetaria se ve en el postoperatorio, después de la esplenectomía y en los casos de trombosis venosa y embolismo pulmonar (83). Asimismo está aumentada la adhesividad plaquetaria en la enfermedad coronaria y en la diabetes mellitus (84).

CONTRACCION - La evidencia sugiere que la contracción plaquetaria es similar a la contracción muscular. Los componentes de la contracción son la trombostenina (proteína actomiosin-like) y el calcio, La trombosteni

na está presente en los microfilamentos o microtúbulos intraplaqueta---rios. El calcio es liberado por un mecanismo similar al de la despolarización nerviosa, activando la ATP asa y originando la contracción. - Los canales del sistema canalicular plaquetario recuerdan al retículo sarcoplasmico muscular pudiendo ser la ruta por la que el calcio es dirigido hacia la zona sol-gel donde activa el proceso de la contracción. Paralelamente a la contracción, le forma normal discoide de la plaqueta se pierde, su volumen aumenta haciendose esférica y denominandose a to do este proceso "METAMORFOSIS VISCOSA". Estos cambios pueden ser inducidos por ADP y son reversibles (85) (81) (86) (87).

AGREGACION - Después de adherirse al sitio de la lesión vascular, las plaquetas se agregan unas con otras para formar un coágulo. Aunque este proceso fue descrito en 1886 el mecanismo íntimo del mismo no está aún perfectamente aclarado. Existe evidencia de que en la vía final interviene el ADP aunque no se conoce el mecanismo íntimo de acción. El proceso de agregación mediado por el ADP ocurre en dos fases. La primera fase es la fase rápida y es reversible. La segunda fase es irreversible y parece estar originada por el ADP liberado de la plaqueta. Esta segunda fase se acompaña de la liberación de serotonina y de la activación del factor III plaquetario (88).

Tres potentes agentes agregantes es probable que intervengan en - la hemostasia: el colágeno, la trombina y la serotonina. El contacto - con el colágeno causa la adhesividad y también induce agregación pla--quetaria. La trombina es un potente agregante. La agregación es defec--tuosa en todos los defectos congénitos y adquiridos de la plaqueta. -- Una insuficiencia en la agregación ocurre en la uremia, en las discrasias de células plasmáticas y en la trombocitemia (83).

SECRECION (REACCION DE LIBERACION PLAQUETARIA)

Las plaquetas producen uno o más factores necesarios para la formación de un coágulo hemostático. Hasta hace poco no se han dilucidado los mecanismos responsables de la reacción de liberación plaquetaria. Los trabajos de Holmsen y Cols han demostrado la liberación de ATP y -ADP, serotonina, factor III y factor IV, enzimas hidrolíticos, mucopolisacáridos, aminoácidos, fibrinógeno, potasio y calcio.

Estas sustancias están contenidas en el interior de los gránulos y de los cuerpos densos. El fenómeno de liberación depende de la contracción y las sustancias liberadas alcanzan el exterior a través del sistema abierto canalicular intraplaquetario (89) (90).

Algunos factores de la coagulación están asociados con la fisiología plaquetaria. Unos, son factores plasmáticos absorbidos por la plaqueta y otros son componentes esenciales íntimos de la plaqueta.

El factor I plaquetario es factor V plasmático absorbido y posteriormente modificado en el interior de la plaqueta. El factor II plaquetario acelera la conversión de fibrinógeno a fibrina mediada por la trombina, siendo de naturaleza desconocida. El factor III plaquetario es una lipoproteína con actividad tromboplastica el cual asienta sobre la membrana plaquetaria, aunque también algo está presente en los gránulos de la plaqueta, siendo liberado junto con otros agentes durante la coagulación. De cualquier manera, el factor III plaquetario de membrana es el más importante de los factores en el proceso hemostático. Parece ser que acelera la coagulación promoviendo la activación del factor VIII por el IX y participando en la activación de la trombina.

El factor IV plaquetario es una proteína que al igual que el factor III es liberado durante la agregación induciendo aumento de ésta.

Probablemente el aumento de la eficacia de la hemostasia y la formación del trombo también son inducidas por el factor IV plaquetario. Por último el fibrinógeno plaquetario es en parte sintetizado por los gránulos intraplaquetarios y en parte absorbido del fibrinógeno plasmático, por lo que hay que admitir que existen dos pools metabólicos separados en lo que se refiere al fibrinógeno. Tanto el fibrinógeno extraplaquetario como el intracelular son idénticos entre sí. El fibrinógeno plaquetario es liberado junto con el resto del contenido granular durante la reacción de liberación plaquetaria, interviniendo probablemente en la primera fase de la agregación. La función del fibrinógeno plasmático absorbido es desconocida. (91) (92) (89) (79) (93).

CINETICA PLAQUETARIA

Después de la entrada en la circulación la distribución de las plaquetas no es uniforme aunque tienden a concentrarse en el bazo siendo el pool intraesplénico de importancia variable en las distintas especies. Varios estudios de cinética plaquetaria parecen indicar que el pool intraesplénico es pequeño. El tamaño del pool plaquetario en el bazo normal es estimado como un tercio de la masa plaquetaria total en el hombre. Normalmente, sin embargo, el pool esplénico permanece independiente de las plaquetas circulantes. Los estudios de supervivencia plaquetaria han sido hechos usando isótopos marcados tales como el Cromo-51 y el Fósforo-32. La evidencia reciente sugiere que la supervivencia en el hombre de las plaquetas oscila entre 9-12 días (94), aunque otros estudios encuentran dificultades para interpretar los resultados. Algunos autores afirman que la vida media plaquetaria es lineal y otros que es exponencial. Los estudios de Aster (95), indican que dentro de condiciones normales la mayoría de las plaquetas son depuradas de la circulación por el sistema retículo endotelial (SRE), una vez que han envejecido. En el hombre un tercio de las plaquetas son secuestradas -

58.

en el hígado, un tercio en el bazo y las restantes en la médula ósea, - aunque si el bazo está ausente, dos tercios son destruidas en el hígado (figura 7).

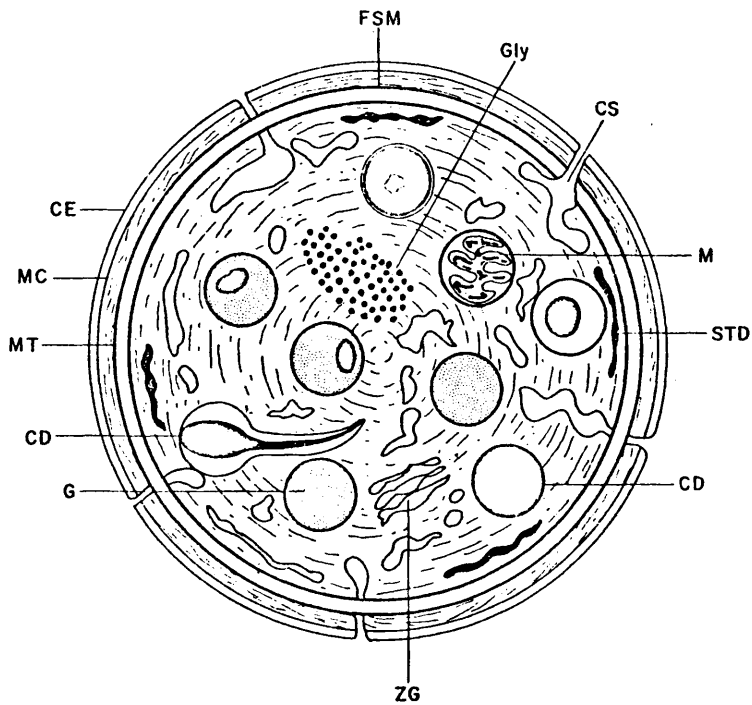


FIG. Nº6 - DIAGRAMA PARA ILUSTRAR LA ESTRUCTURA PLAQUETARIA-

La zona periférica es la Cubierta Exterior (CE), la Membrana Celular Trilaminar (MC) y los Filamentos de Submembrana (FSM). Los organelos y partículas, constan de los Granulos Plaquetarios (G), los Cuerpos Densos (CD), la Mitocondria (M), la Zona de Golgi (ZG), las Estructuras Tubulares Densas (STD) y los Granulos de Glucogeno (Gly). El sistema de canales abiertos esta indicado por CS.

PLATELET MORPHOLOGY. (IN THE CIRCULATING PLATELET, Ed. JOHNSON, S.A. NEW YORK: ACADEMIC PRESS.)

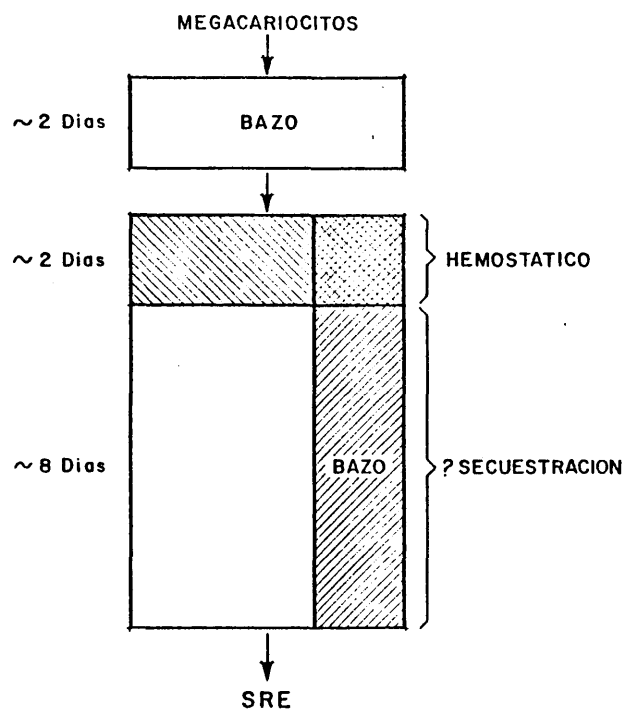


FIG. Nº 7.- DIAGRAMA DE LA DISTRIBUCION Y VIDA PLAQUETARIA EN EL HOMBRE.

IN THE CIRCULATING PLATELET, Ed. JOHNSON, S.A NEW YORK: ACADEMIC PRESS.

VI - COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA (CID)

COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA (CID)

CONCEPTO - PATOGENIA

La coagulación intravascular diseminada (CID) es un síndrome patológico resultante de la formación de trombina, subsecuente activación y consumo de ciertas proteínas de la coagulación y producción de trombos de fibrina.

Estos procesos básicos reflejan las múltiples acciones de la trombina en el sistema hemostático. Primero, escinde proteolíticamente la molécula del fibrinógeno para producir monómero de fibrina, el cual puede formar complejo con el fibrinógeno u otras proteínas, circular como monómero de fibrina soluble o polimerizarse para formar trombos de fibrina. Dos pequeños fibrinopéptidos, llamados A y B, los cuales pueden originar vasoconstricción pulmonar o sistémica son liberados en este proceso.

La trombina convierte al factor XIII (factor estabilizante de la fibrina), en una transamidasa activa, la cual a su vez estabiliza los enlaces cruzados de la fibrina con uniones covalentes para hacer a éstas más resistentes a la fibrinolisis (96). La trombina se une a las plaquetas induciendo en ellas un cambio en la forma, en la agregación y en la secreción. La trombina también induce la presencia de fosfolipoproteína de membrana (factor III plaquetario) sobre la superficie de las plaquetas agregadas. La trombina es necesaria también para las interacciones de los factores IXa-VIII y Xa-V-protrombina (97). La trombina potencia la cascada de la coagulación aumentando la actividad del factor V. Asimismo potencia la actividad del factor VIII. Por todo ello la trombina puede originar descenso del fibrinógeno, descenso del número de plaquetas y descenso de los factores II, V, VIII, XIII, en la CID aguda.

Además de la trombina, el sistema fibrinolítico ejerce influencia sobre las manifestaciones de CID. La activación del factor XII conlleva la producción de kaliceína la cual a su vez convierte el plasminógeno en plasmina (98), una potente enzima proteolítica capaz de digerir la fibrina. Las células endoteliales contienen activador del plasminógeno aunque la naturaleza del estímulo para su liberación es desconocido. Los tejidos injuriados liberan activadores potentes del plasminógeno simultáneamente a la tromboplastina tisular, por ello, casi invariablemente aparece fibrinólisis secundaria. El balance entre la plasmina y la trombina determina el grado de hemorragia y/o trombosis visto clínicamente. La digestión por la plasmina del fibrinógeno, origina la producción de productos de degradación del fibrinógeno-fibrina los cuales ejercen un papel fundamental en la patogenia y diagnóstico de la CID.

El fibrinógeno (PM 330.000) es degradado a un fragmento X el cual coagula lentamente. La digestión proteolítica adicional rompe el fragmento X originando un fragmento Y (PM 150.000), que es un potente inhibidor de la polimerización de la fibrina. Finalmente el fragmento Y es roto asimétricamente produciendo un fragmento D y un fragmento E (PM - 50.000). Los fragmentos Y y D son inhibidores potentes de la formación de la fibrina, mientras que los fragmentos pequeños se sabe que inhiben la agregación plaquetaria.

FISIOPATOLOGIA

Distintos mecanismos fisiopatológicos se han involucrado en el síndrome de CID entre ellos los más importantes son: en primer lugar la activación del factor XII, la activación del sistema kaliceína-kinina, la activación del complemento del suero, las interacciones hematológicas, tales como el papel del leucocito en la CID experimental, el posible papel de los hematíes en la patogénesis de la CID y la formación de un complejo inmune antígeno-anticuerpo circulante. (99) (100) -

(101) (102) (103).

Cada uno de estos mecanismos parece intervenir de acuerdo con la causa que determine la CID, de esta forma, la activación del factor XII puede ocurrir en algunos casos de CID secundarios a infección especialmente por GRAM-, asimismo la activación del sistema kalibreina-kinina produce la liberación de bradikinina con hipotensión y vasodilatación arteriolar periférica. Este mecanismo se ha descrito en la CID asociada a sepsis.

En contraste con lo dicho, la CID asociada con neoplasias no se ha encontrado que esté asociada con activación del factor Hageman ni con activación del sistema kalibreina-kinina.

El complemento del suero se ha encontrado disminuido en CID secundaria a fiebre de las montañas rocosas y en la CID experimental. El mecanismo de la disminución del complemento del suero en la CID humana no parece que sea necesario para la inducción de la misma.

Las entidades patológicas en las que se ha descrito su asociación con el síndrome de CID, se exponen a continuación.

CAUSAS DE COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA (CID)

I) Infecciones.-

- 1.- Bacterias:
 - 1.a) Gram +
 - 1.b) Gram -
- 2.- Hongos.
- 3.- Virus.
- 4.- Protozoos.
- 5.- Rickettsias.

II) Neoplasias.-

- 1.- Leucemias Agudas.
- 2.- Desórdenes Mieloproliferativos.
- 3.- Discrasias de Células Plasmáticas.
- 4.- Carcinomas. (Pulmón, Estómago, Pancreas, Ovario, Riñón, Próstata, etc.).
- 5.- Sarcomas.

III) Complicaciones Obstétricas.-

- 1.- Desprendimiento prematuro de la placenta.
- 2.- Retención de Feto muerto.
- 3.- Embolismo de líquido amniótico.
- 4.- Retención placentaria.
- 5.- Toxemia Gravídica.
- 6.- Inyección intra-amniótica de solución salina hipertónica ó - urea hiperosmolar.
- 7.- Aborto Séptico.

IV) Varias.-

- 1.- Picadura de serpientes.
- 2.- Cirugía Pulmonar.
- 3.- Hipotensión y Choque.
- 4.- Golpe de calor.
- 5.- Traumatismo masivo.
- 6.- Hemangioma Gigante.
- 7.- Púrpura Fulminante.
- 8.- Anafilaxia.
- 9.- Enfermedad hepática.

- 10.- Enterocolitis Necrotizante.
- 11.- Aneurisma Aórtico.
- 12.- Angiografía.
- 13.- Reacción hemolítica post-transfusional.
- 14.- Embolismo Graso.
- 15.- Vasculitis por Inmunocomplejos.

MANIFESTACIONES CLINICAS

Hay dos formas de presentación de la CID: aguda y crónica.

CID AGUDA - Los síntomas clínicos y de laboratorio de CID aguda se desarrollan rápidamente en un período que oscila de algunas horas a días. El paciente está severamente afecto tanto por la causa precipitante como por la CID. Suele debutar clínicamente con diátesis hemorrágica que puede oscilar desde epistaxis a hemorragia catastrófica que pone en peligro la vida. Las manifestaciones dermatológicas de CID son comunes - (104), y mientras que las complicaciones trombóticas son infrecuentes - en la CID aguda.(105).

La mortalidad es alta oscilando entre un 54-67% (105). Siegal y Cols (106) encuentran la mortalidad relacionada directamente con la edad, el número de manifestaciones clínicas de CID y la severidad de las manifestaciones de laboratorio.

CID CRONICA - Los síntomas clínicos y de laboratorio evolucionan en un período de meses y el paciente no está gravemente afecto. Las enfermedades de fondo asociadas con CID crónica son: neoplasias, enfermedades del tejido conectivo, enfermedades renales y hemangioma congénito.

Aunque los episodios de hemorragia pueden aparecer, son más fre--

cuentas las complicaciones trombóticas. Sack y Cols (107), revisan la literatura y analizan 182 casos de CID crónica secundaria a neoplasia, hallando tromboflebitis migratoria en el 53%, episodio único de tromboflebitis en el 62%, hemorragia en el 41%, embolismo arterial en el 25% y endocarditis trombótica no bacteriana en el 23%. Este autor enfatiza la necesidad de un estudio profundo de la coagulación en todos estos pacientes, reseñando la importancia que puede tener el brusco descenso del fibrinógeno y las plaquetas asociado con episodios agudos vasculares.

Los pacientes con CID tienen signos y síntomas de disfunción de órganos múltiples, siendo difícil discernir si éstos están relacionados con la CID o con los procesos patológicos de fondo. En general, se relacionan con esto último aunque en ocasiones se han descrito disfunción de órganos secundaria primariamente a la CID (108) (109) (110).

DIAGNOSTICO DE LA CID

El diagnóstico de la CID se basa en la realización de tests de Screening y en la realización de tests de confirmación.

La CID puede ser detectada por la combinación de un tiempo de protrombina anormal, trombocitopenia e hipofibrinogenemia. Aunque el tiempo de protrombina puede estar prolongado en condiciones, tales como deficiencia de vitamina K, enfermedad hepática, hemodilución, es anormal (mayor de 3'' del control) en alrededor del 90% de los pacientes con CID (105). De los pacientes con CID, el 70% tienen niveles de fibrinógeno menores de 150 mg% (105). La concentración normal del fibrinógeno en los restantes 30% de los pacientes puede explicarse teniendo en cuenta que de las causas principales de CID, las sepsis y las neoplasias, originan niveles elevados de fibrinógeno, por ello, un nivel de fibrinógeno en límites normales en estas condiciones es generalmente inadecuada-

mente bajo.

El conteo de plaquetas al igual que el tiempo de protrombina es anormal en alrededor del 90% de los casos de CID, sin embargo, debe ser cuidadosamente evaluado para descartar otras posibles causas de trombocitopenia. El tiempo parcial de tromboplastina (TPT), no se ha mostrado muy útil en el diagnóstico (111).

Anormalidades en los tres tests reseñados (TP, fibrinógeno, recuento plaquetario), establecen el diagnóstico de CID en ausencia de dilución o disfunción hepática severa. Cuando sólo dos de los tres tests son anormales a la vez, se requieren tests confirmatorios para el diagnóstico definitivo de CID.

La confirmación más útil de CID es la medición de los productos de degradación del fibrinógeno-fibrina (PDF).

La medida de los PDF por cualquiera de los métodos disponibles es de gran utilidad en el diagnóstico de CID. Estos están elevados (mayor de 5 microg/ml) en aproximadamente el 95% de los casos. Sin embargo, elevaciones medias de hasta 40 microg/ml pueden ocurrir en una amplia variedad de condiciones (112), incluyendo enfermedades hepatocelulares y postoperatorio inmediato (113). Valores superiores a 40 microg/ml casi invariablemente indican CID. Otros tests, tales como el tiempo de trombina y el tiempo de lisis de las euglobulinas son menos útiles para confirmar el diagnóstico de CID.

Numerosos tests se han realizado con el fin de cuantificar los números de fibrina, los fibrinopéptidos A y B y los productos finales de polimerización del fibrinógeno. Sin embargo, estos métodos son aún complejos para el uso de rutina, por lo que de momento no son valorables. Por otra parte, estos últimos métodos citados pueden ser patológicos en gran número de entidades en las que no existe CID.

Por último, el descenso de la antitrombina III es visto en todos los casos CID (114), pero, sin embargo, también desciende en otras entidades tales como la insuficiencia hepática. La vida media del fibrinógeno es mucho más corta en los pacientes con CID que en los pacientes normales, pero sin embargo, la dificultad técnica de la medición, la limitan para su aplicación clínica.

En resumen, los únicos tests actualmente usados para valorar un estado de CID son: el tiempo de protrombina (TP), el nivel de fibrinógeno y el número de plaquetas. En los casos dudosos la determinación de los PDF puede casi invariablemente confirmar el diagnóstico.

VII - EXPERIMENTACION ANIMAL EN EL ESTUDIO DE LAS

DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICAS

EXPERIMENTACION ANIMAL EN EL ESTUDIO DE LAS DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICAS.-

Aunque los factores causales de las discrasias de células plasmáticas en el hombre todavía no se conocen, es posible que algunos conocimientos provengan de estudios de tumores experimentales de células plasmáticas en el ratón. Estos estudios, han demostrado la importancia de factores genéticos, con la demostración de la particular susceptibilidad de la cepa endogámica C₃H del ratón y los híbridos F₁ de CBA x DBA/2 para desarrollar tumores espontáneos de células plasmáticas (115) (116). Intentando documentar los factores genéticos, se han llevado a cabo estudios cromosómicos en diversos tumores murinos, así como en mielomas humanos y en casos de macroglobulinemia, pero hasta ahora, no se han podido documentar anomalías cariotípicas.

La interdependencia de los mecanismos genético y carcinogénico se manifiesta en el grupo interesante de tumores de células plasmáticas experimentales provocadas en la cepa de ratones BALB/c. Una variedad de neoplasias de células plasmáticas puede provocarse en esta cepa por implantación intraperitoneal de plásticos, mezclas de aceite mineral y coadyuvantes y aceite mineral solo (117) (118). La importancia de los mecanismos genéticos es evidente por la particular susceptibilidad de la cepa BALB/c para desarrollar tumores de células plasmáticas en respuesta a estas formas de irritación peritoneal crónica (retículo-endotelial). Dato importante, la cepa de ratones C₃H que no desarrolla espontáneamente tumores de células plasmáticas, no es sensible para provocar estos tumores por coadyuvantes intraperitoneales u otros. Con muchos otros tumores experimentales se ha comprobado la interacción de factores genéticos, virus y carcinógenos químicos y físicos.

Aunque los factores genéticos parecen ser importantes en la patogenia de estos tumores, se ha sugerido un posible papel leucemógeno de los virus por haberse encontrado partículas víricas tipo C en los tumo

res murinos mediante el microscopio electrónico (116) (119). Sin embargo, los intentos de transmisión de estos tumores mediante filtrados libres de células han sido infructuosos y el significado de estas partículas víricas en los tumores de células plasmáticas murinas es todavía oscuro.

Hallazgos recientes (120) (121) han encontrado evidencia adicional que implica a las bacterias intestinales en la patogenia de los tumores de células plasmáticas en los ratones BALB/c. Este hallazgo, ha consistido en demostrar que algunas globulinas mielomatosas producidas por estos tumores tenían actividad anticuerpo frente a los polisacáridos de ciertas bacterias, incluyendo organismos coliformes del ratón hiesped. Todavía no está claro si estas reacciones son inespecíficas o presentan verdaderas actividades de anticuerpo. De todas formas, parece evidente que el desarrollo de tumores de células plasmáticas en la cepa murina BALB/c y en otras, se relaciona con las células plasmáticas del intestino y secundariamente con las bacterias intestinales.

La relación de estos patrones de enfermedades en el animal con los mecanismos patogénicos responsables de las discrasias de células plasmáticas en el hombre es incierta, pero existe creciente evidencia de que si los mecanismos no son idénticos son por lo menos comparables. Esta evidencia, se basa en el hallazgo de la aparición de discrasia de células plasmática sintomática y asintomática en individuos con infecciones crónicas de larga evolución y con procesos inflamatorios crónicos (122) (123).

VIII - HIPOTESIS DE TRABAJO

VIII - HIPOTESIS DE TRABAJO

Desde que en el año 1969, Sánchez-Avalos y Cols (4), estudiando a un grupo de pacientes afectos de Discrasia Plasmocítica, hallaron productos de degradación de Fibrinógeno-Fibrina (PDF) elevados, aproximadamente en el 50% de los mismos, muy pocas han sido las publicaciones, - que han hecho referencia directa a este problema.

Asimismo, en los últimos años, muy escasos han sido los trabajos encaminados a analizar la disfunción plaquetaria, en amplias series de pacientes afectos de Gammapatía Monoclonal.

Por este motivo, sentimos la inquietud de estudiar y analizar ambos parámetros (C.I.D. y función plaquetaria), en una amplia serie de enfermos afectos de Discrasia de Célula Plasmática, lo cual, nos permitiese a su vez conocer la frecuencia y las distintas correlaciones -- existentes entre el amplio espectro de gammapatías de origen monoclonal y ambos parámetros.

A este fin, nos propusimos intentar relacionar tanto la función - plaquetaria como el síndrome de C.I.D., con los distintos tipos de Mieloma Múltiple, haciendo extensivo el estudio a la Macroglobulinemia de Waldeström.

Por todo ello, iniciamos el estudio de la función plaquetaria y - de la coagulopatía de consumo, en los pacientes afectos de Mieloma Múltiple en sus distintos tipos y en los enfermos afectos de Macroglobulinemia de Waldeström.

696

IX - MATERIAL

MATERIAL

Hemos estudiado a 100 pacientes adultos, los cuales estaban afectados de discrasias de células plasmáticas, detectada en todos ellos por estudio electroforético e inmunolectroforético en sangre y en orina.

De la serie total de 100 enfermos estudiados, 60 fueron varones y 40 hembras. La edad para los pacientes varones estaba comprendida entre 46 y 84 años, con una media de edad de 67,8 años. La edad para las hembras estaba comprendida entre 49 y 81 años, con una media de edad de 67,6 años. La media de edad global para el total de la serie estudiada fue de 67,7 años. En el cuadro número 6a) recogemos el número de orden, la edad, sexo y diagnóstico clínico.

Del total de la serie de 100 enfermos, en 80 se confirmó el diagnóstico de Mieloma Múltiple (cuadro número 7), de los cuales 45 fueron varones y 35 hembras. La edad media del grupo de varones fue de 68,3 años. La edad media para el grupo de hembras fue de 67,4 años. La edad media global para el grupo de 80 pacientes afectados de Mieloma Múltiple fue de 67,9 años. Del grupo total de la serie de 100 enfermos en 20 se confirmó el diagnóstico de macroglobulinemia de Waldenström (cuadro número 7), de los cuales 15 fueron varones y 5 hembras. La edad media del grupo de varones fue de 66,4 años. La edad media del grupo de hembras fue de 68,8 años.

CUADRO N° 6a

CUADRO GENERAL ENFERMOS

Caso N°	S	E	Diagnostico		Caso N°	S	E	Diagnostico	
1	V	53	MIELOMA	IgG κ	26	V	67	MIELOMA	IgG λ
2	V	58	"	"	27	V	78	"	"
3	V	55	"	"	28	H	62	"	"
4	H	62	"	"	29	H	71	"	"
5	H	60	"	"	30	V	55	"	"
6	V	65	"	"	31	H	74	"	"
7	V	50	"	"	32	V	60	"	"
8	V	67	"	"	33	H	76	"	"
9	H	61	"	"	34	H	80	"	"
10	V	71	"	"	35	H	65	"	"
11	V	72	"	"	36	V	78	"	"
12	H	61	"	"	37	V	59	"	"
13	H	75	"	"	38	H	73	"	"
14	V	80	"	"	39	V	62	"	"
15	H	61	"	"	40	V	65	"	"
16	V	74	"	"	41	V	84	MIELOMA	IgA κ
17	V	68	"	"	42	V	66	"	"
18	V	61	"	"	43	V	57	"	"
19	H	63	"	"	44	H	69	"	"
20	H	76	"	"	45	H	73	"	"
21	V	82	"	"	46	V	65	"	"
22	H	65	"	"	47	V	77	"	"
23	H	49	"	"	48	H	60	"	"
24	V	78	"	"	49	V	68	"	"
25	V	70	"	"	50	V	73	"	"

CUADRO N°6b

CUADRO GENERAL ENFERMOS

Caso N°	S	E	Diagnostico	Caso N°	S	E	Diagnostico
51	V	62	MIELOMA IgA κ	76	V	66	MIEL. C. LIGERAS
52	V	79	" "	77	H	65	" " " "
53	H	65	" "	78	H	70	" " " "
54	V	70	" "	79	V	71	" " " "
55	V	73	" "	80	V	84	" " " "
56	H	81	" "	81	V	69	MACROGLOB. IgM κ
57	H	67	" "	82	H	71	" "
58	H	62	MIELOMA IgA λ	83	V	73	" "
59	V	77	" "	84	V	75	" "
60	V	80	" "	85	V	69	" "
61	V	76	" "	86	V	46	" "
62	H	78	" "	87	V	64	" "
63	H	60	" "	88	H	70	" "
64	V	59	" "	89	V	74	" "
65	V	61	" "	90	V	76	" "
66	V	58	" "	91	V	75	" "
67	H	64	" "	92	V	69	" "
68	V	70	" "	93	H	70	" "
69	H	65	" "	94	V	54	" "
70	H	74	" "	95	H	61	MACROGLOB. IgM λ
71	H	72	MIELOMA IgD λ	96	V	60	" "
72	V	70	" NO SECRETOR	97	V	58	" "
73	H	74	" C. LIGERAS K	98	V	64	" "
74	H	65	" " " "	99	V	70	" "
75	H	64	" " " "	100	H	72	" "

70

X - METODOS

X - METODOS1) ELECTROFORESIS DEL SUERO.

Buffer de Barbital sódico: 9 g/l. pH: 9,25.

Tiempo de electroforesis: 15 minutos a 200 voltios.

Se realizó microelectroforesis sobre un soporte de acetato de celulosa.

Tinción: rojo de Ponceau al 0,2% en tricloroacetico al 3%.

Lavado y transparentación: 14% acetico y 86% metanol (repetir 3 veces).

Secado a temperatura ambiente.

Lectura: densitómetro supercellomatic de la casa ATOM.

ELECTROFORESIS DE ORINA.

Se realizó concentración de orina en AMICON (100 veces) y a continuación con la orina concentrada se realizó la misma técnica descrita para la electroforesis del suero.

2) INMUNOELECTROFORESIS DEL SUERO.

Medio de difusión: gel de agarosa (placas de inmunolectrofilm, suministradas por la casa Kallestad).

Buffer de Barbital 7,4 g/l pH 8,6 \pm 0,1.

Amperaje: 25 mA por cada placa de inmunolectrofilm (14 x 10,5 cm).

Las placas de inmunolectrofilm utilizadas contienen 7 pocitos cada una donde son colocados de forma alternativa suero del paciente y suero de control. Cada placa de inmunolectrofilm contiene 6 canales donde son depositados los antisueros monoespecíficos.

La duración de la inmunolectroforesis fue de 45 minutos.

Los antisueros utilizados de rutina son de conejo anti IgG, IgA, -- IgM. Anti Kapa y anti Lambda.

INMUNOELECTROFORESIS DE ORINA.

Previo a la práctica de la inmunolectroforesis de orina se recogió en todos los pacientes orina de 12 horas y a continuación fue concentrada aproximadamente unas 100 veces en celdillas de AMICON. La muestra concentrada fue colocada a continuación en placas de inmunolectrofilm y a partir de este momento la técnica utilizada fue similar a la descrita para la inmunolectroforesis del suero.

3) INMUNODIFUSION RADIAL. NEFELOMETRIA.

Se utilizaron placas de inmunodifusión Tri-Partigen - IgA; Tri-Partigen - IgG; Tri-Partigen - IgM del Institut Behring.

Las placas de inmunodifusión Tri-Partigen están recubiertas de una capa de gelosa conteniendo un suero anti IgA, anti IgG, anti IgM, específico de las cadenas alfa, gamma y Mu respectivamente. El antisuero es obtenido por inmunización de conejo con las inmunoglobulinas humanas altamente purificadas.

Agentes de conservación utilizados: ácido de sódico (1 g/l).

p-(éthyl-mercuri-mercapto-) benzolsulfonate sodique (0,1 g/l).

Suero standard utilizado: suero standard estabilizado (Behringwerke).

Suero de control utilizado: suero de control Tri-Partigen.

Bajo control del Instituto Paul-Ehrlich, Bureau Fédéral des Sérums et Vaccins, Frankfurt/m., Allemagne.

4) RECUESTO DE PLAQUETAS: Método de Brecher y Cronkite (Método Directo)

El método de Brecher y Cronkite es un método de recuento de las plaquetas directo efectuado con el microscópico de contraste de fase sobre sangre venosa o capilar.

Técnica:

La sangre, extraída de la vena sobre tubo de plástico o directamente del pulpejo del dedo, se diluye en una pipeta para recuento de glóbulos rojos, utilizando como disolvente la solución de sulfato de amonio al 1%; se extrae sangre hasta la marca 1 y el diluyente hasta la marca 101; se agita bien la pita durante aproximadamente tres minutos; se llena la mitad de una cámara cuentaglóbulos, con la precaución de usar un vidrio cubreobjetos grueso. La cámara, con un algodón mojado, se cubre con una cápsula de Petri durante 10-15 minutos, para que sedimenten las plaquetas al mismo tiempo la reducción de la humedad del preparado. Mediante un microscopio de contraste de fase se cuentan las plaquetas de la misma manera que los glóbulos rojos; en caso de trombocitopenia es necesario contar varias cámaras para obtener un valor más preciso. Si se observan agregados en el preparado, habrá que repetir la extracción de -- sangre.

5) TIEMPO DE HEMORRAGIA: (Método de Ivy).

Fundamento:

Es la medida del tiempo de sangría a nivel de tres puntos, mientras se mantiene una presión permanente.

Material:

- 1.- Bisturí.
- 2.- Esfingomanómetro.

3.- Papel filtro absorbente.

Técnica:

Se somete un brazo a una presión con el esfingomanómetro de 4 cm de Mercurio. Se desinfecta con éter la parte anterior del brazo. Con una microlanceta se practica tres incisiones separadas unos 2 cm, a la vez que se ponen en marcha el cronómetro. La sangre de cada incisión es recogida con papel de filtro cada 30 segundos. Se anotará el tiempo de cada incisión.

6) ADHESIVIDAD PLAQUETARIA IN VITRO (Método de Salzman).

Fundamento:

La adhesividad plaquetaria es la capacidad de las plaquetas de adherirse a las superficies extrañas; dicha capacidad se determina in vivo (adhesión a las paredes de los vasos) ó in vitro utilizando superficies de vidrio. La adhesividad se expresa en porcentajes de plaquetas que se adhieren a las superficies extrañas; es decir, se obtiene comparando el número de plaquetas antes y después del contacto del plasma o de la sangre con las superficies extrañas. En el caso concreto del método de Salzman el pasaje de la sangre a través de un filtro especial constituido por bolitas de vidrio.

Material:

- 1.- Agujas para extracción de sangre.
- 2.- Tubos tipo Vacutainer conteniendo EDTA dipotásico.
- 3.- Tubitos de polivinilo de 2,2 mm de diámetro, con 1,3 g. de bolitas de vidrio de 0,36 mm de diámetro cada una. Este tubo lleva en cada extremo un filtro de naylon.

Técnica:

Se efectúan dos extracciones:

a) Una muestra se obtiene mediante una aguja unida a un tubo al vacío que contenga EDTA-Na₂ como anticoagulante.

b) La otra muestra se obtiene con aguja siliconada y la sangre después de haber atravesado el filtro, se recoge en un tubo con el mismo anticoagulante que el anterior.

Se efectúa el recuento de las plaquetas sobre la primera y la segunda muestra. La diferencia entre los dos se expresa en porcentaje con respecto del primero y expresa la adhesividad plaquetaria.

7) TIEMPO DE QUICK. ACTIVIDAD DE PROTROMBINA.Fundamento:

El tiempo de Quick es la medida del tiempo de recalcificación del plasma citratado en presencia de un extracto tisular. Mide la formación de trombina a partir de protrombina en presencia de factores V, VII y X. Constituye pues un test de estudio de la protrombinasa exógena.

Material y reactivos:

Tubos de hemólisis.

Sangre extraída con citrato sódico al 3,8%. Extracto tisular (Tromboplastina cálcica comercial).

Técnica:

Colocar 0,1 ml de plasma en un tubo de hemólisis al baño M^a a 37°. Después de 2 minutos añadir 0,2 ml de tromboplastina Ca previamente in

cubada poniendo en marcha el cronómetro. Agitar 3 segundos. Mantener -- después en el baño hasta 7 segundos y a partir de entonces hacer la -- lectura por inclinación rápida, suave y repetida del tubo. La prueba -- debe realizarse por duplicado.

Este resultado se puede expresar en tanto por ciento de actividad, realizando una curva de calibración en la que se considerará el 100% -- el tiempo que tarde en coagular una mezcla de plasmas controles y ha-- ciendo diluciones progresivas se van relacionando tiempos con activida-- des.

8) DETERMINACION DEL FIBRINOGENO (Micrométodo)

Fundamento:

Cuando un plasma diluido se pone en presencia de un exceso de trom-- bina, el logaritmo del tiempo de coagulación está en relación lineal -- con el logaritmo de la concentración de fibrinógeno del plasma estudia-- do.

Reactivos:

Actualmente estamos usando los reactivos de la casa Merieux. "Fi-- brinógeno Kit".

Resuspender un envase en 3 ml de agua destilada y agitar moderada-- mente.

Diluyente.

Material:

a) Técnica automática.

Fibrómetro.

Autopipeta eléctrica.

b) Técnica manual.

Baño María.

Cronómetro.

Tubos de hemolisis y pipetas.

Técnica:

Extraer sangre con citrato sódico al 3,8% en una proporción 1/10.

Centrifugar a 1,800 rpm durante 10 minutos.

Diluir el plasma en el diluyente con una dilución al 1/10.

a) Realización en fibrómetro.

Colocar en un fibrotubo 0,2 ml de plasma diluido. Incubar durante 2 minutos a 37°. Añadir 0,2 de trombina desencadenando simultáneamente el aparato. Anotar el tiempo de coagulación que debe ser comprendido entre 9 segundos y 25 segundos. Si es superior a 25 segundos se deberá realizar una dilución menor del plasma y si es inferior a 9 segundos una dilución mayor.

b) Realización en baño maría.

Incubar en un tubo de hemolisis 0,2 ml de plasma diluido durante 2 minutos a 37°. Añadir 0,2 ml de trombina (a temperatura ambiente) dando simultáneamente al cronómetro. Inclinar suavemente el tubo hasta la aparición de un filamento de fibrina.

Cálculo:

Hacer la lectura en una tabla de equivalencia que se suministrará con cada Kit de Fibrinógeno.

9) MEDIDA DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACION DEL FIBRINOGENO (PDF). (Método de Latex).

Fundamento:

Este método permite la determinación rápida y semicuantitativa de los derivados del fibrinógeno. El test directo de aglutinación sobre porta consiste en enfrentar al suero a estudiar, con partículas de Latex sensibilizadas con anticuerpos antiproducidos de degradación del fibrinógeno (fragmentos D y E).

Material y Reactivos:

Trombo-Wellcotest. El estudio consta de: pequeños frascos para recoger la sangre total, los cuales contienen trombina, para asegurar una completa y rápida coagulación de la sangre y un inhibidor de la fibrinólisis (cuando se preparan en el laboratorio, se usa "Caproamin FIDES" - 1 gota por 1 c.c.; cada gota contiene 20 mg aproximadamente); reactivo de Latex.

Tampón necesario para la dilución de los sueros.

Una placa de vidrio, tubos capilares de plástico y bastoncillos de madera.

Técnica:

El suero obtenido, después de la coagulación de la sangre, es diluido al 1/5 y al 1/20, según las indicaciones del fabricante.

Colocar, a continuación, sobre uno de los 4 círculos de la placa de vidrio, una gota de cada dilución, así como una gota del testigo positivo, y del negativo. Añadir una gota de la suspensión de Latex, previamente agitada, a cada uno de los 4 círculos. Mezclar, cuidadosamente, mediante un bastoncillo de madera y observar, pasados dos minutos, la aparición de una aglutinación macroscópica.

Resultados e Interpretación:

La validez del reactivo viene controlada por la ausencia de aglutinación en presencia del testigo negativo, y la presencia de aglutinación en el positivo.

En ausencia de aglutinación con las dos diluciones del suero a estudiar, puede afirmarse que los derivados del fibrinógeno se encuentran en una cantidad inferior a $10 \mu\text{g/ml}$, ya que la sensibilidad del método es de $2 \mu\text{g/ml}$.

Si únicamente aparece aglutinación con la dilución 1/5, los derivados del fibrinógeno se encuentran en una concentración superior a $10 \mu\text{g/ml}$ pero inferior a $40 \mu\text{g/ml}$.

Cuando la aglutinación está claramente presente en las dos diluciones, la concentración de PDF es superior a $40 \mu\text{g/ml}$; en este caso deben efectuarse diluciones mayores.

En un sujeto sano lo normal es que los PDF sean negativos, es decir, menores de $10 \mu\text{g/ml}$.

Entre 10 y $40 \mu\text{g/ml}$ indican una pequeña positividad, y aparecen varias situaciones clínicas. Por encima de $40 \mu\text{g/ml}$ son claramente patológicas.

10) VISCOSIMETRIA SERICA.

Se realizó mediante viscosímetro tipo OSTWALD 100.

Agua destilada y suero separadamente se hacen fluir a través de un tubo capilar y el cociente de la duración de flujo (suero/agua) fue el valor hallado para la viscosidad sérica.

METODOLOGIA ESTADISTICA

I.- INTRODUCCION.

El objetivo de los cálculos estadísticos era poder observar y llegar a determinar científicamente la existencia o no de dependencia, de relación, entre las distintas variables clínicas que han sido objeto de estudio. Para ello, el objetivo fundamental de esta parte de la Tesis ha sido la determinación de los coeficientes de correlación muestrales. Aparte de estos coeficientes, que aparecen en los cuadros números X al XVI, ambos inclusive. el trabajo contiene una parte dedicada al contraste de las medias muestrales, en los cuadros números V al IX, ambos inclusive. Por otra parte, se ha realizado el contraste de los coeficientes de correlación muestrales para poder determinar la certeza de la existencia de correlación en la población. Por último, y dado el carácter cualitativo (en vez de cuantitativo) de la variable "Manifestaciones Clínicas", se ha aplicado, en orden a determinar la existencia de correlaciones, un método distinto que será comentado al describir los cuadros números XVII al XX, ambos inclusive.

II.- CUADROS NUMEROS: I, II, III, IV.

Contienen una medida de posición: media aritmética, y una medida de dispersión: desviación típica o desviación standard, utilizando las fórmulas:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \text{y} \quad s_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

II.- CUADROS NUMEROS: V, VI, VII, VIII, IX.

Contienen el contraste de las medias muestrales conociendo las va

rianzas poblacionales. Se hace la hipótesis de que la muestra procede de una población con media α y desviación típica σ . Esta hipótesis se contrasta mediante el estadístico $Z = \frac{\bar{X} - \alpha}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}}$, que se distribuye Normal (0,1).

IV.- CUADROS NUMEROS: X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI.

Contienen los coeficientes de correlación muestrales $R = \frac{S_{xy}}{S_x \cdot S_y}$, - siendo S_x y S_y las desviaciones típicas muestrales y S_{xy} la covarianza. Hay que señalar que para determinar R, se han utilizado las medias y desviaciones típicas de los cuadros números I, II, - III y IV, y las desviaciones típicas y medias de la información complementaria de los cuadros números XV y XVI en los casos en que era preciso.

También contienen estos cuadros el contraste de los coeficientes de correlación muestrales. Este contraste consiste en hacer la hipótesis de que el coeficiente de correlación poblacional es $\rho = 0$, en este caso, la distribución del estadístico $t = \frac{R}{\sqrt{1 - R^2}} \cdot \sqrt{n - 2}$ es una "t" de Student con $n - 2$ grados de libertad, siendo n el tamaño de la muestra. Este estadístico nos permite contrastar el coeficiente de correlación, pues si rechazamos la hipótesis de que $\rho = 0$, podemos afirmar que en la población existe correlación.

V.- CUADROS NUMEROS: XVII, XVIII, XIX, XX.

Contienen un tratamiento distinto (en orden a verificar la existencia de correlación), determinado por el carácter cualitativo de la variable "Manifestaciones Clínicas".

El método utilizado consiste en dividir los datos de la variable estudiada en cada caso junto a las "Manifestaciones Clínicas", en dos muestras: una, formada por los datos que coinciden con manifestaciones

clínicas negativas. Hecho ésto, realizamos el contraste de la diferencia de medias muestrales. Partimos de la hipótesis de que las dos muestras proceden de la misma población, y vemos si podemos rechazar o no esta hipótesis, considerando que existe correlación entre las variables cuando de la realización del contraste obtenemos como resultado que las muestras pertenecen a dos poblaciones distintas, y considerando que no existe correlación en la población cuando el resultado del contraste de la diferencia de medias es que las muestras pertenecen a la misma población.

Se ha utilizado para este contraste, el estadístico:

$$t = \frac{\sqrt{(m+n-2) \frac{m \cdot n}{m+n} \cdot (\bar{X} - \bar{Y})}}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{X})^2 + \sum (y_i - \bar{Y})^2}}$$

que se distribuye como una "t" de Student con $m + n - 2$ grados de libertad, siendo "m" y "n" los tamaños de las muestras y " \bar{X} " e " \bar{Y} " las respectivas medias muestrales.

82 bis

XI - RESULTADOS

XI.- RESULTADOS

EN EL MIELOMA MULTIPLE

En 80 enfermos de la serie total de 100 se confirmó el diagnóstico de Mieloma Múltiple (casos números 1 al 80). (cuadro número 8 a,b, c,d,e,f,g y h).

En este grupo se siguió la siguiente sistemática de estudio: historia clínica, exploración clínica exhaustiva, estudio bioquímico general que comprendía: hemograma, calcemia, creatinina, aclaramiento de creatinina, electroforesis en suero y orina, inmunoelectroforesis en suero y orina, electrolitos en suero (Na, K y Cl), y viscosimetría sérica (ocasional). En este grupo de enfermos fue realizada punción biopsia de cresta iliaca, con estudio citológico del material obtenido de médula ósea. En todos los enfermos de este grupo, fue realizada serie ósea radiológica completa que comprendía: radiografía de huesos largos, radiografía postero-anterior y lateral de craneo, radiografía de pelvis, radiografía de parrilla costal y radiografía de raquis.

Los criterios diagnosticos que se siguieron para este grupo de enfermos fueron los siguientes:

- 1) Un número aumentado de células plasmáticas anormales, atípicas o inmaduras en la médula ósea, o bien, la comprobación histológica de plasmocitoma extramedular.
- 2) Presencia de una proteína monoclonal en el suero y/o orina.
- 3) Lesiones óseas compatibles con las vistas en el Mieloma Múltiple.

Todos los pacientes que no reunían estos criterios diagnosticos -

fueron excluidos de nuestra serie. Asimismo, fueron excluidos de este grupo los pacientes con gammapatía monoclonal de significación desconocida, los cuales se caracterizan, como luego analizaremos, por una proteína sérica monoclonal cuya concentración es menor de 2 g/dl., albúmina sérica normal, 5% o menos de células plasmáticas en la médula ósea, ausencia de lesiones óseas compatibles con mieloma, ausencia de proteinuria de Bence-Jones, ausencia de anemia y un período de observación de al menos 3 años sin cambio y sin desarrollo de ninguna de las anormalidades anteriormente citadas. Los pacientes que presentaron plasmocitoma solitario, plasmocitoma extramedular o leucemia de células plasmáticas fueron también excluidos del presente grupo.

De la serie total de 100 enfermos afectos de discrasias de células plasmáticas, en 80 se confirmó el diagnóstico de Mieloma Múltiple (80%) (cuadro número 7). De este grupo, 45 fueron varones (56,2%) y 35 hembras (43,8%). De este grupo, en 40 pacientes se detectó en el suero una paraproteína IgG (50%), en 30, se detectó en el suero una paraproteína IgA (37,5%), en un paciente se detectó en el suero una paraproteína IgD (1,25%), en un paciente se detectó un Mieloma no secretor (1,25%) y los 8 pacientes restantes presentaron un Mieloma de cadenas ligeras (10%). (cuadro número 9).

De los 40 enfermos con Mieloma IgG en 25 se demostraron cadenas ligeras K (62,5%) y en 15, cadenas ligeras λ (37,5%). (cuadro número 10).

De los 30 enfermos con Mieloma IgA en 17 se demostraron cadenas ligeras K (56,6%) y en 13, cadenas ligeras λ (43,4%). (cuadro número 10). El enfermo número 71 presentó un Mieloma IgD con cadenas λ y el enfermo número 72 presentó un Mieloma no secretor.

De los 8 enfermos con Mieloma de cadenas ligeras, en 3 se demostraron cadenas ligeras K (37,5%) y en 5, cadenas ligeras λ (62,5%). (cuadro número 10).

En todos los enfermos de este grupo se determinaron las plaquetas, hallándose descendidas ($< 140.000/\text{mm}^3$) en 19 varones (42,2%) y en 19 -- hembras (54,3%).

En todos los enfermos de este grupo se determinó el tiempo de hemorragia (TH), hallándose elevado ($> 7'$) en 19 varones (42,2%) y en 19 -- hembras (54,3%).

La adhesividad plaquetaria in vitro fue realizada en 50 enfermos -- del grupo total de 80 pacientes afectados de Mieloma Múltiple. De éstos, en 27 enfermos se halló descendida ($< 59\%$), (54%).

En los 80 enfermos afectados de Mieloma Múltiple se realizó el tiempo de protrombina (T.P.) encontrándose elevado ($> 16''$) en 18 varones (40%) y en 15 hembras (42,8%).

En los 80 enfermos afectados de Mieloma Múltiple se determinó el fibrinógeno, hallándose éste normal. (190-370 mg%) en 54 enfermos (67,5%), elevado ($> 370 \text{ mg}\%$) en 23 enfermos (28,7%), descendido ($< 190 \text{ mg}\%$) en 3 enfermos (3,8%). De los 80 enfermos, se determinaron los P.D.F. en 50 enfermos hallándose éstos en límites normales ($\leq 10 \text{ microg/ml}$) en 19 -- enfermos (38%) y elevados ($> 10 \text{ microg/ml}$) en 31 enfermos (62%).

Del grupo total de 80 enfermos afectados de Mieloma Múltiple, en todos ellos fueron cuantificadas por inmunodifusión radial las inmunoglobulinas.

La cuantificación de la IgG en los 40 enfermos con Mieloma Múltiple IgG se halló (entre 1.225-12.500 mg/dl), con un valor medio para la IgG de 4.183,2 mg/dl.

En el grupo de 30 enfermos afectados de Mieloma Múltiple IgA, la --- cuantificación de la IgA se halló entre 470-4.440 mg/dl, con un valor --

medio para la IgA de 1.852,7 mg/dl.

De los 80 enfermos afectos de Mieloma Múltiple, en 25 se demostró clínicamente trastorno en la hemostasia (31,25%). (cuadro número 11).

CUADRO N° 7

86'

DISCRASIAS DE CELULAS PLASMATICAS

MIELOMAS	80	80 %
MACROGLOBULINEMIAS	20	20 %
N° TOTAL	<u>100</u>	<u>100 %</u>

CUADRO N° 8a

A. Plaquetaria

Caso N°	S	E	Plaquetas	T.H.	-in vitro-	T.P.	Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA	IgM	Manif. Clinicas	Diagnostico
1	V	53	170.000	5	—	13	300	7	1.675	464	180	—	MIELOMA IgGK
2	V	58	98.000	9	55%	15	270	50	4.000	31	20	+	" "
3	V	55	220.000	6	—	13	280	8	1.900	40	44	—	" "
4	H	62	120.000	5	68%	17	360	70	3.000	48	71	—	" "
5	H	60	105.000	10	57%	16	420	15	4.600	143	86	—	" "
6	V	65	110.000	3	78%	18	260	65	2.000	126	71	—	" "
7	V	50	86.000	12	44%	19	185	90	6.000	16	40	+	" "
8	V	67	240.000	6	74%	12	300	—	1.300	27	69	—	" "
9	H	61	290.000	5	61%	15	390	—	2.100	185	104	—	" "
10	V	71	95.000	6	68%	16	250	30	1.225	57	49	—	" "

CUADRO N° 8b

A. Plaquetaria

Caso N°	S	E	Plaquetas	T.H.	-in vitro-	T.P.	Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA	IgM	Manif. Clinicas	Diagnostico
11	V	72	210.000	5,5	70%	15	250	-	1.974	48	89	-	MIELOMA IgGκ
12	H	61	180.000	7	-	12	420	9	3.000	124	78	-	" "
13	H	75	75.000	14	35%	17	480	20	7.600	57	44	+	" "
14	V	80	95.000	11	50%	20	270	110	3.124	71	89	+	" "
15	H	61	120.000	7	24%	18	330	65	7.800	25	26	+	" "
16	V	74	300.000	5	-	13	340	-	1.550	40	64	-	" "
17	V	68	260.000	5	74%	14	300	-	1.700	120	48	-	" "
18	V	61	110.000	8	-	15	290	6	1.500	126	39	-	" "
19	H	63	100.000	13	32%	18	400	58	9.000	20	34	+	" "
20	H	76	75.000	17	20%	21	520	70	12.500	15	21	+	" "

CUADRO N° 8c

Caso N°	S	E	A. Plaquetaria										IgM	Manif. Clinicas	Diagnostico
			Plaquetas	T.H.	-in vitro-	T.P.	Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA	IgM	Manif. Clinicas			
21	V	82	150.000	9	48%	14	380	12	2.800	45	23	-	MIELOMA IgGK		
22	H	65	140.000	6	-	13	385	5	2.450	84	55	-	" "		
23	H	49	98.000	10	60%	17	335	100	4.800	64	15	+	" "		
24	V	78	150.000	9	-	18	460	25	4.400	88	30	-	" "		
25	V	70	130.000	11	48%	17	340	48	7.500	30	20	+	" "		
26	V	67	240.000	8	61%	13	380	-	2.450	320	110	-	MIELOMA IgGλ		
27	V	78	350.000	6	75%	14	210	-	1.500	48	44	-	" "		
28	H	62	185.000	4	72%	15	370	10	2.600	260	64	-	" "		
29	H	71	125.000	9	58%	18	365	70	5.000	50	140	-	" "		
30	V	55	310.000	8	-	16	390	-	2.530	35	20	-	" "		

CUADRO N° 8d

A. Plaquetaria

Caso N°	S	E	Plaquetas	T.H.	- in vitro -	T.P.	Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA	IgM	Manif. Clínicas	Diagnostico
31	H	74	350.000	4	77%	13	300	-	1.650	85	200	-	MIELOMA IgGλ
32	V	60	190.000	7	70%	16	410	9	4.300	12	34	-	" "
33	H	76	220.000	5	-	14	200	-	1.700	230	200	-	" "
34	H	80	150.000	7	-	17	185	65	3.600	40	45	+	" "
35	H	65	84.000	9	38%	19	340	90	7.000	27	30	+	" "
36	V	78	90.000	12	24%	18	580	75	11.000	20	15	+	" "
37	V	59	10.000	15	20%	22	420	50	11.000	20	21	+	" "
38	H	73	50.000	10	54%	20	270	67	4.500	50	40	+	" "
39	V	62	68.000	9	65%	17	150	80	3.200	82	34	-	" "
40	V	55	90.000	15	45%	19	330	20	5.800	27	30	+	" "

CUADRO N° 8 e

Caso N°	S	E	A. Plaquetaria			Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA	IgM	Manif. Clínicas	Diagnostico	
			Plaquetas	T.H.	- in vitro -								T.P.
41	V	84	110.000	9	-	17	380	35	400	3.100	20	-	MIELOMA IgAk
42	V	66	150.000	5	-	15	200	-	470	930	20	-	" "
43	V	57	100.000	11	56%	18	290	60	230	3.560	28	+	" "
44	H	69	120.000	7	-	15	360	-	590	2.247	62	-	" "
45	H	73	60.000	15	25%	19	420	70	560	4.100	34	+	" "
46	V	65	200.000	6	-	12	190	-	410	1.300	34	-	" "
47	V	77	240.000	5	-	13	250	-	300	1.000	120	-	" "
48	H	60	300.000	3	-	12	300	-	550	1.200	32	-	" "
49	V	68	300.000	2	-	12	280	-	300	470	90	-	" "
50	V	73	160.000	5	-	14	280	-	410	1.300	34	-	" "

CUADRO N° 8f

A. Plaquetaria

Casc. N°	S	E	Plaquetas	T.H.	- in vitro -	T.P.	Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA	IgM	Manif. Clínicas	Diagnostico
51	V	62	120.000	8	-	17	195	40	880	1.280	30	-	MIELOMA IgAK
52	V	79	150.000	7	-	15	290	-	1.083	730	34	-	" "
53	H	65	200.000	9	-	15	260	-	360	1.100	30	-	" "
54	V	70	90.000	11	30%	18	250	80	580	3.500	71	+	" "
55	V	73	45.000	16	32%	20	275	70	480	2.910	34	+	" "
56	H	81	80.000	11	27%	18	240	90	540	1.800	90	+	" "
57	H	67	110.000	9	44%	16	230	-	850	1.600	55	-	" "
58	H	62	130.000	8	-	15	410	-	480	2.148	218	-	MIELOMA IgAλ
59	V	77	250.000	6	-	12	320	-	780	560	44	-	" "
60	V	80	200.000	5	-	13	390	-	320	761	34	-	" "

867

CUADRO N° 8g

A. Plaquetaria

Caso N°	S	E	Plaquetas	T.H.	-in vitro-	T.P.	Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA	IgM	Manif. Clinicas	Diagnostico
61	V	76	120.000	7	-	17	250	-	270	1.950	34	-	MIELOMA IgA λ
62	H	78	150.000	8	-	15	275	-	1.000	1.574	160	-	" "
63	H	60	100.000	9	-	19	400	9	340	2.944	15	+	" "
64	V	59	180.000	6	-	17	200	-	280	921	20	-	" "
65	V	61	150.000	5	-	15	300	-	250	980	24	-	" "
66	V	58	90.000	7	-	17	220	7	620	1.326	39	-	" "
67	H	64	40.000	11	33%	21	290	60	650	4.440	40	+	" "
68	V	70	85.000	10	40%	18	310	-	800	1.900	34	-	" "
69	H	65	100.000	12	38%	17	300	-	1.050	1.600	25	+	" "
70	H	74	95.000	13	34%	19	380	-	1.250	2.350	20	+	" "

CUADRO Nº 8 h

A. Plaquetaria

Caso Nº	S	E	Plaquetas	T.H.	-in vitro -	T.P.	Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA	IgM	Manif. Clinicas	Diagnostico
71	H	72	240.000	4	64%	13	340	8	600	31	160	-	MIELOMA IgD
72	V	70	340.000	3,5	70%	12	300	4	1.400	160	100	-	MIELOMA NO SECRETOR
73	H	74	310.000	5,5	82%	14,5	380	6	400	65	12	-	MIELOMA C. LIGERAS K
74	H	65	200.000	8	54%	15	400	10	1.100	97	89	+	" "
75	H	64	380.000	2	72%	13,5	280	2	500	57	40	-	" "
76	V	66	250.000	1,5	70%	12,4	250	4	800	198	49	-	MIELOMA C. LIGERAS λ
77	H	65	280.000	2,5	67%	14	320	0	540	20	34	-	" "
78	H	70	240.000	3	64%	15	370	2	800	150	35	-	" "
79	V	71	350.000	4,5	69%	14,5	330	3	720	48	35	-	" "
80	V	84	230.000	5	60%	15	450	6	650	55	40	-	" "

8610

CUADRO N°9

DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO EN EL GRUPO MIELOMA

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>TOTAL</u>
N° DE CASOS	45 (56,2%)	35 (43,8%)	80 (100%)
EDAD MEDIA (años)	68,3a.	67,4a.	67,9a.

MIELOMAS

IgG	40	50 %
IgA	30	37,5 %
IgD	1	1,25 %
NO SECRETOR	1	1,25 %
CADENAS LIGERAS	8	10 %
N° TOTAL	<u>80</u>	<u>100 %</u>

CUADRO N° 10

8611

<u>MIELOMA IgG</u>		
IgG _K	25	62,5 %
IgG _λ	15	37,5 %
Nº TOTAL	40	100 %

<u>MIELOMA IgA</u>		
IgA _K	17	56,6 %
IgA _λ	13	43,3 %
Nº TOTAL	30	100 %

<u>MIELOMA IgD</u>		
IgD _λ	1	

<u>MIELOMA NO SECRETOR</u>		
M. NO SECRETOR	1	

<u>MIELOMAS CADENAS LIGERAS</u>		
CADENAS LIGERAS K	3	37,5 %
CADENAS LIGERAS λ	5	62,5 %
Nº TOTAL	8	100 %

CUADRO N°11

86¹²

MIELOMA MULTIPLE

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>Nº TOTAL</u>
PLAQUETAS < 140.000/mm ³	19(42,2%)	19(54,3%)	38(47,5%)
T. H. > 7'	19(42,2%)	19(54,3%)	38(47,5%)
T. P. > 16"	18(40 %)	15(42,8%)	33(41,2 %)
FIBRINOGENO (190 - 370)	33(73,3%)	21(60 %)	54(67,5 %)
FIBRINOGENO (> 370)	10(22,2%)	13(37,14%)	23(28,7 %)
FIBRINOGENO (< 190)	2(4,4%)	1(2,8%)	3(3,8%)
A. PLAQUETARIA - IN VITRO - (< 59 %)	12(48 %)	15(60 %)	27(54 %)
PDF (≤ 10)	9(18 %)	10(20 %)	19(38 %)
PDF (> 10)	17(34 %)	14(28 %)	31(62%)

MIELOMA MULTIPLE. CUANTIFICACION IgS

	<u>Nº CASOS</u>	<u>V. MEDIO IgS</u>
IgG	40	4.183,2 mgr/dl.
IgA	30	1.852,7 mgr/dl.

RESULTADOSMACROGLOBULINEMIA DE WALDESTROM

En 20 enfermos de la serie total de 100 se confirmó el diagnóstico de Macroglobulinemia de Waldeström (casos números 81 al 100) (cuadro número 8 i,j). En este grupo de pacientes se siguió la misma sistemática de estudio expuesta para el grupo de pacientes con Mieloma Múltiple.

Los criterios diagnósticos que se siguieron para este grupo de enfermos fueron los siguientes:

- 1) Presencia de anemia severa.
- 2) Linfadenopatía de moderada a severa.
- 3) Hepatoesplenomegalia.
- 4) Infiltración de la médula ósea por células linfo-plasmocitoides.
- 5) Paraproteína IgM, en el suero mayor de 250 mg/dl.
- 6) Presencia ocasional de síndrome de hiperviscosidad.
- 7) Serie ósea radiológica similar a la realizada en el grupo Mieloma Múltiple.

El número total de enfermos estudiados, afectados de Macroglobulinemia de Waldeström fue de 20, lo cual representa el 20% del grupo total de 100 enfermos de la serie. De estos 20 enfermos, 15 fueron varones -- (75%) y 5 hembras (25%). Las edades estaban comprendidas entre 46 y 76 años, con una media de edad de 67 años, para el grupo total. Las edades para el grupo de 15 varones estaban comprendidas entre 46 y 76 años con una media de edad de 66,4 años. Las edades de las hembras estaban comprendidas entre 61 y 72 años con una media de edad de 68,8 años.

En los 20 enfermos, se demostró la existencia de una paraproteína

IgM en el suero. De éstos, 14 eran IgM K (70%) y 6 eran IgM λ (30%). (cuadro número 12).

En los 20 pacientes se determinó la viscosimetría del suero y el valor de ésta estaba comprendido entre 1,3 y 15. El valor medio de la viscosimetría sérica fue de 5,11 centipoises. En los casos números 82, 85, 88, 89, 91, 93, 94, 97, 99 y 100, se hallaron valores de viscosimetría plasmática de 4,8, 7, 8, 10, 6, 15, 7, 4, 6,5 y 14,4 respectivamente, siendo patente en todos ellos la existencia de un síndrome de hiper viscosidad clínicamente manifiesto. (cuadro número 13).

Las plaquetas se hallaron descendidas ($< 140.000/\text{mm}^3$) en 9 enfermos (45%).

El tiempo de hemorragia (T.H.) se encontró prolongado ($> 7'$) en 13 enfermos (65%).

La adhesividad plaquetaria in vitro se halló descendida ($< 59\%$) - en 15 enfermos (75%).

El T.P. se halló elevado ($> 16''$) en 10 enfermos. (50%).

El fibrinógeno se encontró normal (190-370 $\text{mg}\%$) en 8 enfermos (40%), elevado ($> 370 \text{mg}\%$) en 12 enfermos (60%).

Los P.D.F. se hallaron normales ($\leq 10 \text{microg/ml}$), en 8 enfermos - (40%) y elevados ($> 10 \text{microg/ml}$) en 12 enfermos (60%).

La cuantificación de la IgM se halló entre 418 y 2.800 $\text{mg}\%$ con un valor medio hallado para la IgM de 1.412,8 mg/dl (cuadro número 14).

En 12 enfermos se objetivaron manifestaciones clínicas de trastorno de la hemostasia (60%). (cuadro número 14).

CUADRO Nº 81

Caso Nº	S	E	A. Plaquetaria										IgM	Manif. Clínicas	Diagnóstico
			Plaquetas	T.H.	-in vitro-	T.P.	Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA					
81	V	69	130.000	6	34%	14	380	9	1.120	126	700	-	MACROGLOBULINEMIA IgM:k		
82	H	71	90.000	10	46%	16	300	20	230	156	2.450	+	" "		
83	V	73	180.000	7	60%	15	480	4	1.100	250	1.500	-	" "		
84	V	75	240.000	3,5	50%	16,5	500	8	1.300	249	558	-	" "		
85	V	69	45.000	12	28%	15	350	30	900	68	2.200	+	" "		
86	V	46	180.000	7	49%	17	320	55	1.100	250	1.500	+	" "		
87	V	64	110.000	6	67%	19	380	60	710	126	1.060	-	" "		
88	H	70	110.000	9	53%	20	300	80	800	150	2.040	+	" "		
89	V	74	120.000	10	45%	17	250	110	750	150	1.700	+	" "		
90	V	76	140.000	13	26%	18	300	30	850	125	2.500	+	" "		

CUADRO N° 8 J

Caso N°	S	E	A. Plaquetaria				Fibrinog.				IgM			Manif. Clínicos	Diagnostico
			Plaquetas	T.H.	- in vitro -	T.P.	T.P.	Fibrinog.	P.D.F.	IgG	IgA	IgM	Manif. Clínicos		
91	V	75	160.000	8	52%	17	380	5	1.130	220	1.040	+	MACROGLOBULI-NEMIA IgMK		
92	V	69	190.000	7,5	43%	16	450	2	950	135	1.700	-	" "		
93	H	70	140.000	9	35%	15	390	6	840	120	2.800	+	" "		
94	V	54	80.000	9,5	47%	14,5	550	8	1.300	220	1.600	+	" "		
95	H	61	190.000	7,5	59%	15	440	25	900	297	418	-	" IgM λ		
96	V	60	200.000	6	61%	14,5	430	20	1.600	360	900	-	" "		
97	V	58	210.000	9,5	43%	17,5	420	10	1.120	250	950	+	" "		
98	V	64	240.000	8	58%	15	550	20	1.200	165	850	-	" "		
99	V	70	120.000	5	60%	19	310	70	1.200	150	740	+	" "		
100	H	72	105.000	9	32%	22	320	90	840	100	1.050	+	" "		

CUADRO Nº 12

MACROGLOBULINEMIA DE W.

Nº DE CASOS	<u>V</u> 15 (75 %)	<u>H</u> 5 (25 %)	<u>TOTAL</u> 20 (100 %)
EDAD (años) MEDIA	66,4 a.	68,8 a.	67 a.
<hr/>			
IgM	<u>K</u> 14 (70 %)	<u>λ</u> 6 (30 %)	<u>TOTAL</u> 20 (100 %)

CUADRO N° 13

VISCOSIMETRIA SERICA		MACROGLOBULINEMIA
Caso N°	Viscosidad P.	IgM
81	2	700
82 ⁺⁺	4,8	2.450
83	1,4	1.500
84	1,5	558
85 ⁺⁺	7	2.200
86	1,6	1.500
87	2,5	1.060
88 ⁺⁺	8	2.040
89 ⁺⁺	10	1.700
90	2	2.500
91 ⁺⁺	6	1.040
92	1,3	1.700
93 ⁺⁺	15	2.800
94 ⁺⁺	7	1.600
95	3	418
96	2,8	900
97 ⁺⁺	4	950
98	1,4	850
99 ⁺⁺	6,5	740
100 ⁺⁺	14,4	1.050

++ SE DESARROLLO SINDR. HIPERVISCOIDAD CLINIC. MANIFIESTO.

CUADRO N°14

88^s

MACROGLOBULINEMIA

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>Nº TOTAL</u>
PLAQUETAS < 140.000/mm ³	6(40%)	3(60%)	9(45%)
T.H. (>7')	8(53,3%)	5(100%)	13(65%)
T.P. (>16")	8(53,3%)	2(40%)	10(50%)
FIBRINOGENO (190 - 370)	5(33,3%)	3(60%)	8(40%)
FIBRINOGENO (>370)	10(66,6%)	2(40%)	12(60%)
A. PLAQUETARIA -IN VITRO- (<59%)	11(73,3%)	4(80%)	15(75%)
PDF (≤10)	7(46,6%)	1(20%)	8(40%)
PDF (>10)	8(53,3%)	4(80%)	12(60%)

MACROGLOBULINEMIA. CUANTIFICACION IgM

	<u>Nº CASOS</u>	<u>V. MEDIO IgM</u>
IgM	20	1.412,8 mgr/dl.

88^c

I.

DATOS ESTADISTICOSMEDIAS Y DESVIACIONES TIPICAS MUESTRALESMieloma Múltiple IgG

<u>VARIABLES</u>	<u>Número de datos</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>\bar{S}</u>
Adhesividad plaquetaria "in vitro"	30	54,167	17,641
Tiempo de hemorragia (.T.H.)	40	8,312	3,337
Fibrinógeno	40	335,375	91,333
T.P.	40	16,175	2,529
IgM	40	60,9	47,199
IgA	40	85	91,685
IgG	40	4.183,2	2.904,121
P.D.F.	30	46,633	32,014
Nº de Plaquetas	40	155,975	83.281,296

887

II.

Mieloma Múltiple IgA

<u>Variables</u>	<u>Número de datos</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>\bar{S}</u>
Adhesividad plaquetaria "in vitro"	10	35,9	8,665
Tiempo de hemorragia (T.H.)	30	8,2	3,260
Fibrinógeno	30	291,167	65,481
T.P.	30	16,033	2,470
IgM	30	50,833	44,367
IgA	30	1.852,7	1.055,14.
IgG	30	569,433	272,449
P.D.F.	10	52,1	27,039
Nº de Plaquetas	30	140.833,33	66.696,868

28*

III.

Mieloma Múltiple de Cadenas Ligeras

<u>Variables</u>	<u>Número de datos</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>\bar{S}</u>
Adhesividad plaquetaria "in vitro"	8	67,25	7,822
Tiempo de hemorragia (T.H.)	8	4	2,031
Fibrinógeno	8	347,5	61,186
T.P.	8	14,237	0,856
IgM	8	41,75	20,395
IgA	8	86,25	55,682
IgG	8	688,75	205,392
P.D.F.	8	4,125	2,934
Nº de Plaquetas	8	280.000	58.309,158

88⁹

IV.

Macroglobulinemia de Waldeström

<u>Variables</u>	<u>Número de datos</u>	<u>\bar{x}</u>	<u>\bar{s}</u>
Adhesividad plaquetaria "in vitro"	20	47,4	11,504
Tiempo de hemorragia (T.H.)	20	8,125	2,235
Fibrinógeno	20	390	84,261
T.P.	20	16,65	2,056
IgM	20	1.412,8	681,19
IgA	20	183,35	72,613
IgG	20	997	279,394
P.D.F.	20	33,1	31,802
Nº de Plaquetas	20	149.400	51.714,021

88¹⁰

v.

CONTRASTE DE LAS MEDIAS MUESTRALES CONOCIENDO
LAS VARIANZAS POBLACIONALES

Mieloma Múltiple IgG

<u>Variables</u>	<u>Número de datos</u>	<u>valor de Z</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>	
Adhesividad plaquetaria "in vitro"	30	-7,884	-7,884	-1,96
Tiempo de hemorragia (T.H.)	40	+11,84	+1,96	+11,84
Fibrinógeno	40	+3,862	+1,96	+3,862
T.P.	40	+6,874	+1,96	+6,874
IgM	40	-6,265	-6,265	-1,96
IgA	40	-6,5	-6,5	-1,96
IgG	40	+36,47	+1,96	+36,47
P.D.F.	30	+72,41	+1,96	+72,41
Nº de Plaquetas	40	-5,31	-5,31	-1,96

Mieloma Múltiple IgA

<u>Variables</u>	<u>Número de datos</u>	<u>Valor de Z</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>	
Adhesividad plaquetaria "in vitro"	10	-9,803	-9,803	-1,96
Tiempo de hemorragia (T.H.)	30	+9,846	+1,96	+9,846
Fibrinógeno	30	+0,678	-1,96	+0,678 +1,96
T.P.	30	+5,56	+1,96	+5,56
IgM	30	-6,005	-6,005	-1,96
IgA	30	+48,16	+1,96	+48,16
IgG	30	-8,003	-8,003	-1,96
P.D.F.	10	+47,539	+1,96	+47,539
Nº de Plaquetas	30	-5,42	-5,42	-1,96

88¹²

VII.

MIELOMA MULTIPLE DE CADENAS LIGERAS

<u>Variables</u>	<u>Número de datos</u>	<u>Valor de Z</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>		
Adhesividad plaquetaria "in vitro"	8	-0,705	-1,96	-0,705	+1,9
Tiempo de hemorragia (T.H.)	8	-2,82	-2,82	-1,96	
Fibrinógeno	8	+2,115	+1,96	+2,115	
T.P.	8	+0,335	-1,96	+0,335	+1,9
IgM	8	-3,372	-3,372	-1,96	
IgA	8	-2,887	-2,887	-1,96	
IgG	8	-3,458	-3,458	-1,96	
P.D.F.	8	-2,71	-2,71	-1,96	
Nº de Plaquetas	8	+1,26	-2,71	+1,96	+2,71

VIII.

Macroglobulinemia de Waldeström

<u>Variables</u>	<u>Número de datos</u>	<u>Valor de Z</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>	
Adhesividad plaquetaria "in vitro"	20	-9,186	-9,186	-1,96
Tiempo de hemorragia (T.H.)	20	+7,824	+1,96	+7,824
Fibrinógeno	20	+5,463	+1,96	+5,463
T.P.	20	+5,923	+1,96	+5,923
IgM	20	+59,21	+1,96	+59,21
IgA	20	-2,153	-2,153	-1,96
IgG	20	-2,71	-2,71	-1,96
P.D.F.	20	+38,908	+1,96	+38,908
Nº de Plaquetas	20	-4,04	-4,04	-1,96

En la Distribución Normal, para un nivel de significación de 0,05, los valores críticos son: -1,96 y +1,96.

88¹⁴

IX.

VALORES NORMALES POBLACIONALES
CON LOS METODOS UTILIZADOS

<u>Variables</u>	<u>α</u>	<u>σ</u>
Adhesividad plaquetaria "in vitro"	70%	11%
Tiempo de hemorragia (T.H.)	5,5'	1,5'
Fibrinógeno (mgrs/dl)	280	90
T.P. (Tiempo de Protrombina)	14''	2''
IgM (mgrs/dl)	155	95
IgA (mgrs/dl)	270	180
IgG (mgrs/dl)	1.300	500
P.D.F. (mgrs/ml)	7	3
Nº de Plaquetas/mm ³	240.000	100.000
Viscosimetría	1,6	0,2

siendo α = media poblacional
 σ = desviación típica
poblacional

COEFICIENTE DE CORRELACION MUESTRAL Y CONTRASTE
DEL COEFICIENTE DE CORRELACION

K.

Mieloma Múltiple IgG

<u>Variables</u>	<u>Valor de R</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>
IgG - Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	-0,921	38*	-6,79	-6,79 -1,96
Nº de Plaquetas - Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	+0,626	28	+4,240	+2,048 +4,240
Tiempo de Hemorragia - Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	-0,818	28	-7,492	-7,492 -2,048
IgG - P.D.F.	+0,362	28	+2,050	+2,048 +2,050
Nº de Plaquetas - P.D.F.	-0,549	28	-3,475	-3,475 -2,048
T.P. - P.D.F.	+0,677	28	+4,853	+2,048 +4,853
IgG - Fibrinógeno	+0,566	38*	+4,233	+1,96 +4,233
P.D.F. - Fibrinógeno	-0,237	28	-1,293	-2,048 -1,293 +2,048

88¹⁷

* En estos dos casos, por tener 38 grados de libertad, se utiliza en el contraste la distribución normal en vez de la "t" de Student, y los valores críticos son -1,96 y +1,96 para el nivel de significación 0,025.

Mieloma Múltiple IGA

<u>Variables</u>	<u>R</u>	<u>Grados de Libertad</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>
IGA - Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	-0,163	8	-0,467	-2,306 -0,467 +2,306
Nº de Plaquetas - Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	+0,548	8	+1,854	-2,306 +1,854 +2,306
Tiempo de Hemorragia - Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	-0,474	8	-1,523	-2,306 -1,523 +2,306
IGA - P.D.F.	+0,351	8	+1,06	-2,306 +1,06 +2,306
Nº de Plaquetas - P.D.F.	-0,457	8	-1,45	-2,306 -1,45 +2,306
T.P. - P.D.F.	+0,314	8	+0,932	-2,306 -0,932 +2,306
IGA - Fibrinógeno	+0,383	28	+2,19	+2,048 +2,19
P.D.F. - Fibrinógeno	-0,146	8	-0,414	-2,306 -0,414 +2,306

Mieloma Múltiple de Cadenas Ligeras

<u>Variables</u>	<u>Valor de R</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>
Nº de Plaquetas - Adhesividad Plaquetaria "in Vitro"	+0,688	6	+2,317	-2,447 +2,317 +2,447
Tiempo de Hemorragia - Adhesividad Plaquetaria "in Vitro"	-0,393	6	-1,047	-2,447 -1,047 +2,447
Nº de Plaquetas - P.D.F.	-0,519	6	-1,48	-2,447 -1,48 +2,447
T.P. - P.D.F.	+0,362	6	+0,948	-2,447 +0,948 +2,447
P.D.F. - Fibrinógeno	+0,559	6	+1,648	-2,447 +1,648 +2,447

122

Macroglobulinemia de Waldeström

XIII.

<u>Variables</u>	<u>Valor de R</u>	<u>Grados de Libertad</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Comparación con Los valores críticos</u>
IgM - Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	-0,516	18	-2,549	-2,549 -2,101
Nº de Plaquetas - Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	+0,378	18	+1,727	-2,101 +1,727 +2,101
Tiempo de Hemorragia - Adhesividad Plaquetaria "in vitro"	-0,639	18	-3,515	-3,515 -2,101
IgM - P.D.F.	+0,017	18	+0,068	-2,101 +0,068 +2,101
Nº de Plaquetas - P.D.F.	-0,396	18	-1,826	-2,101 -1,826 +2,101
T.P. - P.D.F.	+0,706	18	+4,231	+2,101 +4,231
IgM - Fibrinógeno	-0,388	18	-1,78	-2,101 -1,78 +2,101
P.D.F. - Fibrinógeno	-0,683	18	-3,958	-3,958 -2,101
Adhesividad Plaquetaria - Viscosidad	-0,379	18	-1,738	-2,101 -1,738 +2,101
IgM - Viscosidad	+0,376	18	+1,716	-2,101 +1,716 +2,101

∞

En la Distribución "t" de Student, para un nivel de significación de 0,05, los valores críticos, según los siguientes grados de libertad, son:

<u>Grados de libertad</u>	<u>Valores críticos</u>
6	<u>+2,447</u>
8	<u>+2,306</u>
18	<u>+2,101</u>
28	<u>+2,048</u>

xv.

MEDIAS Y DESVIACIONES TIPICAS RECTIFICADAS

Mieloma Múltiple IgG

Con adhesividad
Plaquetaria "in vitro" Con P.D.F.

<u>Variables</u>	<u>\bar{x}</u>	<u>s</u>	<u>\bar{x}</u>	<u>s</u>
Nº de Plaquetas	142.966,66	84.946,054	115.633,33	44.319,659
Tiempo de Hemorragia	8,883	3,596		
IgG	4.767,43	3.097,25	4.962,467	2.960,776
T.P.			16,933	2,407
Fibrinógeno			345,167	96,216

88²²

Mieloma Múltiple IGA

Con adhesividad
Plaquetaria "in vitro" Con P.D.F.

<u>Variables</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S</u>	<u>\bar{X}</u>	<u>S.</u>
Nº de Plaquetas	80.500	22.961,925	83.500	25.695,33
Tiempo de Hemorragia	11,9	2,071		
IGA	2.776	1.017,155	2.896	1.046,946
T.P.			18,4	1,281
Fibrinógeno			296	74,155

Por faltar datos de Adhesividad Plaquetaria y de P.D.F., al hallar el coeficiente de correlación se ha hecho necesario determinar las medias y desviaciones típicas de los datos de las variables que se indican que coincidían con los datos existentes de Adhesividad Plaquetaria y de P.D.F.

CONTRASTE DE LA DIFERENCIA DE MEDIASMieloma Múltiple IgG

<u>VARIABLES</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>	
Adhesividad Plaquetaria - Manifestaciones Clínicas	28	-6,89	-6,89	-2,048
P.D.F. - Manifestaciones Clínicas	28	+3,767	+2,048	+3,767
IgG - Manifestaciones Clínicas	38 *	+7,104	+1,96	+7,104

* En este caso por tener 38 grados de libertad, se utiliza en el contraste la distribución normal en vez de la "t" de Student y los valores críticos son -1,96 y +1,96 para el nivel de significación de 0,05.

Mieloma Múltiple IgA

<u>Variables</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>
Adhesividad Plaquetaria - <u>Mani</u> <u>festaciones Clínicas</u>	8	-1,06	-2,306 -1,06 +2,306
P.D.F. - <u>Manifestaciones Clíni</u> <u>cas</u>	8	+2,119	-2,306 +2,119 +2,306
IgA - <u>Manifestaciones Clínicas</u>	28	+5,58	+2,048 +5,58

88²⁴

XIX.

Macroglobulinemia de Waldeström

<u>Variables</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Valor de t</u>	<u>Comparación con los valores críticos</u>
Adhesividad Plaquetaria - Manifestaciones Clínicas	18	-2,25	-2,25 -2,101
P.D.F. - Manifestaciones Clínicas	18	+1,71	-2,101 +1,71 +2,101
Viscosidad - Manifestaciones Clínicas	18	+3,406	+2,101 +3,406

88²⁵

XX.

En la distribución "t" de Student, para un nivel de significación de 0,05, los valores críticos, en función de los grados de libertad, son:

<u>Grados de libertad</u>	<u>Valores críticos</u>
8	$\pm 2,306$
18	$\pm 2,101$
28	$\pm 2,408$

8826

XII - ANALISIS DE LOS RESULTADOS

XII - ANALISIS DE LOS RESULTADOS

a) EN EL MIELOMA IgG

Del grupo total de enfermos con Mieloma Múltiple (80 pacientes), en 40 (50%) se demostró un Mieloma Múltiple IgG, de éstos, 25 pacientes tenían una IgG K (62,5%) y 15 tenían una IgG λ (37,5%). Esta distribución es similar a la ya referida anteriormente en la literatura (131). En estos 40 pacientes afectados de Mieloma Múltiple IgG existía trombocitopenia ($< 140.000/\text{mm}^3$) en 21 enfermos (52,5%). La incidencia de trombocitopenia en las diferentes series de pacientes afectados de Discrasia de célula plasmática varían entre el 25-60% (132) (133), pero, sin embargo, es una causa rara de hemorragia. La cifra plaquetaria en estos pacientes generalmente está en relación directa con la cuantificación sérica de la paraproteína, dato que indirectamente refleja la infiltración medular por las células mielomatosas, de lo que se deduce que la trombocitopenia en estos pacientes es generalmente de origen central, secundaria a infiltración medular mielomatosa. Otra causa de trombocitopenia en estos enfermos, es la terapéutica con citostáticos, uremia, hepatopatía mielomatosa, hiperesplenismo, expansión del volumen plasmático, síndrome de hiperviscosidad con trombosis a nivel de la microcirculación y, por último, la presencia de una coagulopatía de consumo crónica secundaria a la neo en sí, a la existencia de una sepsis o a la presencia de amiloidosis primaria sistémica (4) (134) (135).

La alteración de la función plaquetaria en los enfermos con Discrasia de célula plasmática se correlaciona mejor con hemorragia significativa, por lo que la determinación del T. H. y el estudio in vivo o in vitro de la adhesividad plaquetaria, como índices de la función plaquetaria son dos tests de Screening fundamentales en los pacientes afectados de gammapatía monoclonal (136) (133). En presencia de trombocitopenia, aunque sólo sea moderada, T. H. prolongado sugiere función pla-

quetaria alterada. Las anormalidades del T.H. en las gammapatías monoclonales han sido ampliamente documentadas en la literatura (137) (138). Asimismo se ha encontrado un descenso en la disponibilidad del factor III plaquetario en pacientes con gammapatía monoclonal fundamentalmente en los afectos de Macroglobulinemia. Este defecto parece estar relacionado con el recubrimiento de la plaqueta con la proteína monoclonal, originando una alteración en el funcionalismo plaquetario (137) (139).

El defecto en la disponibilidad en el factor III plaquetario puede ocurrir como un hallazgo aislado, pero generalmente se asocia con anormalidades en la adhesividad y agregación de la plaqueta. Usando los tests de adhesividad in vivo o in vitro, éstos pueden por ello ser anormales en los pacientes con Macroglobulinemia y en los pacientes con Mieloma Múltiple (133) (140).

Para algunos autores el T.H. prolongado y el trastorno en la adhesividad plaquetaria en los pacientes con gammapatía monoclonal, parece estar en relación con la interferencia de la superficie del tejido conectivo con la proteína mielomatosa, originando una adhesión plaquetaria insuficiente y un coágulo plaquetario hemostático anormal (141).

En las distintas series de estudio, la hemorragia clínicamente manifiesta en estos pacientes, estuvo asociada a una concentración de paraproteína en el suero igual o mayor a 5 g/dl. Asimismo, estos trabajos confirman una mejoría de las manifestaciones hemorrágicas tras el tratamiento con plasmaféresis de los pacientes afectos de disproteinemia. Este último dato parece demostrar de forma fehaciente el papel fundamental que desempeña la proteína mielomatosa en el desencadenamiento de una función plaquetaria anómala, ya sea por descenso en la disponibilidad del fosfolípido plaquetario o por interacción de la proteína monoclonal con la superficie del conectivo tisular del endotelio vascular. Estas alteraciones parecen ser la causa más importante de hemorragia en los pacientes con Discrasia plasmocítica.

De los 40 enfermos afectados de Mieloma Múltiple IgG se objetivó en 21 enfermos una prolongación del T.H. ($> 7'$) (52,5%). Los 40 enfermos afectados de Mieloma Múltiple IgG, en 30 enfermos se realizó estudio de adhesividad plaquetaria "in vitro", hallándose una adhesividad plaquetaria anómala ($< 59\%$) en 16 enfermos (53,3%). Estos datos están en -- concordancia con lo previamente expuesto (6).

De los 40 enfermos afectados de Mieloma Múltiple IgG se objetivó en 18 enfermos una prolongación del T.P. ($> 16''$) (45%). La prolongación del T.P. junto con la alteración cuantitativa plaquetaria son los índices más sugestivos de síndrome de desfibrinación vistos en las disproteinemias. La tasa de fibrinógeno sérico como luego veremos, tiene menos valor como dato de predicción de C.I.D. en los pacientes con mielomatosis o neoplasias, dado que de por sí, estos enfermos pueden ser -- portadores de hiperfibrinogenemia secundaria, por este motivo, la determinación del T.P. y su prolongación, la consideramos de gran utilidad para el estudio del síndrome de C.I.D. crónico en los pacientes tabulados.

De los 40 enfermos, se objetivó en 3 de ellos un descenso del fibrinógeno ($< 190 \text{ mg\%}$) (7,5%), en 14 enfermos, un aumento ($> 370 \text{ mg\%}$) (35%), y en 23 enfermos, se objetivó un fibrinógeno normal (57,5%).

Como se desprende de estos datos, el fibrinógeno permaneció dentro de límites normales en la mayoría de los pacientes, dato que está en concordancia con lo reseñado previamente en la literatura. En nuestra casuística, el 35% de los enfermos presentaron hiperfibrinogenemia dato que está por debajo de lo publicado en otras estadísticas menos -- numerosas que la nuestra. En la serie de Milehn y Nilsson de 63 pacientes con Discrasia de célula plasmática, el 71% tenían hiperfibrinogenemia (134). Tan sólo 7,5% de los pacientes con Mieloma IgG presentaron -- descenso del fibrinógeno sérico. Este dato está en concordancia con lo reseñado anteriormente, en relación con las cifras de fibrinógeno en --

los pacientes afectados de Mielomatosis o neoplasia.

De los 40 enfermos afectados de Mieloma Múltiple IgG, en 30 enfermos se determinaron los PDF. De éstos, en 7 enfermos se encontraron PDF elevados (10-40 microg/ml) (23,3%). En 17 enfermos, se encontraron PDF elevados (> 40 microg/ml) (56,7%). En 6 enfermos, se encontraron PDF normales (20%). En la serie de Sánchez-Avalos y Cols (4), de 34 pacientes afectados de Mieloma Múltiple, en 22 de ellos se determinó la concentración sérica de PDF encontrándose por encima de 40 microg/ml en el 59% - de los casos, dato similar al encontrado por nosotros en nuestra serie. De ello se desprende que el síndrome de CID crónico puede ser otro mecanismo que intervenga reduciendo los factores de la coagulación en los - pacientes con paraproteína monoclonal. En la serie de Sánchez-Avalos en 8 de 31 enfermos aparecieron alteraciones tromboticas, y en 10, aparecieron episodios hemorrágicos. El 23,3% de nuestros pacientes presentaron niveles de PDF entre 10-40 microg/ml, que si bien están por encima del límite superior de la normalidad, no deben ser valorados estrictamente, dado que varias situaciones intercurrentes, tales como hemodilución, enfermedad hepatocelular, traumatismos, postoperatorio inmediato y trastornos tromboembólicos, pueden elevar de forma ligera los PDF entre estos valores.

De los 40 enfermos con Mieloma Múltiple IgG, en 15 enfermos (37,5%) se objetivaron manifestaciones clínicas con trastornos de la hemostasia. De estos 15 enfermos, 10 (66,6%) presentaron manifestaciones hemorrágicas del tipo de epistaxis, hemorragias gingivales o hemorragia digestiva alta. Los 5 pacientes restantes (33,3%) presentaron manifestaciones tromboticas. Esta casuística es paralela a la de la literatura (4) -- (6) (134).

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOSb) EN EL MIELOMA IgA

Del grupo total de enfermos con Mieloma Múltiple (80) en 30(37,5%) se demostró la existencia de un Mieloma Múltiple IgA, de éstos, 17 pacientes tenían una IgA K (56,6%) y 13 tenían una IgA λ (43,4%). Esta distribución es similar a la referida en la literatura (131). En estos 30 pacientes afectados de Mieloma Múltiple IgA existía trombocitopenia ($< 140.000/mm^3$) en 17 enfermos (56,6%). Todo lo ya expuesto respecto a la trombocitopenia para el Mieloma Múltiple IgG es válido para el Mieloma Múltiple IgA.

De los 30 enfermos afectados de Mieloma Múltiple IgA, en 16 se objetivó un T.H. prolongado ($> 7'$) (53,3%).

En 10 de los 30 pacientes, se determinó la adhesividad plaquetaria "in vitro", encontrándose descendida ($< 59\%$) en los 10 enfermos (100%).

De los 30 enfermos, en 15 se objetivó una prolongación del T.P. ($> 16''$) (50%).

En ninguno de los 30 pacientes se objetivó descenso del fibrinógeno ($< 190 mg\%$). En 6 enfermos, se objetivó un aumento del fibrinógeno ($> 370 mg\%$) (20%) y en 24 enfermos, se objetivó un fibrinógeno normal (80%).

De los 30 enfermos afectados de Mieloma Múltiple IgA, en 10 enfermos (33,3%) se determinaron los PDF. De éstos, en 2 enfermos se encontraron PDF elevados (10-40 microg/ml) (20%). En 6 enfermos, se encontraron PDF elevados ($> 40 microg/ml$) (60%). En 2 enfermos, se hallaron los PDF normales (20%).

De los 30 enfermos, en 9 de ellos (30%) se objetivaron manifestaciones clínicas con trastorno de la hemostasia. De estos 9 pacientes, en 3 (33,3%) se presentaron manifestaciones hemorrágicas del tipo de epistaxis, hemorragias gingivales o hemorragia digestiva alta. Los 6 - pacientes restantes (66,4%) presentaron manifestaciones trombóticas.

ANALISIS DE LOS RESULTADOS**6) MIELOMA IgD**

De la serie total de 80 enfermos, en uno se objetivó un Mieloma - Múltiple IgD (1,25%) tipo λ . En este caso, las plaquetas fueron de -- 240.000/mm³, el T.H. fue de 4'. La adhesividad plaquetaria "in vitro" fue del 64%. El T.P. fue de 13''. El fibrinógeno sérico fue de 340mg/dl. Los PDF de 8 microg/ml. La cuantificación de la IgD en este caso fue - de 1.100 mg/dl. No se objetivaron manifestaciones clínicas de trastor- no en la hemostasia (caso número 71) (cuadro número 8 h).

ANALISIS DE LOS RESULTADOSd) EN EL MIELOMA NO SECRETOR

De la serie total de 80 pacientes afectados de Mieloma Múltiple, en uno se objetivó un Mieloma Múltiple no secretor (1,25%). En este caso, las plaquetas fueron de $340.000/\text{mm}^3$. El T.H. fue de 3,5'. La adhesividad plaquetaria "in vitro" fue del 70%. El T.P. fue de 12''. El fibrinógeno de 300 mg/dl. Los PDF fueron de 4 microg/ml. No se objetivaron manifestaciones clínicas de trastorno de la hemostasia (caso número 72) (cuadro número 8 h).

La cuantificación de las inmunoglobulinas en este caso, mostró un notable aumento de la IgG, aumento discreto de la IgA y valor normal de la IgM. Dos punciones medulares resultaron negativas. El estudio -- histológico de tumoración ósea a nivel de la clavícula derecha, demostró una proliferación en sábana de células plasmáticas, con irregularidades morfológicas de los núcleos, y mitosis atípicas ocasionales. Los estudios de inmunofluorescencia fueron negativos a nivel de la médula ósea. Es de reseñar en nuestro caso de Mieloma Múltiple no secretor y no sintetizador, que el nivel sérico de las inmunoglobulinas no se encontraba descendido, en discrepancia con los datos publicados, todos los cuales cursaron con descenso de las inmunoglobulinas (142) (143) (144) (145).

ANALISIS DE LOS RESULTADOSe) EN EL MIELOMA DE CADENAS LIGERAS

De la serie total de 80 pacientes afectos de Mieloma Múltiple, en 8 se objetivó mieloma de cadenas ligeras. 3 de ellos fueron tipo K y 5 tipo λ .

De los 8 enfermos, en todos ellos las plaquetas se hallaron normales. De los 8 enfermos, en un paciente (caso número 74) el T.H. fue de 8', en los 7 pacientes restantes el T.H. fue normal.

La adhesividad plaquetaria "in vitro" en un paciente (caso número 74) se halló disminuida al 54%, siendo normal en los 7 restantes.

El T.P. se halló normal en los 8 pacientes.

El fibrinógeno sérico se encontró elevado en 3 enfermos (37,5%) y en los 5 pacientes restantes el fibrinógeno fue normal.

Los PDF fueron normales en los 8 enfermos.

En un paciente, se objetivaron manifestaciones clínicas hemorrágicas (caso número 74) (cuadro 8 h).

ANALISIS DE LOS RESULTADOS

f) EN LA MACROGLOBULINEMIA DE WALDESTROM

De la serie total de 100 enfermos afectados de Discrasia de Célula - Plasmática, en 20 (25%) se demostró la existencia de una Macroglobulinemia de Waldeström.

En todos estos pacientes se demostró en el suero por inmunoelectroforesis, la presencia de una paraproteína IgM.

De los 20 pacientes, en 9, se objetivó un descenso del número de plaquetas ($< 140.000/\text{mm}^3$) (45%). Lo ya reseñado con respecto a la trombocitopenia al hablar del Mieloma Múltiple IgG es válido para este grupo de pacientes afectados de Macroglobulinemia de Waldeström.

De los 20 pacientes afectados de Macroglobulinemia de Waldeström, en 13 se objetivó un aumento del T.H. ($> 7'$) (65%).

De los 20 pacientes, en 15 se encontró un descenso de la adhesividad plaquetaria "in vitro" (75%).

El T.P. se halló elevado en 10 de los pacientes (50%).

El fibrinógeno sérico se halló elevado ($> 370 \text{ mg\%}$) en 12 enfermos (60%) y en el resto de los pacientes se encontró normal.

Los PDF se encontraron elevados (10-40 microg/ml) en 6 enfermos -- (30%). Elevados ($> 40 \text{ microg/ml}$) en 6 enfermos (30%) y normales en el resto.

En 12 enfermos se objetivaron manifestaciones clínicas de alteración en la hemostasia (60%). Todos ellos presentaron manifestaciones he

morrágicas del tipo de epistaxis y trastornos vasculares a nivel del -- fondo de ojo.

En estos 20 pacientes afectados de Macroglobulinemia de Waldenström -- se realizó viscosimetría del suero, hallándose elevada ($> 1,6$) en 15 -- enfermos (75%). Los casos números (82, 85, 88, 89, 91, 93, 94, 97, 99 y 100) presentaron síndrome de hiperviscosidad clínicamente manifiesto -- (cuadro número 13). La hiperviscosidad sanguínea puede ser debida a una viscosidad plasmática aumentada, a un número de células sanguíneas au-- mentado (policitemia o leucemia), o a un aumento en la resistencia de -- las células a la deformación requerida para acomodar su forma o tamaño, al tamaño de los vasos sanguíneos (anemia de células falciformes o esfe rocitosis).

En el caso que nos ocupa, la hiperviscosidad del suero viene deter-- minada por la concentración y la viscosidad intrínseca de las proteínas individuales en solución. La viscosidad intrínseca, una propiedad fisi-- co-química de la molécula proteica, está influenciada por el tamaño de -- la molécula y la forma de la proteína (146). Las moléculas de IgM tienen tanto un peso molecular elevado como una configuración especial (5 pro-- yecciones que se extienden a partir de un núcleo central).

La forma puede aumentar su tendencia a agregarse, contribuyendo -- por ello a la alta viscosidad sérica cuando hay un aumento en la canti-- dad de moléculas de IgM. En la sangre, la interrelación de la IgM y el hematíe puede aumentar la viscosidad a través de la formación de una es-- tructura fluida tridimensional, por conexiones en puente de célula-pro-- teína-célula, y a través de una atracción aumentada de las células recu-- biertas de IgM adheriéndose unas a otras formando el fenómeno de apila-- miento en monedas o rouleaux.

Estas acciones están potenciadas por un descenso del gradiente de -- la velocidad a nivel de la microcirculación. El enlentecimiento del flu

jo en el lecho vascular potencia el aumento de la viscosimetría por lo que la sintomatología será más prominente a nivel de los sitios ricos en microcirculación (retina, SNC).

La alteración en la función plaquetaria contribuye a las múltiples alteraciones hemorrágicas del síndrome de hiperviscosidad. Las plaquetas en la Macroglobulinemia de Waldeström, recubiertas "in vivo" con IgM, o bien, las plaquetas normales expuestas "in vitro" al plasma de los pacientes con Macroglobulinemia de Waldeström, muestran una alteración definida en la liberación del factor III plaquetario (147).

1001

XIII - CONCLUSIONES

100²

CONCLUSION N°1

EN EL GRUPO DE 40 ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, EN 30 SE REALIZO EL TEST DE ADHESIVIDAD PLAQUETARIA " IN VITRO", HALLANDOSE UN DESCENSO ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO DEL MISMO EN 16 ENFERMOS. (53,3%)

1003

CONCLUSION N°2

EN EL GRUPO DE 40 ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, EN 30 SE DETERMINARON LOS PRODUCTOS DE DEGRADACION DEL FIBRINOGENO-FIBRINA (PDF), HALLANDOSE UNA ELEVACION ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA DE LOS MISMOS EN 17 ENFERMOS. (56,6%)

100'

CONCLUSION N°3

EN EL GRUPO DE 40 ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, DE 30, SE HALLARON DATOS ANALITICOS CONFIRMATORIOS DE COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA (CID) EN 16 ENFERMOS. (53,3%)

100^s

CONCLUSION N°4

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE LA TASA SERICA DE IgG Y EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO".

R - 0,921

1006

CONCLUSION N°5

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO" Y LA DISMINUCION DEL NUMERO DE PLAQUETAS.

R +0,626

1007

CONCLUSION N°6

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO" Y LA ELEVACION DEL TIEMPO DE HEMORRAGIA (T.H.).

R -0,818

1008

CONCLUSION N°7

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE LA TASA DE IgG Y EL AUMENTO DE LOS PDF.

R +0,362

100'

CONCLUSION N°8

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL DESCENSO DEL NUMERO DE PLAQUETAS Y EL AUMENTO DE LOS PDF.

R-0,549

100¹⁰

CONCLUSION N°9

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE LA ELEVACION DEL TIEMPO DE PROTOMBINA (TP) Y EL AUMENTO DE LOS PDF.

R +0,677

100''

CONCLUSION N°10

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE
IgG, NO SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL FIBRINOGENO
SERICO Y LOS PDF.

R-0,237



100¹²

CONCLUSION N°II

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO" Y LA PRESENCIA DE MANIFESTACIONES CLINICAS.

100¹²

CONCLUSION N°12

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL AUMENTO DE LOS PDF Y LA PRESENCIA DE MANIFESTACIONES CLINICAS.

100%

CONCLUSION N°13

EN EL GRUPO DE 30 ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgA, EN 10 SE REALIZO EL TEST DE ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO", HALLANDOSE UN DESCENSO ESTADISTICAMENTE - SIGNIFICATIVO DEL MISMO EN LOS 10 ENFERMOS. (100%)

100%

CONCLUSION N°14

EN EL GRUPO DE 30 ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgA, EN 10 SE DETERMINARON LOS PDF, HALLANDOSE UNA ELECCIÓN ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA DE LOS MISMOS EN 6 ENFERMOS.(60 %)

100''

CONCLUSION N°15

**EN EL GRUPO DE 30 ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE
IgA, DE 10, SE HALLARON DATOS ANALITICOS CONFIRMATORIOS
DE CID, EN 7 ENFERMOS.(70%)**

100⁺⁺

CONCLUSION N°16

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgA, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO" Y LA DISMINUCION DEL NUMERO DE PLAQUETAS.

R +0,548

100⁴⁸

CONCLUSION N°17

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgA, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO" Y LA ELEVACION DEL TH.

R-0,474

100¹⁷

CONCLUSION N°18

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE
IgA, SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL AUMENTO DE LOS
PDF Y LA PRESENCIA DE MANIFESTACIONES CLINICAS.

100²⁰

CONCLUSION N°19

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA DE CADENAS LIGERAS, SE REALIZO EL TEST DE ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO", SIENDO NORMAL EN 7 ENFERMOS.(87,5%)

1634

CONCLUSION N°20

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA DE CADENAS LIGERAS, SE DETERMINARON LOS PDF, HALLANDOSE EN VALORES NORMALES EN TODOS LOS ENFERMOS.(100%)

100²²

CONCLUSION N°21

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MACROGLOBULINEMIA DE W., SE REALIZO EL TEST DE ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO", HALLANDOSE UN DESCENSO ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO DEL MISMO EN 15 ENFERMOS.(75%)

100

CONCLUSION N°22

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MACROGLOBULINEMIA DE W., SE DETERMINARON LOS PDF, HALLANDOSE UNA ELEVACION ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA DE LOS MISMOS EN 6 ENFERMOS.(30%)

100²⁴

CONCLUSION N°23

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MACROGLOBULINEMIA DE W., SE HALLARON DATOS ANALITICOS CONFIRMATORIOS DE CID, EN 5 ENFERMOS.(25%)

10022

CONCLUSION N°24

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MACROGLOBULINEMIA DE W., SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE LA TASA SERICA DE IgM Y EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO".

R -0,516

10026

CONCLUSION N°25

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MACROGLOBULINEMIA DE W., SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO" Y LA ELEVACION DEL TH.

R -0,639

10

CONCLUSION N°26

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MACROGLOBULINEMIA DE W., SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE LA ELEVACION DEL TP. Y LOS NIVELES SERICOS DE PDF.

R+0,706

100²⁸

CONCLUSION N°27

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MACROGLOBULINEMIA DE W., SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO" Y LA PRESENCIA DE MANIFESTACIONES CLINICAS.

100²¹

CONCLUSION N° 28

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MACROGLOBULINEMIA DE W., NO SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL DESCENSO DE LA ADHESIVIDAD PLAQUETARIA "IN VITRO" Y EL AUMENTO DE LA VISCOSIMETRIA DEL SUERO.

R-0,379

100³⁰

CONCLUSION N° 29

EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MACROGLOBULINEMIA DE W., SE HALLO UNA CORRELACION ENTRE EL AUMENTO DE LA VISCOSIMETRIA DEL SUERO Y LA PRESENCIA DE MANIFESTACIONES CLINICAS.

100²¹

XIV - BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1) BENCE JONES, H.: Papers on chemical pathology. LANCET, 2:88, 1847.
- 2) PERKINS, H.A., MAC KENZIE, M.R. and FUDENBERG, H.H.: Hemostatic -- defects in dysproteinemias. BLOOD, 35: 695, 1970.
- 3) CATOVSKY, D., IKOKU, N.B., PITNEY, W.R. and GALTON, D.A.G.: Thromboembolic complications in myelomatosis. BR. J. MED. 3: 438, 1970.
- 4) SANCHEZ-AVALOS, J., SOONG, B.C.F. and MILLER, S.P.: Coagulation -- disorders in cancer II. Multiple Myeloma. Cancer 23: 1388, 1969.
- 5) TALERMAN, A.: Clinico-pathological study of multiple myeloma in Jamaica. BR. J. Cancer, 23: 285, 1969.
- 6) LACKNER, H.: Hemostatic abnormalities associated with dysproteinemias. SEM. HEMATOL 10: 125, 1973.
- 7) PORTER, R.R.: Structural Studies of immunoglobulins. Science. 180: 713, 1973.
- 8) NATVIG, J.B., KUNKEL, H.G.: Immunoglobuline: Classes, Subclasses, genetic against variant and idiotypes. Adv. Immunol. 16: 1, 1973.
- 9) SHAPIRO, S.S.: Characterization of factor VIII antibodies. Ann NY Acad Sci; 240: 350-360, 1975.
- 10) MACINTYRE, W.: Case of mollities and fragilitas ossium, accompanied with urine Strongly charged with animal matter. Med. Chir. Sec.33: 221-232, 1850.
- 11) BENCE JONES, H.: Papers on chemical pathology: prefaced by the ---

Gulstonion lectures, read of the Royal College of Physicians 1846.
LANCET, 2: 88-92, 1847.

- 12) EDELMAN, G.M., GALLY, J.A.: The nature of Bence-Jones proteins: - chemical similaritis to polypeptide drains of myeloma globulins - and normal γ -globulins. J. Exp. MED. 116: 207-227, 1962.
- 13) BAYNE-JONES, S., WILSON, D.W.: Immunological reactions of Bence-- Jones proteins. II. Diferences between Bence-Jones proteins from various sources. Bull Johns Hopkins Hosp. 33: 119-125, 1922.
- 14) KORNGOLD, L., LIPARI, R.: Multiple Myeloma proteins III. The anti genic relationship of Bence-Jones proteins to normal gamma-globu- lim and multiple-myeloma serum proteins. Cancer, 9: 262-272, 1956.
- 15) LIEN, F.S., DEUTSCH, H.F., TISCHENDORF, F.W.: Human λ -chain Se--- quence variations and serologic associations. Immuno chemistry -- 14: 429-433, 1977.
- 16) SOLOMON, A., MCLANGHLIN, C.L.: Bence-Jones proteins and light --- chains of immunoglobulins. I. Formation and characterization of - amino-terminal (variant) and carboxyl-terminal (constant) halves. J. Biol. Chem 244: 3393-3404, 1969.
- 17) WANG, Ac., FUDENBERG, H.H., WELLS, J.V., ROELCKE, D.: A new sub-- group of the Kappa chain variable region associated with anti-Pr cold agglutinins (letter to the editor). Nature (New Biol) 243: -- 126-128, 1973.
- 18) SOLOMON, A.: Bence-Jones proteins and light chains of immunoglobu- lins XIV. Conformation dependency and molecular localization of - the Kappa (K) and Lambda (λ) antigenic determinants. Scand. J. - Immunol, 5: 685-695, 1976.

- 19) EULITZ, M.: A new subgroup of human L-chains of the λ -type: primary structure of Bence-Jones protein DEL. Eur. J. Biochem, 50: 49-69, 1974.
- 20) PUTNAM, F.W., EASLEY, C.W., LYNN, L.T., RITCHIE, A.E., PHELPS, R.A.: The heat precipitation of Bence-Jones proteins I. Optimum conditions Arch. Biochem Biophys, 83: 115-130, 1959.
- 21) WV TT, KABAT, E.A.: An analysis of the sequences of the variable - regions of Bence-Jones and myeloma light chains and their implications for antibody complementarity. J. Exp. MED, 132: 211-250, -- 1970.
- 22) CAPRA, J.D., KEHOL, S.M.: Hypervariable regions, idiotypy, and the antibody-combining Site. Adv. Immunology 20: 1-40, 1975.
- 23) STEINBERG, A.G.: Globulin polymorphisms in man. Annv. Rev. Genet - 3: 25-52, 1969.
- 24) TOMASI, T.B. Jr.: Human immunoglobulin A. N. Engl. J. MED, 279: - 1327-1330, 1968.
- 25) DE COTEAU, W.E. The role of secretory IgA in defense of the distal lung. Ann NY Acad Sci, 221: 214-219, 1974.
- 26) KOSHLAND, M.E.: Structure and function of the J. chain. Adv. Immunol, 20: 41-69, 1975.
- 27) METZGER, H.: Structure and function of γ M macroglobulins. Adv. Immunol, 12: 57-116, 1970.
- 28) PUTNAM, F.W., FLORENT, G., PAUL, C., SHINODA, T., SHIMIZN, A.: Complete aminoacid sequence of the mu heavy chain of a human IgM immu

noglobulin. Science 182: 287-291, 1973.

- 29) BUSH, S.T., SWEDLUND, H.A., GLEICH, G.J.: Low molecular weight IgM in human sera. J. Lab Clin MED, 73: 194-201, 1969.
- 30) ROWE, D.S., FAHEY, J.L.: A new class of human immunoglobulins. I. A unique myeloma proteins. J. Exp. MED, 121: 171-184, 1965.
- 31) DUNNETTE, S.L., GLEICH, G.J., MILLER, R.D., KYLE, R.A.: Measurement of IgD by a double antibody radioimmunoassay: demonstration of an apparent trimodal distribution of IgD levels in normal human sera. J. Immunol, 119: 1727-1731, 1977.
- 32) VON BOXEL, J.A., PAUL, W.E., TERRY, W.D., GREEN, J.: IgD bearing - human lymphocytes, J. Immunol, 109: 648-651, 1972.
- 33) SPIEGELBERG, H.L.: The structure and biology of human IgD. Immunol Rev, 37: 3-24, 1977.
- 34) ISHIZAKA, K., ISHIZAKA, T., HORNBROOK, M.M.: Physicochemical properties of reaginic antibody. V. Correlation of reaginic activity with E-globulin antibody. J. Immunol, 97: 840-853, 1966.
- 35) LIO A., WALDMANN, T.A., STROBER, W.: Metabolic study of human IgE: evidence for an extravascular catabolic pathway. J. Immunol, 120: 1696-1701, 1978.
- 36) YUNGINGER, J.W., GLEICH, G.J.: The impact of the discovery of IgE: on the practice of allergy. Pediatr. Clin North Am. 22: 3-15, 1975.
- 37) FAHEY, J.L., BUELL, D.N., SOX, H.C.: Proliferation and differentiation of lymphoid cells: Studies with human cell lines and immunoglobulin synthesis. Ann NY Acad. Sci, 190: 221, 1971.

- 38) BUXBOUM, J.N.: The Biosynthesis assembly, and secretion of immunoglobulins. *Semin. Hematol*, 10: 33, 1973.
- 39) BAUMAL, R., others: The regulation of immunoglobulin synthesis and assembly. *Ann NY Acad. Sci*, 190: 235, 1971.
- 40) SALMON, S.E.: Immunoglobulin synthesis and tumor Kinetics of multiple myeloma. *Semin. Hematol*, 10: 135, 1973.
- 41) MORRISON, S.L., others: The identification of mouse myeloma cells which have undergone mutations in immunoglobulin production Pag. - 233 in: *Cellular Selection and Regulation in the Immune Response* - Edelman G.M. (editor). Raven Press, 1974.
- 42) ANDERSEN S.B.: *Metabolism of human Gamma globulin*, Blackwell, 1964.
- 43) WALDMANN, T.A., STROBER, W.: Metabolism of immunoglobulins *Prog. - Allergy* 13: 1, 1969.
- 44) WELLS, J.V., FUDENBERG, H.H.: Metabolism of radio-iodinated IgG in patients with abnormal serum IgG Levels 1. Hypergammaglobulinemia 2. Hypogammaglobulinemia. *Clin Exp. Immunol*, 9: 761, 775, 1971.
- 45) KUNKEL, H.G.: The "abnormality" of myeloma proteins. *Cancer Res.* - 28: 1351-1353, 1968.
- 46) KROUSE, R.M.: The search for antibodies with molecular uniformity. *Adv. Immunol*, 12: 1-56, 1970.
- 47) POTTER, M.: Myeloma proteins (M-components) with antibody-Like activity. *N. Engl. J. MED*, 284: 831-838, 1971.
- 48) SELIGMANN, M., BROVET, J.C.: Antibody activity of human myeloma --

globulins. Semin. Hematol, 10: 163-177, 1973.

- 49) OSTERLAND, C.K., ESPINOZA, L.R.: Biological properties of myeloma proteins. Arch Internal. MED. 135: 32-36, 1975.
- 50) STONE, M.J., FRENKEL, E.P.: The clinical spectrum of light chain myeloma: study of 35 patients with special reference to the occurrence of amyloidosis. Am. J. MED. 58: 601-619, 1975.
- 51) PREUD'HOMME, J.L., HUREZ, D., DANON, F., BROVET, J.C., SELIGMANN, M.: intracytoplasmic and surface-bound immunoglobulins in "nonsecretory" and Bence-Jones myeloma. Clin Exp. Immunol, 25: 428-436, 1976.
- 52) CAWLEY, L.P., MINARD, B.J., TOURTELLOTTE, W.W., MA, B.L., CHELLE, C.: Immunofixation electrophoretic techniques applied to identification of proteins in serum and cerebrospinal. Clin. Chem. 22: -- 1262-1268, 1976.
- 53) RITCHIE, R.F., SMITH, R.: Immunofixation III. Application to the study of monoclonal proteins. Clin. Chem. 22: 1982-1985, 1976.
- 54) FAHEY, J.L., MCKELVEY, E.M.: Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody-agar plates. J. Immunol, 94: 84-90, - 1965.
- 55) MARKOWITZ, H., TSCHIDA, A.R.: Automated quantitative immunochemical analysis of human immunoglobulins. Clin. Chem. 18: 1364-1367, 1972.
- 56) PERRY, M.C., KYLE, R.A.: The clinical significance of Bence-Jones proteinuria. Mayo Clin. Proc. 50: 234-238, 1975.

- 57) WOLPERS, C., and RUSKA, H.: Struktur-Untersuchungen Zur Blutgerinnung. *Klin. Wochenschr.* 18: 1077, 1939.
- 58) RAMBOURG, A., and LEBLOND, C.P.: Electron microscopic observations on the carbohydrate-rich cell coat present at the surface of cells in the rat. *J. Cell. Biol.* 32: 27, 1967.
- 59) WHITE, J. G., and KRIVIT, W.: The fine structural localization of adenosine Triphosphatase in platelets and other blood cells. *BLOOD.* 26: 554, 1965.
- 60) WHITE, J.G.: Investigation of the exterior coat of platelets during aggregation. *AM. J. Pathol.* 58: 19, 1970.
- 61) SILVER, M.J.: Role of calcium ions and phospholipids in platelet aggregation. *AM. J. Physiol.* 209: 1128, 1965.
- 62) NACHMAN, R.L., and MARCUS, A.J.: Platelet thrombosthemine: Subcellular localization and function. *J. Clin. Invest.* 46: 1380, 1967.
- 63) WHITE, J.G.: The submembrane filaments of blood platelets. *AM. J. Pathol.* 56: 267, 1969.
- 64) HAYDON, G.B., and TAYLOR, A.D.: Microtubules in hamster platelets. *J. Cell. Biol.* 26: 673, 1965.
- 65) SIXMA, J.J., and MOLENAAR, J.: Microtubules and microfibrils in blood platelets. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 16: 153, 1966.
- 66) ALLEN, R.D., and KAMIYA, N.: Primitive Motile Systems in *Cell Biology Academic, NEW YORK, 1964.*
- 67) BETTEX-GALLAND, M., and LUSCHER, E.: Extraction of an actomyosin-

like protein from human thrombocytes. *Nature*. 184: 276, 1959.

- 68) FONIO, A.: Uber das funktionelle verhalten der isolierten strukturelemente der thrombocyten, des hyalomers und des granulomers. *Acta Haematol (Basel)* 6: 207, 1951.
- 69) BAKER, R.V., BLASCHKO, H., and BORN, G.V.R.: The isolation from -- blood platelets of particles containing 5-hydroxytryptamine and -- adenosine triphosphate. *J. Physiol (Lond)* 149: 55, 1959.
- 70) WHITE, J.G.: The dense bodies of human platelets: Inherent electron opacity of the serotonin storage particles. *BLOOD*. 33: 598, 1969.
- 71) WHITE, J.G.: The origin of dense bodies in the surface coat of negatively stained platelets. *SCAND. J. Haematol*. 5: 371, 1968.
- 72) HOLMSEM, H., DAY, J., and STORMORKEN, H.: The blood platelets --- release reaction. *SCAND. J. Haematol. Suppl.* 8: 3, 1969.
- 73) WHITE, J.G.: Unpublished observations.
- 74) BEHNKE, O.: Electron microscopic observations on the membrane system of the rat blood platelet. *ANAT. Rec.* 158, 121, 1967.
- 75) GRERTE, K.: Studies on the thrombin catalyzed hemostatic reactions of blood platelets. *Acta. Physiol. SCAND.* 56, Suppl. 195, 1962.
- 76) THOMAS, D.P.: Effect of catecholamines on platelet aggregation -- caused by thrombin. *Nature*. 215: 298, 1967.
- 77) WHITE, J.G.: The muscular system of platelets. *BLOOD*. 30: 625, -- 1967.

- 78) KARPATKIN, S.: Heterogeneity of human platelets. I. Metabolic and - Kinetic evidence suggestive of young and old platelets. *J. Clin. - Invest.* 47: 1073, 1969.
- 79) HIRSH, J., DOERY, J.C.G.: Platelet function in health and disease. In *Progress in Hematology*, Vol VII, pp. 185-234. EDS. Brown, E.B., and Moore, C.V. London: WILLIAM HEINEMANN, 1972.
- 80) GROSS, R., SCHNEIDER, W.: Energy metabolism. In *the circulating -- Platelet*, pp. 123-188. Ed. JOHNSON, S.A. NEW YORK and LONDON: ACADEMIC PRESS, 1970.
- 81) WHITE, J.G.: Platelet morphology. In *The Circulating Platelet*, pp. 45-121. Ed. JOHNSON, S.A. NEW YORK and LONDON: ACADEMIC PRESS, -- 1971.
- 82) SALZMAN, E.W.: Measurement of Platelet adhesiveness: Simple "in vi tro" technique demonstrating abnormality in von WILLEBRAND'S disease. *JOURNAL OF LABORATORY and CLINICAL MEDICINE*, 62: 724-735, 1963.
- 83) ROZENBERG, M.C., FIRKIN, B.G.: The rate of Platelet aggregation in haemorrhagic disease and thrombosis. *SCANDINAVIAN JOURNAL OF HAEMATOLOGY*, 3: 5-18, 1966.
- 84) HIRSH, J., MC BRIDE, J.A.: Increased platelet adhesiveness in --- recurrent venous thrombosis and pulmonary embolism. *BRITISH MEDICAL JOURNAL*, 797-799, 1965.
- 85) WHITE, J.G.: A search for the platelet secretory pathway using -- electron dense tracers. *Am. J. of Pathol.* 58: 31-49, 1970.
- 86) ZUCKER, M.B., JERUSHALMY, Z.: Studies on platelet shape and aggregation; effect of inhibitors on these and other platelet character-

ristics. PHISIOLOGICAL, HEMOS and THROMB, pp. 249-265, 1967.

- 87) WHITE, J.G.: Fine structural alterations induced in platelets by - adenosine diphosphate. BLOOD. 31: 604-622, 1968.
- 88) ZUCKER, M.B., PETERSON, J.: Serotonin, platelet factor 3 activity, and platelet aggregating agent released by adenosine diphosphate. (ABSTRACT). BLOOD, 30: 556, 1967.
- 89) HOLMSEN, H. The platelet: Its membrane, physiology and biochemistry. CLINICS IN HAEMATOLOGY, 1: 235-266, 1972.
- 90) WHITE, J.G.: The muscular system of platelets. BLOOD. 30: 539-540, 1967.
- 91) DEUTSCH, E.: Differentiation of certain platelet factors in relation to coagulation. Rev. Hematol. 9: 483-488, 1954.
- 92) DEUTSCH, E., JOHNSON, S.A., SEEGER, W.H.: Differentiation of --- certain platelet factors related to blood coagulation. CIRCUL. RES. 3: 110-115, 1955.
- 93) NACHMAN, R.L., MARCUS, A.J.: Immunological studies of proteins -- associated with subcellular fractions of thrombosthemic and afibrinogenemic platelets. Brit. J. of Haematol. 15: 181-189, 1968.
- 94) HARKER, L.A.: Kinetics of thrombopoiesis. J. Clin. Invest. 47: 458-465, 1968.
- 95) ASTER, R.H.: Studies of the fate of platelets in rats and man. -- BLOOD. 34: 117-128, 1969.
- 96) GORMSEN, J., FLECHER, A.P., ALKIAERSIG, N., SHERRY, S. Arch. Bio--

chem. Biophys. 120: 654, 1967.

- 97) WEBBER, A.J., JOHNSON, S.A. AM. J. Pathol. 60: 19, 1970.
- 98) COLMAN, R.W., 1969. BIOCHEM. BIOPHYS. RES. COMMUN. 35: 272-279, -
1969.
- 99) MASON, J.W., KLEEBERG, U., DOLAN, P., COLMAN, R.W. ANN. INTERN. --
MED. 73: 545, 1970.
- 100) O'DONELL, T.F. Jr., CLOWES, G.H.A., TALAMO, R.C., COLMAN, R.W. ---
Surg. Gynecol. Obstet. 143: 539-545, 1976.
- 101) TOMAR, R.H., KOLCHINS, D. Thromb. Diath. Haemorrh. 27: 389-395, --
1972.
- 102) BOHN, E., MULLER-BERGHAUS, G. AM. J. Pathol. 84: 239-258, 1976.
- 103) SPECTOR, J.I., CROSBY, J.I. J. Appl. Physiol. 38: 195-198, 1975.
- 104) COLMAN, R.W., MINNA, J.D., ROBBOY, S.J. Int. J. Dermatol. 16: 47,
1977.
- 105) MINNA, J.D., ROBBOY, S.J., COLMAN, R.W.: Disseminated Intravascu--
lar Coagulation in Man. SPRINGFIELD, III. THOMAS pp. 207, 1974.
- 106) SIEGAL, T., SELIGSOHN, U., AGHAI, E., KODAN, M. Thromb. Hemostasis
39: 122-134, 1978.
- 107) SACK, G.H. Jr. LEVIN, J., BELL, W.R. MEDICINE. 56: 1-37, 1977.
- 108) BONE, R.C., FRANCIS, P.B., PIERCE, A.K. AM. J. MED. 61: 585-589, -
1976.

- 109) PRESTON, F.E., MALIA, R.G., SWORN, M.J., BLACKBURN, E.K. J. Clin. Pathol. 26: 120-125, 1973.
- 110) ROBSON, A.M., COLE, B.R., KIENSTRA, R.A., KISSANE, J.M., ALKJAER-SIG, N., FLETCHER, A.P. J. Pediatr. 90: 881-892, 1977.
- 111) REGAN, D.H., LACKNER, H. AM. J. MED. Sci 266: 84-91, 1973.
- 112) CARVALHO, A.C., ELLMAN, L.L., COLMAN, R.W. AM. J. Clin. Pathol. - 62: 107-112, 1974.
- 113) EGAN, E.L., BOWIE, E.J.W., KAZMIER, F.J., GILCHRIST, G., WOODS, - J.W., OWEN, C.A. MAYO. Clin. Proc. 49: 658-664, 1974.
- 114) DAMUS, P.S., WALLARE, G.A. Thromb. Res. 6:27-38, 1975.
- 115) RASK-NIELSEN, R., and GORMSEN, H.: Spontaneous and induced plasma cell neoplasia in a strain of mice Cancer 4: 387, 1951.
- 116) RASK-NIELSEN, R., and EBBESEN, P.: Spontaneous reticular neoplasm in (CBA x DBA/2) F₁ mice, with special emphasis on occurrence of plasma cell neoplasm. J. Nat. Cancer Inst. 43: 553, 1969.
- 117) POTTER, M., and ROBERSTON, C.L.: Development of plasma-cell neoplasm in BALB/c mice after intraperitoneal injection of paraffin-oil adjuvant, neat killed staphylococcus mixtures. J. Nat. Cancer Inst. 25: 847, 1960.
- 118) POTTER, M.: Plasma cell neoplasia in a single host: a mosaic of different protein-producing cell types. J. Exp. MED. 115: 339, -- 1962.
- 119) RASK-NIELSEN: Evidence of murine, virus-induced, paraprotein-pro-

ducing leukemia and its relation to other virus-induced leukemias
Nature (London) 200: 400, 1963.

- 120) POTTER, M., and LEON, M.A.: Three IgA myeloma immunoglobulins --
from the BALB/c mouse: precipitation with pneumococcal C polysac-
charide. Science. 162: 369, 1968.
- 121) POTTER, M.: Mouse IgA myeloma proteins that polysaccharide anti--
gens of enterobacterial origin. Fed. Proc. 29: 85, 1970.
- 122) OSSERMAN, E.F., and TAKATSUKI., K.: Considerations regarding the
pathogenesis of the plasmacytic dyscrasias. Scand. J. Haemat. 4 -
(Suppl): 28, 1964.
- 123) OSSERMAN, E.F., and FAHEY, J.L.: Plasma cella dyscrasias: Combi--
ned staff clinic. Amer. J. MED. 44: 256, 1968.
- 124) BRECHER, G., CRONKITE, E.P.: Morphology and enumeration of human
blood platelets. J. Appl. Physiol. 3: 365-377, 1950.
- 125) SALZMAN, E.W.: Measurement of platelet adhesiveness: a simple "in
vitro" technique demonstrating an abnormality in Von WILLEBRAND'S
disease. J. Lab. Clin. MED. 62: 724-735, 1963.
- 126) BOWIE, E.J., THOMPSON, J.H. Jr., DIDISHEIM, P., OWEN, CH, A. Jr.:
Laboratory Manual of Hemostasis. MAYO. Clinic. W.B. SAUNDERS COM-
PANY, 1971.
- 127) Estadística. MURRAY. R. SPIEGEL, 1978.
- 128) Estadística Médica. A. BRADFORD HILL, 1950.
- 129) INTRODUCTION TO HEALTH STATISTICS. SATYA SWAROOP, 1960.

- 130) INTRODUCCION A LA ESTADISTICA TEORICA. GONZALO ARNAIZ VELLANDO, 1978.
- 131) KYLE, R.A.: Multiple Myeloma: Review of 869 cases. MAYO Clinic.- Proc. 50: 29-40, 1975.
- 132) NORDENSON, N.G.: Myelomatosis. A. clinical review of 310 cases. ACTA. MED. SCAND. (Suppl. 445) 179: 178, 1968.
- 133) PERKINS, H.A., MC KENZIE, M.R., and FUDENBERG, H.H.: Hemostatic defects in dysproteinemias. BLOOD. 35: 695, 1970.
- 134) NILEHN, J.E., NILSSON, I.M.: Coagulation studies in different - types of myeloma. ACTA. MED. SCAND. (Suppl. 445) 179: 194, 1966.
- 135) BOWIE, E.J.W., MALDONADO, E., BROWN, A.L., DIDISHEIM, P., OWEN, C.A. Jr.: Intravascular coagulation in Systemic amyloidosis. -- Thromb. Diath. Haemorrh. Suppl. 36: 305, 1969.
- 136) BORCHGREVINK, C.F.: A method for measuring platelet adhesiveness "in vivo". ACTA. MED. SCAND. 168: 157, 1960.
- 137) PACHTER, M.R., JOHNSON, S.A., NEBLETT, T.R., TRUANT, J.P.: --- Bleeding platelets, and macroglobulinemia. AM. J. Clin. Path. - 31: 467, 1959.
- 138) SORENSEN, E.W.: Myelomatosis. ACTA. MED. SCAND. 178: 687, 1965.
- 139) BASINSKI, D.H.: The effect of macroglobulins and their dissociation units on release of platelet factor 3. Thromb. Diath. -- Haemorrh. 3: 501, 1959.
- 140) ROZENBERG, M.C., DINTENFASS, L.: Platelet aggregation in WALDES TROM'S macroglobulinemia. Thromb. Diath. Haemorrh. 14: 202, --

1965.

- 141) VIGLIANO, E.M., HOROWITZ, H.I.: Bleeding syndrome caused by interaction of IgA myeloma protein and connective tissue. BLOOD. 26: 880, 1965.
- 142) AREND, W.P., and ADAMSON, J.W.: Non secretory myeloma immunofluorescent demonstration of paraprotein within bone marrow plasma cells. Cancer, (Philad), 33: 721, 1974.
- 143) DELBARRE, F., SIGUIER, F., GODEAN, P., SAPORTA, L., SELIGMANN, M. HUREZ, D.: La maladie de Kahler á plasmocytes "non excrétans" - (a propos de deux observations sans paraproteins serique ni urinaire. Identification de la paraproteina dans les plasmocytes — par immunofluorescence). Ann Med. Intern. 121: 537, 1970.
- 144) HUREZ, D., PRED'HOMME, J.L., and SELIGMANN, M.: Intracellular monoclonal immunoglobulin in non secretory human myeloma. J. Immunol. 104: 263, 1970.
- 145) RIVER, G.L., TEWKSBURY, D.A., FUNDENBERG, H.H.: Non secretory multiple myeloma. BLOOD. 40: 204, 1972.
- 146) BARTH, W.F.; VISCOSIMETRY OF SERUM IN RELATION TO THE SERUM GLOBULINS. In. SUNDERMAN, F.W., and SUNDERMAN, F.W., Jr. (Ed). Philadelphia Lippincott, 1964.
- 147) PACHTER, M.R., JOHNSON, S.A., NEBLETT, T.R., TRUANT, J.P.: Bleeding, platelets and macroglobulinemia. AM. J. Clin. Path. 31: 467, 1959.

116

FE DE ERRATAS

Página 32. - Párrafo 1º, línea 4ª. Debe decir "En la región **9**",
en lugar de "En la región **7**".

Página 81. - Párrafo 2º, línea 3ª. Debe decir "Covarianza", en
lugar de "Varianza".

Cuadro X. - De Datos Estadísticos. Debe decir "para el nivel -
de significación de 0,05", en lugar de "para el ni
vel de significación 0,025".

ESTUDIO DE LA FUNCION PLAQUETARIA Y DEL SINDROME DE COAGULACION INTRA VASCULAR DISEMINADA (C.I.D.), EN PACIENTES AFFECTOS DE DISCRASIA DE CELULA PLASMATICA Y SU CORRELACION CON EL TIPO DE Ig MONOCLONAL PRESENTE EN EL SUERO.

RESUMEN

La presente Tesis Doctoral, está dividida en 2 partes. La 1ª parte incluye una revisión profunda de la estructura, biosíntesis, ensamblado y secreción de las inmunoglobulinas humanas, junto con el análisis de los métodos de laboratorio utilizados para el estudio de las gammopatías monoclonales y una clasificación actualizada de las discrasias de Células Plasmáticas. Asimismo, la 1ª parte, revisa los conocimientos actuales sobre la estructura, fisiología, metabolismo, función y cinética plaquetarias, así como las bases etiopatogénicas, fisiopatológicas, diagnósticas y causas del síndrome de C.I.D. Por último, aporta un apéndice sobre la experimentación animal en el estudio de las discrasias de células plasmáticas.

La 2ª parte de la Tesis, la constituye nuestra aportación personal e incluye la hipótesis de trabajo, el material empleado, los métodos de laboratorio, la metodología estadística, los resultados analíticos y estadísticos, el análisis de estos resultados, las distintas conclusiones y, por último, un apéndice bibliográfico de las citas consultadas.

De los 100 pacientes estudiados, 80 presentaban un Mieloma Múltiple y 20 padecían Macroglobulinemia de Waldenström.

De la serie total de 80 pacientes afectos de Mieloma Múltiple, - 40 presentaban un Mieloma Múltiple IgG, 30 un Mieloma Múltiple IgA, 8 un Mieloma de Cadenas Ligeras, 1 paciente sufría un Mieloma Múltiple IgD y 1 paciente presentaba un Mieloma Múltiple no secretor. De esta serie de 80 pacientes, 45 fueron varones y 35 hembras, con una edad media global de 67,9 años.

De la serie de 20 pacientes afectos de Macroglobulinemia de Waldenström, 15 eran varones, con una edad media de 66,4 años y 5 eran hembras, con una edad media de 68,8 años.

En la serie total de 100 enfermos, hemos estudiado la función plaquetaria y el síndrome de C.I.D.

La valoración de la función plaquetaria, se ha efectuado mediante la cuantificación del nº de plaquetas, según el método directo de Brecher y Cronkite, la determinación del tiempo de hemorragia (T.H.), según el método de Ivy y la realización del test de "retención plaquetaria in vitro" según la técnica de Salzman.

Por su parte, el estudio del síndrome de C.I.D. se ha llevado a efecto, mediante la realización de tests de sospecha y de tests de confirmación. Dentro de los primeros se han incluido la valoración del

tiempo de Protrombina (T.P.) según la técnica de Quick, el recuento - del nº de plaquetas con el método ya reseñado y la determinación del Fibrinógeno sérico, con la técnica automática de micrométodo con fi-- brómetro. Como test de confirmación, hemos utilizado la determinación semicuantitativa en suero de los productos de degradación del Fibrinógeno-Fibrina, según el método standarizado de partículas de Latex --- (Trombo-Wellcotest).

Por último, analizando entre sí, los resultados obtenidos de --- acuerdo con la metodología estadística empleada, hemos hallado los --- coeficientes de correlación muestrales de las distintas variables com putadas, los cuales, nos han permitido deducir 29 conclusiones defini tivas.

Como resumen de estas 29 conclusiones, cabe decir que en el gru po de 40 pacientes afectos de Mieloma Múltiple IgG, el 53,3% presenta ba alteración de la función plaquetaria, y en el 53,3% existía un sín drome de C.I.D. crónica.

En el grupo de pacientes con Mieloma Múltiple IgA, en 10 de --- ellos se estudió la función plaquetaria, siendo anormal en los 10 pa cientes (100%). 7 de 10 enfermos tabulados en este grupo, presentaron C.I.D. crónica (70%).

En los 20 pacientes, afectos de Macroglobulinemia de Waldeström, se encontró una función plaquetaria alterada en el 75%, de los enfer mos. Asimismo, en este grupo de enfermos, se objetivó un síndrome de C.I.D. crónica en el 25% de los casos.

En el grupo de pacientes con Mieloma Múltiple de Cadenas Ligeras, Mieloma Múltiple IgD y Mieloma Múltiple No Secretor, la función pla quetaria fue normal, sin que tampoco se objetivase la presencia de un síndrome de C.I.D.

