

VNiVERSiDAD D SALAMANCA

Departamento de Medicina Hematología



Tesis doctoral

“Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto en la provincia de Segovia: Estudio poblacional y factores pronósticos (células plasmáticas en sangre periférica por inmunofenotipo y ensayo de cadena pesada-ligera de las inmunoglobulinas)”

Aránzazu García Mateo

2019

D^a. María Victoria Mateos Manteca, Doctor en Medicina, Médico Adjunto de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca

y

D. José Alberto Orfao de Matos Correia e Vale, Catedrático de la Universidad de Salamanca y Director del Servicio General de Citometría de la Universidad de Salamanca

CERTIFICAN:

Que el trabajo realizado bajo nuestra dirección por D^a. Aránzazu García Mateo, titulado “GAMMAPATÍA MONOCLONAL DE SIGNIFICADO INCIERTO EN LA PROVINCIA DE SEGOVIA: ESTUDIO POBLACIONAL Y FACTORES PRONÓSTICOS (CÉLULAS PLASMÁTICAS EN SANGRE PERIFÉRICA POR INMUNOFENOTIPO Y ENSAYO DE CADENA PESADA-LIGERA DE LAS INMUNOGLOBULINAS)”, reúne las condiciones de originalidad requeridas para optar al grado de Doctor en Medicina.

Y para que así conste, firmamos la siguiente certificación en Salamanca, a 1 de julio de dos mil diecinueve.

Dra. María Victoria Mateos
Manteca

Prof. José Alberto Orfao de
Matos Correia e Vale

A mi familia.

Agradecimientos

A la Dra. María Victoria Mateos, por brindarme la oportunidad de desarrollar esta tesis, por su inmensa capacidad de trabajo y por todas las enseñanzas que me llevo.

Al profesor Alberto Orfao, porque gracias a su apoyo este trabajo se ha podido llevar a cabo.

A Teresa Contreras, Luzalba Sanoja y Noemí Puig, por su dedicación y gran colaboración en partes fundamentales de esta tesis.

A José Hernández, por haberme acompañado en mis primeros pasos en el camino de la Hematología y la investigación e inculcarme el interés por las Gammopatías en particular

A Carmen Oliver y José Antonio Queizán, por ser excelentes maestros y mejores personas.

A todos mis compañeros del Servicio de Hematología del Hospital General de Segovia, incluyendo el personal del laboratorio, en particular a Tomás, Concha, Celia, Mamen y Mónica; y a las secretarias Almudena y Julia, porque siempre me han prestado su colaboración cuando la he necesitado y por estos años que hemos compartido y marcarán toda mi andadura profesional.

Al Servicio de Análisis Clínicos y de Radiodiagnóstico del Hospital General de Segovia, en especial a las Secciones de Inmunología-Proteínas y Resonancia Magnética, respectivamente, por haber contribuido con su trabajo al desarrollo del mío.

A los médicos de los Centros de Salud de Segovia capital porque contribuyeron con su esfuerzo al reclutamiento de pacientes para el estudio.

A los pacientes, porque a ellos va dirigido todo nuestro trabajo.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN Y ESTADO ACTUAL	15
1. Definición y clasificación de las Gammapatías Monoclonales.....	16
1.1. Criterios diagnósticos de las Gammapatías Monoclonales.....	17
1.2. Epidemiología de la GMSI.....	20
2. Factores predictores de transformación de la GMSI.....	24
2.1. Factores relacionados con la carga tumoral.....	24
2.2. Factores relacionados con el grado de expansión tumoral clonal (supresión de la población de células plasmáticas policlonales).....	25
2.3. Factores relacionados con las características biológicas del clon de células plasmáticas patológicas.....	29
2.4. Factores relacionados con el hueso. Presencia de lesiones focales en resonancia magnética cuerpo completo.....	34
3. Modelos predictivos de progresión de la GMSI a Mieloma Múltiple.....	35
3.1. Modelo pronóstico de la Clínica Mayo.....	35
3.2. Modelo pronóstico del grupo de Salamanca/GEM-PETHEMA.....	37
4. Pruebas diagnósticas para el estudio de las Gammapatías Monoclonales.....	38
5. Manejo de las Gammapatías Monoclonales.....	39
6. Estrategias para la prevención de la progresión y estrategias de tratamiento en la GMSI.....	42
7. Referencias.....	45
II. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	51
1. Hipótesis de trabajo.....	52
2. Objetivos.....	55
3. Referencias.....	57
III. MATERIAL Y MÉTODOS	59
1. Pacientes y muestras.....	61
1.1. Estudio de cribado poblacional de la GMSI.....	61
1.2. Estudio de la incidencia y prevalencia de la GMSI.....	62
1.3. Estudio de rangos de normalidad de las cadenas ligeras libres.....	62
1.4. Estudio de factores pronósticos en las GMSI.....	62
2. Metodología.....	62
2.1. Datos basales.....	62

2.2. Datos evolutivos.....	63
2.3. Clasificación según los modelos de riesgo y seguimiento adaptado al riesgo.....	63
2.4. Manejo y almacenamiento de muestras.....	65
2.5. Metodología detallada.....	67
2.6. Metodología estadística.....	78
<u>Anexo 1:</u> Hoja de información al paciente y consentimiento informado aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del área de Segovia.....	81
<u>Anexo 2:</u> Documento del Comité Ético de Investigación Clínica del área de Segovia.....	85
3. Referencias.....	86
IV. RESULTADOS.....	89
1. Estudio de una cohorte poblacional.....	91
1.1. Incidencia y prevalencia de GMSI en Segovia capital.....	93
2. Estudio de los rangos e intervalos de referencia de las cadenas ligeras libres en un población local española.....	95
3. Estudio de una cohorte de GMSI diagnosticada en la consulta de hematología.....	96
4. Evaluación del riesgo de progresión de GMSI a Mieloma Múltiple.....	98
4.1. Modelo pronóstico de la Clínica Mayo.....	98
4.2. Modelo pronóstico del grupo de Salamanca/GEM-PETHEMA.....	99
4.3. Estudio de las células plasmáticas circulantes en sangre periférica.....	100
4.4. Estudio del grado de expansión tumoral clonal y de la inmunoparesia mediante Hevylite Chain®.....	105
4.5. Estudio de los factores predictores de riesgo a la progresión de todas las variables analizadas.....	112
V. DISCUSIÓN.....	117
1. Referencias.....	129
VI. CONCLUSIONES.....	131
VII. MATERIAL DERIVADO DE LOS TRABAJOS.....	135
VIII. FINANCIACIÓN RECIBIDA PARA LOS TRABAJOS.....	139
IX. GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....	143

I. INTRODUCCIÓN Y ESTADO ACTUAL

1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

Las Gammopatías Monoclonales (GM) incluyen un grupo de enfermedades caracterizadas por la proliferación clonal de las células plasmáticas (CP) en médula ósea (MO), que producen una inmunoglobulina (Ig) de carácter monoclonal, llamada componente monoclonal (CM), que puede detectarse en suero o en orina^{1,2}.

La mayoría de las GM son benignas (70%) e incluyen la Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto (GMSI) y el Mieloma Múltiple asintomático o *smoldering* (MMS). El 30% restante, corresponde a GM malignas e incluyen, entre otras, el Mieloma Múltiple (MM), la amiloidosis (AL), etc. Las GM benignas pueden, potencialmente, evolucionar a su versión maligna y hoy se sabe que, en todos los pacientes, el MM está precedido por la presencia de GMSI y/o MMS^{3,4}.

La GMSI es la entidad más frecuente, representando un 51% de todas las GM. El resto de GM suponen, según un estudio poblacional realizado en la Clínica Mayo en 1.510 personas mayores de 50 años, las siguientes frecuencias: MM un 18%, MMS un 6%, AL un 11%, síndromes linfoproliferativos un 4%, Macroglobulinemia de Waldenström (MW) un 3% y plasmocitoma solitario un 1%. Otras entidades representan un 6% (Figura 1.1)⁴. ©

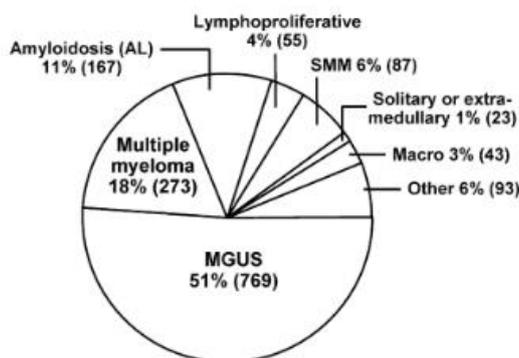


Figura 1.1. GM diagnosticadas en la Clínica Mayo en 2005. Figura extraída de Kyle RA et al. *Br J Haematol.* 2006 Sep;134(6):573-89⁴.

Hallazgos similares, en cuanto a la distribución, se han encontrado en otro estudio italiano, evaluando 375 casos de nuevo diagnóstico: la GMSI representaba un 69,6%, el MM un 26,6% y otras patologías linfoproliferativas el 4,8% de todas las GM⁵.

1.1. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

Diferentes grupos cooperativos establecieron los criterios diagnósticos de las GM en el pasado (Medical Research Council of the United Kingdom, Nordic Myeloma Study Group, Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group and Chronic

Leukaemia Myeloma Task Force of the National Cancer Institute o el Programa Español de Tratamientos en Hematología (PETHEMA)). Sin embargo, en el año 2014, el Grupo Internacional de trabajo de MM (International Myeloma Working Group, IMWG) actualizó los criterios diagnósticos con el objetivo de que fueran sencillos, fáciles de usar tanto en la práctica clínica habitual como en investigación y que estuvieran basados en pruebas de laboratorio ampliamente disponibles de forma rutinaria².

La GMSI se define por la presencia de los siguiente tres supuestos: un CM sérico menor de 3 g/dL, una infiltración en MO menor del 10% de CP clonales y la ausencia de daño orgánico, como hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia y lesiones óseas (síntomas CRAB) o amiloidosis, que pueda atribuirse a la proliferación de CP (Tabla 1.1).

La GMSI suele ser más prevalente en varones con una edad media al diagnóstico de 72 años. El tipo de cadena pesada de Ig afecta más frecuente es la IgG, en el 70% de los pacientes, IgA en el 12%, IgM en el 15% y bi o triclinal en el 3%. Además, la GMSI de cadenas ligeras libres en suero (CLL) supone un 0,7% y es más frecuente en la población más joven. La mayoría de las GMSI son kappa (61%), siendo *lambda* en el 39% de los casos⁶.

	CM	CP en MO	Daño orgánico
GMSI	CM en suero <3 g/dL y	CPc <10% y	Ausencia de eventos definitorios de mieloma o amiloidosis
MMS	CM en suero ≥3 g/dL o CM en orina ≥500 mg/24 horas y/o	CPc: 10-60% y	Ausencia de eventos definitorios de mieloma o amiloidosis (imprescindible)
MM	CM en suero y/o en orina (no imprescindible)	CPc ≥10%* y	Presencia de eventos definitorios de mieloma o amiloidosis

* O biopsia confirmatoria de plasmocitoma óseo o extramedular.

Tabla 1.1. Criterios diagnósticos de las gammopatías monoclonales. Basado en International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 15, e538-48, 2014².

El MMS se caracteriza por cumplir cualquiera de estos dos criterios: la presencia de un CM en suero ≥3 g/dL (IgG o IgA) y/o CM en orina mayor de 500 mg/24 horas y/o una

infiltración de CP clonales en MO entre un 10-60% y la ausencia de un evento definitorio de MM o amiloidosis (Tabla 1.1)².

Criterios diagnósticos para MM del International Myeloma Working Group²
Definición de MM
Presencia de $\geq 10\%$ de CP en MO
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Eventos definitorios de Mieloma: <ul style="list-style-type: none"> – Hipercalcemia: calcio en suero $>0,25$ mmol/L (>1 mg/dL) por encima del límite superior de la normalidad o $>2,75$ mmol/L (11 mg/dL) – Insuficiencia renal: aclaramiento de la creatinina <40 mL/min o un valor de creatinina sérica >177 μmol/L (>2 mg/dL) – Anemia: reducción de la hemoglobina (Hb) >2 g/dL por debajo del límite inferior de la normalidad o un valor Hb <10 g/dL – Lesión ósea: una o más lesiones osteolíticas en la serie ósea radiológica, TC o PET/TC ▪ Uno o más biomarcadores de malignidad: <ul style="list-style-type: none"> – Infiltración en MO de CP clonales $\geq 60\%$ – Ratio de CLL (CLL involucrada/no involucrada) ≥ 100 – Presencia de más de una lesión focal ≥ 5 mm en Resonancia Magnética

Tabla 1.2. Criterios diagnósticos para MM del International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol* 15, e538-48 (2014)².

El MM se define por la presencia de infiltración de CP clonales en MO $\geq 10\%$ o biopsia confirmatoria de plasmocitoma óseo o extramedular y cualquiera de los siguientes eventos: daño orgánico atribuible a la proliferación clonal de la CP del MM (CRAB); hipercalcemia, con calcio en suero $>0,25$ mmol/L (>1 mg/dL) por encima del límite superior de la normalidad, o más de $>2,75$ mmol/L (>11 mg/dL); insuficiencia renal, con aclaramiento de la creatinina <40 mL/min o un valor de creatinina sérica >177 μ mol/L (>2 mg/dL); anemia, con una reducción de la hemoglobina (Hb) >2 g/dL por

debajo del límite inferior de la normalidad o un valor Hb <10 g/dL; o lesión ósea, con una o más lesiones osteolíticas en la serie ósea radiológica, TC o PET/TC². Además de la presencia de uno o más de los siguientes biomarcadores de malignidad, incluso en ausencia de CRAB: infiltración en MO de CP clonales $\geq 60\%$ ^{7,8}, ratio de CLL (CLL involucrada/no involucrada) $\geq 100\%$ ⁷⁻¹⁰ o presencia de más de una lesión focal ≥ 5 mm detectadas mediante Resonancia Magnética (RM) (Tabla 1.2)^{11,12}.

1.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA GMSI

1.2.a. Prevalencia de la GMSI

Existen diferentes publicaciones sobre la prevalencia de la GMSI basados en estudios realizados sobre la población general, aunque la mayoría de estos se realizaron en pacientes dentro del ámbito hospitalario.

La detección de las GM depende en gran medida de la sensibilidad de las técnicas empleadas. El primer estudio poblacional de GM data de 1966 y fue realizado por Axelsson en el sur de Suecia, en una población de 6.995 personas mayores de 25 años, se encontró que el 0,9% tenían una GMSI detectada mediante EEF en papel¹³. En otro estudio, también realizado con pacientes dentro del ámbito hospitalario en Italia, se observaron unos datos de prevalencia similares, un 0,7%⁵; mientras que en otros, también realizados con EEF con acetato de celulosa, se objetivaron tasas de prevalencia ligeramente superiores, en torno al 1,2%¹⁴⁻¹⁶.

Posteriormente, se implantó el uso de la electroforesis en gel de agarosa, que permitió aumentar la sensibilidad de la técnica y las tasas de detección del CM en la población general.

En el año 1970, Kyle et al. realizó el primer estudio prospectivo y poblacional de GMSI, con el objetivo de evaluar el pronóstico a largo plazo de estos pacientes^{3,17-19}. Se evaluaron 241 sujetos y se objetivó una prevalencia de GMSI del 3% para el grupo de edad superior a 70 años y del 1% en los mayores de 50. Posteriormente, Kyle realizó otro estudio más ambicioso, basado en una población sana de Minnesota de 21.463 personas, en la que se detectó la presencia de GMSI en 694 casos, es decir, en el 3,2% de la población mayor de 50 años, que representaba una tasa de prevalencia mayor a la publicada hasta el momento para esa franja de edad⁴.

Mientras la prevalencia de la GMSI de CLL fue más baja, sólo detectada en el 0,8% de pacientes mayores de 50 años. Cuando se evaluó la prevalencia en conjunto, la GMSI de Ig completa y la GMSI de CLL, esta fue de 4,2%²⁰.

En España, existen muy pocos estudios observacionales de prevalencia de GMSI, salvo el estudio retrospectivo realizado en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza, en el que se seleccionaron los pacientes mayores de 60 años diagnosticados de GMSI y en el que se reportó una incidencia de 52,87% casos de GMSI por 10⁵ habitantes/año²¹.

1.2.b. Distribución de la GMSI según el sexo, la edad y la raza

La tasa de prevalencia de la GMSI difiere según el sexo^{22,23}. En el estudio poblacional de Minnesota las tasas ajustada por edad fueron más altas en hombres que en mujeres (3,7% vs 2,9%, respectivamente)^{4,22}.

En relación con la edad, la GMSI es más frecuente en la población mayor de 50 años, presentando una prevalencia global del 3,5% aproximadamente, en un estudio poblacional alemán de 4.814 personas entre 45-75 años²⁴ y aumentando hasta el 6% en la población mayor de 80 años^{4,13,16,22,25}.

En la misma línea Kyle et al. reportaron la prevalencia de la GMSI por grupos de edad, y en la población entre 50-59 años esta fue de un 1,7%, entre los 60-69 años de un 3%, entre los 70-79 años de un 4,6%, alcanzando tasas del 6,6% en los mayores de 80 años⁴. En otro estudio realizado en Carolina del Norte, donde se incluyeron 111 personas ancianas, presentaron una tasa de prevalencia de hasta el 14% en los mayores de 90 años²⁶.

En cuanto a la raza, existen también diferencias en la prevalencia de las GMSI. En un estudio en Duke, Carolina del Norte (EEUU), realizado en 1.732 personas mayores de 70 años, Cohen et al. detectaron que las personas de raza negra (afroamericana) tenían más del doble de probabilidad que las personas de raza blanca de tener una GMSI, (8,4% vs 3,8%, respectivamente)^{22,27,28}. Este hallazgo ha sido confirmado posteriormente en otros estudios, en los que la tasa de prevalencia de la GMSI para la raza blanca fue de 2,3%²⁹⁻³².

Cabe señalar que la tasa de prevalencia de GMSI publicada en la población japonesa fue menor a la reportada en países occidentales. En un estudio poblacional de 52.802 personas en la ciudad de Nagasaki en Japón, la prevalencia fue del 2,4% en los pacientes mayores de 50 años, mientras que en aquellos mayores de 80 años la tasa fue del 4,4%, es decir, menor a la publicada para esa franja de edad en occidente²³.

1.2.c. Historia natural de las GM benignas

La evolución natural desde la GMSI a la Leucemia de CP, clásicamente, se ha representado de una manera lineal. Se ha observado que la CP sigue habitualmente

un modelo en ramas basado en la evolución de las especies de Darwin³³, produciéndose diferentes clonas junto con una heterogeneidad intraclonal que favorece la persistencia y desarrollo de células cada vez más resistentes, con alteraciones genéticas y moleculares que le podría conferir una mayor ventaja proliferativa (Figura 1.2). La gran heterogeneidad de clonas que pueden seleccionarse durante la progresión podría condicionar la diferencia en la respuesta al tratamiento que existe en cada paciente. Los factores que están implicados en esta selección son variados, influye desde el microambiente tumoral, hasta características propias de cada clon.

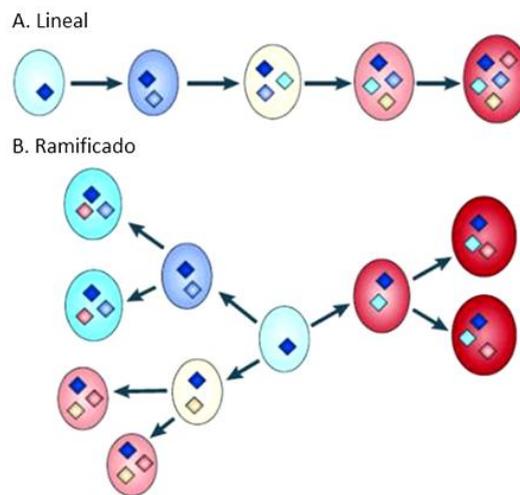


Figura 1.2. Modelos de evolución clonal del cáncer. Figura extraída de Morgan et al. *Nature Reviews Cancer*, 12(5):335–348³³.

1.2.d. Historia natural de la GMSI

El comportamiento de la GMSI es, en general, indolente. No obstante, el 25% de los pacientes con GMSI progresarán a MM, con una tasa de progresión del 1% al año en personas mayores de 50 años, un 5% en mayores de 70 años, llegando incluso al 10% en los pacientes por encima de los 80 años de edad, en algunas series^{34,35}. Este riesgo permanece constante, incluso después de 25-30 años de seguimiento desde el diagnóstico^{6,25,36}. Aunque aproximadamente el 80% de los MM se originan de una GMSI no IgM, también existe una proporción, el 20% restante, que progresan de una GMSI de CLL, siendo el riesgo de progresión de los pacientes con GMSI de CLL menor que el de la GMSI convencional, con una tasa de 0,27% al año. Esto podría explicarse porque una proporción de casos con GMSI de CLL podría ser secundaria a un problema renal o una activación policlonal²⁰.

Otros estudios, la mayoría de ellos realizados en los años 90, reportaron datos diferentes en cuanto a la historia natural de la GMSI y su riesgo de progresar a MM. En un estudio en Islandia, en 504 pacientes con GMSI, se detectaron 9,2% de progresiones a los 6 años de seguimiento³⁷; en otro la tasa de progresión fue del 10% con una mediana de seguimiento de 56 meses³⁸; mientras que un tercero se reportó una tasa de progresión del 6,2% a los 72 meses en 335 casos de GMSI³⁹. No obstante, cabe la posibilidad de que los criterios aplicados para el diagnóstico de GMSI no fueran homogéneos, pues en el momento actual se puede decir que la evolución de los pacientes con GMSI es indolente y que globalmente el riesgo de progresión es de 1% por año⁴⁰.

1.2.e. Historia natural del MMS

El MMS presenta un riesgo de progresión a MM heterogéneo. Existen MMS con un comportamiento evolutivo similar al de una GMSI, con una tasa muy baja de progresión y otros con un comportamiento similar a un “*early MM*” o MM precoz, con alto riesgo de progresar a MM⁴¹⁻⁴⁴.

En general, el riesgo de progresión del MMS es del 10% al año durante los primeros 5 años desde el diagnóstico, aproximadamente de un 3% anual durante los siguientes 5 años, y de un 1% al año durante los últimos 10 años. Se advirtió una incidencia acumulada de progresión del 73% a los quince años de seguimiento de pacientes con MMS (Figura 1.3)⁴⁰.

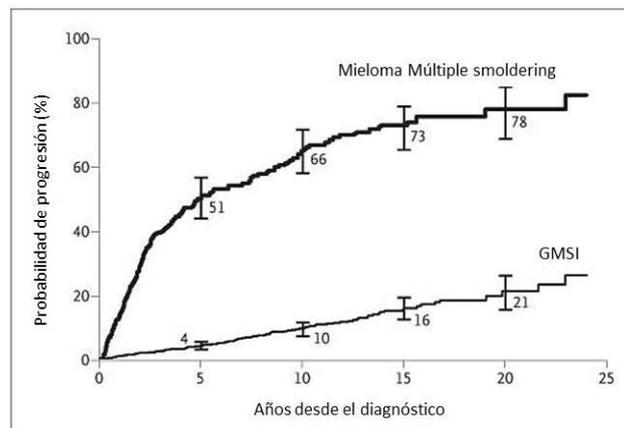


Figura 1.3. Riesgo de progresión de la GMSI y el MMS. Extraída de Kyle, R. A. et al. *N Engl J Med* 356, 2582-90 (2007)⁴⁰.

2. FACTORES PREDICTIVOS DE TRANSFORMACIÓN DE LA GMSI

Aunque la GMSI es una enfermedad indolente con riesgo de progresión a MM bajo y uniforme a lo largo del tiempo. Se han descrito diferentes factores pronósticos predictores del riesgo de progresión a MM, que incluyen características basales al diagnóstico, como la cantidad de CM, el tipo de Ig afecta, la cantidad de CP en MO y su proporción con inmunofenotipo patológico o la alteración de la ratio de las CLL involucrada vs no involucrada, entre otros, que han demostrado ser útiles para identificar aquellos pacientes con mayor riesgo de progresión³⁶.

El estudio de estos factores pronósticos ayudará a una mejor caracterización de la GMSI y podría ser útil para predecir el riesgo de progresión a enfermedad sintomática, y así poder individualizar su seguimiento⁴⁵.

2.1. FACTORES RELACIONADOS CON LA CARGA TUMORAL

2.1.a. Componente Monoclonal

La concentración del CM en suero al diagnóstico ha sido el factor de riesgo a la progresión con mayor valor pronóstico en todas las discrasias de células plasmáticas. Además, la mayoría de las GM comparten el hecho de que la medición del CM es un factor común y determinante para su diagnóstico, pronóstico y seguimiento. Así mismo, se ha observado que el riesgo relativo de progresión de los pacientes con GMSI está directamente relacionado con la concentración del CM al diagnóstico^{39,46-51}.

En un estudio realizado en 1.384 pacientes con GMSI, se observó que aquellos casos que tenían un CM >2,5 g/dL el riesgo de progresión era 4,6 veces superior con respecto a aquellos con un CM al diagnóstico menor de 0,5 g/dL. Además, los pacientes con un CM de 1,5 g/dL presentaron casi el doble de riesgo de progresión que aquellos con un CM de 0,5 g/dL. Se objetivó que la probabilidad de evolución a MM a los 20 años aumentaba según la cantidad del CM: 14% cuando la cantidad del CM inicial era de 0,5 g/dL, 25% cuando el CM era 1,5 g/dL, llegando hasta el 49% cuando el CM era 2,5 g/dL³⁴.

Otro factor predictor de progresión también relacionado con la carga tumoral, pero que en este caso tiempo-dependiente, es el patrón evolutivo del CM. Existen diferentes estudios que han señalado el aumento progresivo del CM, durante los primeros años de seguimiento, como un factor de riesgo de interés para predecir la progresión a MM. Rosiñol et al., en un estudio de 359 pacientes con GMSI, describieron un patrón “*evolving*” del CM sérico caracterizado por un incremento progresivo del CM, más de 0,5 g/dL en cada determinación, durante los tres primeros años desde el diagnóstico.

Este grupo de pacientes presentaron una tasa de progresión de 55% vs 10% para aquellos pacientes con patrón “*evolving*” frente a los que presentaron estabilidad del CM (“*no evolving*”) a los 10 años, y 80% vs 13%, respectivamente los 20 años⁵².

En otro estudio con 61 pacientes con MMS y 311 con GMSI, se definió el patrón “*evolving*” del CM como el incremento de al menos el 10% en el primer año en el caso del MMS; y durante los tres primeros años desde el diagnóstico, confirmado en dos determinaciones consecutivas separadas al menos por un mes, en el caso de las GMSI. Los pacientes con patrón “*evolving*” tuvieron una probabilidad acumulada de progresión a los 7 años de 19% vs 7% para aquellos “*no evolving*”⁵³.

El patrón “*evolving*” del CM se ha asociado también con factores de riesgo ya conocidos como son: concentración elevada del CM y una ratio de CLL alterada, confirmando, así, la validez del modelo “*evolving/no-evolving*” como factor predictor de progresión en la GMSI⁵⁴.

2.1.b. Infiltración medular

El porcentaje medio de CP en la GMSI al diagnóstico es del 3%⁶. En diferentes publicaciones se ha demostrado que el punto de corte de 5% de CP en MO tiene un valor pronóstico independiente de riesgo a la progresión^{35,46,55}.

De tal modo que en un estudio de 434 pacientes se objetivó cómo aquellos con una mayor infiltración de CP en MO (<5% vs ≥5%) presentaron un riesgo de progresión a los 20 años del 27,7% vs 13,3%, respectivamente (p=0,014)^{55,56}.

En otro estudio de 386 pacientes se pudo identificar un subgrupo de pacientes con menos del 5% de CP en MO, junto con un CM menor de 1,5 g/dL y sin inmunoparesia ni proteinuria Bence Jones, que presentaron un curso evolutivo de la GMSI más benigno con un riesgo de progresión de 1,29% a los 67 meses de seguimiento³⁹.

2.2. FACTORES RELACIONADOS CON EL GRADO DE EXPANSIÓN TUMORAL CLONAL (SUPRESIÓN DE LA POBLACIÓN DE CP POLICLONALES)

2.2.a. Infiltración clonal en médula ósea

La Citometría de Flujo (CMF) puede identificar y diferenciar las CP normales (CPn) de las CP clonales y con inmunofenotipo patológico (CPc) que coexisten en la MO (San Miguel et al. 2006; Paiva et al. 2010). No se han identificado claras diferencias entre el inmunofenotipo de las CPc en la GMSI y el MM: las CP normales son CD38+, CD138+, CD56- y CD19+, mientras que las CP clonales con inmunofenotipo

patológico son CD56+ y CD19-, con restricción de la CLL kappa o lambda⁵⁷; sin embargo, sí existen diferencias en la proporción de las CPn y CPc entre ambas patologías, presentándose estas últimas en mayor proporción en el MM. El porcentaje de CPc en la GMSI oscila entre el 40-73%, en el MMS en torno a un 97%, mientras que en el MM suele ser mayor del 99%^{53,58}.

Pérez Persona et al., en un estudio de 407 pacientes con GMSI y 99 con MMS, describieron que la presencia de más del 95% CPc en MO evaluadas mediante la CMF era un factor pronóstico independiente de progresión en ambos grupos. Los pacientes con GMSI y más del 95% de CPc en MO presentaron un riesgo de progresión a los 5 años del 25% vs 5% en aquellos con menos del 95% de CPc en MO⁵⁷.

2.2.b. Inmunoparesia

La inmunoparesia se ha definido como la disminución del 25% por debajo del límite inferior de la normalidad de una o dos de las Igs policlonales en la GMSI, cuantificadas mediante nefelometría clásica, es decir, la supresión de la IgM y/o la IgA en un paciente con GMSI IgG. Entre un 30-40% de los paciente con GMSI presentan inmunoparesia^{6,34,38}, mientras que en el MM aparece hasta en el 90%⁵⁹.

La inmunoparesia es uno de los factores pronósticos que, junto con la cantidad de CM, se ha asociado con un incremento del riesgo de transformación de la GMSI a MM^{35,51,57}. La presencia de inmunoparesia se asoció a una tasa de progresión a MM a los 10 años, significativamente superior, del 19% con respecto al 8,1% reportado en los pacientes sin inmunoparesia.

Turesson et al. describieron la inmunoparesia como factor pronóstico independiente de riesgo de progresión a MM, en un estudio de 728 casos con un seguimiento de 30 años, considerando esta como la disminución de la presencia de IgA <0.88 g/L, IgM <0.27 g/L o IgG <6.7 g/L. Además, se observó que el riesgo de progresión fue similar en aquellos pacientes que presentaron inmunoparesia de una o dos Ig policlonales (HR=2,79 y HR=2,82, respectivamente)⁶¹.

En otro estudio de 1.283 pacientes, Rossi et al. describieron un modelo pronóstico que incluía la inmunoparesia como factor de riesgo junto con la Hb <12,5 g/dL en los pacientes con GMSI IgA. En el análisis de supervivencia libre de progresión (SLP) se pudo identificar dos grupos con diferente riesgo pronóstico a los 10 años: uno de bajo riesgo (sin ningún factor pronóstico) con una HR=1,0; y un grupo de alto riesgo (con 1-2 factores de riesgo) con una HR=4,13⁶².

2.2.c. Hevylite Chain®

Las técnicas convencionales, como la electroforesis de proteínas (EEF) y la inmunofijación electroforética (IFE) no permiten, en ocasiones, cuantificar el CM de manera fidedigna por lo que se puede recurrir a otras técnicas más sensibles que permitan identificarlo. Hevylite Chain® (HLC) es un método nefelométrico-turbidimétrico realizado en suero que permite la determinación cuantitativa de pares específicos de cadenas pesadas-ligeras de las Ig de tipo IgG, IgA e IgM unidas a las cadenas ligeras kappa o lambda (HLC). Se basa en la utilización de anticuerpos policlonales dirigidos a epítomos únicos en la región de unión entre las cadenas pesadas y ligeras de cada molécula de Ig, lo que permite cuantificar, en valores absolutos, la IgG-κ, IgG-λ, IgA-κ, IgA-λ, IgM-κ e IgM-λ, por separado.

Así, mediante el ensayo de HLC se puede distinguir entre Ig monoclonal (par de HLC de Ig monoclonal) y la Ig no involucrada (par de HLC del isotipo de la Ig no involucrada) o policlonal (par de HLC de las Igs policlonales). Por ejemplo, en un paciente con una GMSI IgG-κ, el par de HLC monoclonal sería la IgG-κ; mientras que el par de HLC del isotipo de la Ig no involucrada sería la IgG-λ; y finalmente, los pares de HLC de Igs policlonales, serían la IgA-κ, IgA-λ, IgM-κ e IgM-λ^{63,64}.

La detección y cuantificación de los pares de HLC permite una medición más precisa de las Igs monoclonales y no monoclonales. Esto es especialmente útil en casos en los que la cuantificación del CM mediante EEF puede resultar difícil, particularmente en aquellos con un CM IgA o IgM con bandas monoclonales que presentan una co-migración y se superponen con otras proteínas séricas normales como la transferrina⁶³.

Cabe señalar que la determinación del cociente o ratio entre los diferentes pares específicos con Hevylite®: IgG-κ/IgG-λ, IgA-κ/IgA-λ, IgM-κ/IgM-λ, es un marcador de monoclonalidad muy sensible, como ocurre con la ratio de CLL. Para ello, se han descrito unos valores de normalidad para cada uno de los pares de HLC y de sus ratios, definidos en sueros normales de donantes sanos (Tabla 1.3)⁶⁰.

En la Clínica Mayo, Katzmann et al. evaluaron el valor de la ratio alterada de la HLC como factor de riesgo de progresión de la GMSI a MM. Para ello, en una cohorte de 1.384 pacientes con GMSI, se incluyeron 999 casos de los que se disponía de suero del diagnóstico. Se concluyó que aquellos pacientes con la ratio de HLC alterada presentaron mayor riesgo de progresión que los que tenían la ratio normal, 11,5% vs 3,9% a los 10 años, respectivamente⁶⁰.

Por otro lado, hasta hace relativamente poco tiempo, el estudio de la inmunoparesia se realizaba mediante la cuantificación de las Igs totales por nefelometría, sin diferenciar entre la Ig monoclonal y la policlonal. En este sentido, Katzmann et al. evaluaron, mediante el método de HLC, la inmunoparesia definida como la supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado en la GMSI, observando que aquellos pacientes con supresión del par de HLC presentaron una tasa de progresión a MM del 15,3% vs 6,9% a los 10 años.

HLC	Mediana (mg/dL)	Rango de referencia (mg/dL)
IgG-k	645	434–1080
IgG-λ	327	177–531
Ratio IgG-k/ IgG-λ	2.0	1.3–3.7
IgA-k	122	53–262
IgA-λ	92	38–181
Ratio IgA-k / IgA-λ	1.4	0.7–2.2
IgM-k	64	22–143
IgM-λ	41	10–94
Ratio IgM-k / IgM-λ	1.6	1.0–2.4

Tabla 1.3. Rangos de referencia normales de las HLC y de sus ratios⁶⁰.

Pika et al. estudiaron también la inmunoparesia mediante la HLC, evaluando la disminución del par de HLC del isotipo de Ig no involucradas y de las Ig policlonales. Describió un modelo que fue capaz de predecir el riesgo de progresión en 159 pacientes con GMSI, pudiendo diferenciar cuatro grupos con bajo, intermedio-bajo e intermedio-alto y alto riesgo de malignización⁶⁴.

2.3. FACTORES RELACIONADOS CON LAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DEL CLON DE CP PATOLÓGICAS

2.3.a. Tipo de cadena pesada de Inmunoglobulina

Los pacientes con GMSI cuya cadena pesada de la Ig afecta era de tipo IgM o IgA tenían un riesgo de progresión mayor en comparación con aquellos con CM tipo IgG, demostrado en un estudio poblacional de 1.384 pacientes con GMSI de la Clínica Mayo³⁴.

Otros estudios han confirmado que aquellos casos con GMSI tipo IgA o IgM tienen una probabilidad acumulada de progresión a los 10 años, del 17,2% vs 6,1% para aquellos con una GMSI IgG^{35,38,48,49,51,52,60}.

2.3.b. Alteración de la ratio de las cadenas ligeras libres en suero

Como se ha mencionado anteriormente, era necesario implementar técnicas más sensibles para la detección del CM más allá de la EEF y la IFE. Al igual que la técnica de HLC, anteriormente descrita, el inmunoensayo de Free Light Chain® o cadenas ligeras libres en suero (CLL) permitió cuantificar de manera más sensible la CLL-kappa y CLL-lambda libres, y sus cocientes o ratios k/λ , aumentando, así, la sensibilidad en la detección de posibles alteraciones monoclonales^{63,65}.

Katzmann et al. establecieron unos valores de normalidad de las concentraciones de las CLL y de sus ratios, definidos a partir de sueros normales de donantes sanos (Tabla 1.4)⁶⁶.

CLL	Rango de referencia (mg/L)
Kappa (k)	3,30 - 19,40
Lambda (λ)	5,71 - 26,30
Cociente k/λ	0,26 - 1,65

Tabla 1.4. Rangos de referencia normales de las CLL y de su ratio.

El ensayo de las CLL en suero complementa el estudio mediante la IFE y permite la cuantificación de monoclonalidad en aquellos pacientes con GMSI de CLL que no tienen un pico M detectable en suero o en orina⁶⁶⁻⁶⁸.

En un estudio poblacional de 1.384 pacientes con GMSI, en el sudeste de Minnesota, en 1.148 casos de los que se disponía de suero se objetivó que un 33% de éstos presentaban alterada la ratio de las CLL involucrada vs no involucrada⁶. En el estudio multivariante se puso de manifiesto que dicha ratio alterada se comportaba como un factor de pronóstico independiente que predecía progresión a MM en la GMSI. Así, aquellos pacientes con una ratio fuera del intervalo de normalidad presentaron un riesgo de progresión a MM del 17% a los 10 años, frente a un 5% en aquellos pacientes con ratio normal de las CLL; con una Hazard ratio de 3,5. Además, es uno de los factores, junto con la cantidad de CM >1,5 g/dL y el tipo de cadena pesada no-IgG, con los que se ha construido el modelo pronóstico para la GMSI de la Clínica Mayo⁴⁸.

Cabe señalar que el Grupo Internacional de Mieloma ha recomendado, en diferentes guías internacionales de consenso, la utilización del estudio de las CLL en suero, tanto al diagnóstico como en la evaluación tras tratamiento en el MM y otras discrasias de las células plasmáticas^{60,69}.

2.3.c. Proteinuria de Bence Jones

La presencia de proteinuria de Bence Jones (BJ) en orina de 24 horas en pacientes con GMSI, no de CLL, se describió como un factor independiente de riesgo de progresión a MM, en un estudio de 1.231 pacientes³⁵.

Se objetivó que aquellos pacientes con GMSI que presentaron proteinuria de BJ y una ratio de CLL alterada (con valores <0,01 o >100), mostraron un mayor riesgo de progresión a amiloidosis AL y MM, con un tiempo hasta la progresión menor^{35,57,62,70,71}.

2.3.d. Estudio de la Aneuploidía del ADN mediante CMF

La CMF permite estudiar la cantidad del ADN presente en las células tumorales. Esta técnica se basa en la unión de algunos fluorocromos a los ácidos nucleicos, que emiten una fluorescencia en función de la cantidad de ADN que tenga la célula⁷².

Una de las ventajas más importantes que tiene la CMF frente a la citogenética convencional es que permite detectar alteraciones cuantitativas del ADN (la aneuploidía) sin precisar que las células se encuentren en metafase⁷³.

Además, la CMF puede evaluar en qué fase del ciclo celular se encuentra la CP tumoral. De este modo se observó como la presencia de CP con alta actividad proliferativa, es decir, en fase S, se asoció con estadios avanzados de la enfermedad con alto riesgo de progresión^{74,75}.

La ploidía estudiada por CMF se expresa con un índice de ADN, que se calcula mediante un cociente entre la moda del canal de fluorescencia G0/G1 de la población de CP clonales y el canal G0/G1 de las CP normales residuales⁷⁶. Así, si el índice de ADN es igual a 1, se considera que las células tumorales son diploides; mientras que si es diferente de 1, el ADN celular se considera aneuploide: hiperdiploide si el índice ADN >1 o hipodiploide si en índice de ADN <1⁷⁷.

Pérez-Persona et al. demostraron que la existencia de aneuploidía de ADN en la GMSI tenía un valor pronóstico independiente en el riesgo de progresión a MM. Así, estos pacientes con aneuploidía del ADN presentaron una probabilidad de progresión más alta, 4,3 veces mayor que aquellos con un índice de ADN diploide, con una tasa de progresión de 17% vs 6%, respectivamente. Estableció un modelo pronóstico basado en la presencia de aneuploidía del ADN y un porcentaje mayor del 95% de CPc en MO por CMF, definiendo tres grupos pronósticos, con una supervivencia libre de progresión a los 5 años de 98%, 90% y 54%, para aquellos casos con ninguno, uno o dos de los factores de riesgo mencionados⁵⁷.

2.3.e. Alteraciones citogenéticas

Los estudios realizados sobre la detección de alteraciones en el cariotipo, mediante la citogenética convencional, han demostrado no ser útiles para predecir la progresión de la GMSI a MM, ya que en rara ocasión se detectan alteraciones en las GMSI, debido a la pequeña proporción de CP existentes en MO y su baja tasa de proliferación.

Sin embargo, mediante la hibridación in situ con fluorescencia (FISH), que no precisa que las células estén en fase de mitosis, se puede detectar alteraciones citogenéticas similares en el MM y en la GMSI⁷⁸⁻⁸⁰. Estas alteraciones suelen ser translocaciones que involucran a la cadena pesada de la Ig (IGH) (IGH, 14q32), deleciones u otros cambios estructurales y numéricos que generalmente resultan ser hiperdiploides (por ejemplo, trisomías de los cromosomas 3, 5, 7, 9, 15 y 19)⁸¹⁻⁸⁴.

Así mismo, no se han detectado marcadores genéticos inequívocos que permitan distinguir entre la GMSI, el MMS o el MM⁸⁵. Aunque algunas alteraciones citogenéticas están presentes ya en la GMSI, estas son más frecuentes y se adquieren durante la progresión a MMS y MM⁸¹. Tampoco se han encontrado diferencias significativas según el perfil de expresión genética, las vías de señalización o los genes que se desregulan en estos tres estadios de la enfermedad⁸⁶.

Recientemente, Mikulasova et al. realizaron un estudio de 90 pacientes con GMSI y 33 con MM para detectar alteraciones en el número de copias en todo el genoma,

mediantes microarrays de ADN de alta densidad. Observaron que en la GMSI detectaron un menor número y proporción de alteraciones respecto al MM (65,6% vs 100%). Además, identificaron alteraciones como pérdidas de 1p, 6q, 8p, 12p, 13q y 16q, ganancia de 1q e hipodiploidía, que están potencialmente asociadas con un pronóstico adverso en la GMSI. Además, se observó un mayor y creciente número de alteraciones en cada grupo de riesgo, bajo, intermedio y alto, según el modelo de la Clínica Mayo⁸⁴.

Por tanto, la GMSI es un trastorno genéticamente heterogéneo similar al MM, pero con una inestabilidad citogenética menor que en este último, lo que confirma que las anomalías genéticas desempeñan un papel importante en las GM.

2.3.f. Aumento de la resorción ósea en BMO

La resorción ósea mediada por osteoclastos es un evento que se produce en las etapas iniciales del MM y es considerado un síntoma temprano de malignidad. Así, se ha objetivado que prácticamente la totalidad de los pacientes con MM, el 93%, muestran una excesiva resorción ósea en comparación con aquellos casos con GMSI que la presentan en el 45%. Los pacientes con GMSI que progresaron a MM mostraron un incremento de la resorción ósea en el 52% de los casos frente al 4% de aquellos que tuvieron una GMSI estable y sin enfermedad ósea³⁹.

2.3.g. Perfil de expresión génica

En 2003, el Southwest Oncology Group (SWOG) desarrolló el primer estudio del perfil de expresión génica (GEP) en células tumorales CD138+ purificadas de pacientes con GMSI, con el objetivo de analizar la heterogeneidad biológica y genética de las CP y evaluarlo como posible factor predictivo de progresión.

Dhordakar et al. identificaron algunas firmas genéticas que seleccionaban pacientes con enfermedad de bajo y alto riesgo de transformación maligna. Se analizaron diversas variables basadas en GEP y se observó que tener una puntuación en la escala de riesgo de GEP-70 mayor de -0,26 tenía un TTP a los 24 meses de 3,5% frente al 0% en aquellos con GEP-70 menor de -0,26⁸⁷.

2.3.h. La presencia de linfocitos B clonales en SP

Se ha observado que el incremento de linfocitos B clonales en SP, con restricción de la CLL, es un factor de riesgo en la GMSI, de tal modo que estos pacientes tienen un mayor riesgo de progresar (HR=3,45). Además, se ha detectado que, previo a la

transformación a MM, se produce un aumento progresivo de estos linfocitos B clonales⁸⁸.

2.3.i. Presencia de CP circulantes en sangre periférica

La detección CP en SP se realizaba clásicamente mediante la inmunofluorescencia con la que se podía detectar CPc en SP en el 19% de los pacientes con GMSI, en un estudio de 325 pacientes en la Clínica Mayo⁸⁹. En los últimos años, las técnicas diagnósticas para el estudio de las CP circulantes han mejorado y aumentado su sensibilidad significativamente, de tal modo que con la CMF se ha conseguido una especificidad y sensibilidad tan alta como el de las técnicas moleculares. De hecho, la CMF tiene una buena concordancia con la ASO-PCR para la detección de ADN de CP en SP, pudiendo emplearse como alternativa en la evaluación de la enfermedad en el MM⁹⁰⁻⁹⁷.

Recientemente, se ha desarrollado una nueva generación de CMF, la “Next Generation Flow” (NGF), con una mayor sensibilidad en la detección de CP. Con la estandarización de la NGF se ha conseguido adquirir más de 10^7 células en cada muestra y así se han superado las limitaciones de la CMF convencional, aumentando la sensibilidad de la técnica⁹⁸. Respecto a lo publicado previamente, con la NGF se ha conseguido detectar CPc circulantes en un 52,2% de los casos con GMSI, frente al 19% y 37% detectado mediante la inmunohistoquímica y la CMF convencional⁹⁹.

Se ha descrito que todos los pacientes con GMSI presentan CPn en SP, aunque se detectan de manera más frecuente y en mayor cantidad en el MM que en la GMSI (100% y 59%, respectivamente). Además la cantidad de CP circulantes detectadas aumenta en los diferentes estadios de la enfermedad, presentando un incremento progresivo en la GMSI, el MMS y el MM, con una mediana de CPc en SP de: 0,008 vs 0,16 vs 1,9 CPc/ μ L, respectivamente^{90,99,100}.

En diferentes estudios publicados, la presencia de CPc circulantes en pacientes con GMSI y MMS se ha asociado con un mayor riesgo de progresión a MM^{91,92,101-103}. En función de la cuantificación de CPc en SP se pudo estratificar a los pacientes con GMSI en tres grupos con riesgo alto, intermedio y bajo, y con diferentes medianas de SLP de 26, 35 y 52 meses, respectivamente^{101,104}.

En otro estudio, los pacientes con GMSI y CPc circulantes detectadas mediante inmunofluorescencia presentaron un mayor riesgo de progresión a MM (HR=2,1), con una SLP de 138 meses frente a una mediana aún no alcanzada en aquellos en los que no se detectaban CP en SP, además, con una supervivencia global significativamente

menor⁹¹. Así, Kumar et al. definieron un modelo de riesgo de progresión utilizando como factores pronósticos la presencia de CP en SP, la cantidad de CM >2 g/dL y el isotipo de Ig no-IgG identificando diferentes grupos de riesgo en la GMSI (Figura 1.4)⁹¹.

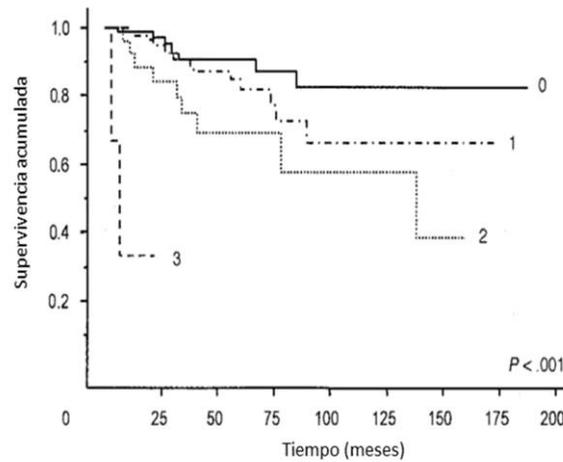


Figura 1.4. Modelos pronóstico de riesgo de progresión en GMSI, basado en los siguientes factores pronósticos: presencia de CP circulantes, isotipo de Ig no IgG y cantidad de CM ≥ 2 g/dL. Figura extraída de Kumar, S. et al. *J Clin Oncol* 23, 5668–74 (2005)⁹¹.

En esta línea, en un estudio reciente de 264 pacientes diagnosticados de GM, se corroboró que la presencia de CPc circulantes detectadas mediante NGF era un factor pronóstico que predecía el riesgo de progresión a MM. Así los pacientes con una cantidad mayor de 0,058 CPc en SP/ μ L presentaron una mediana de TTP a MM de 31 meses frente a una mediana aún no alcanzada para aquellos con menos de 0,058 CPc en SP/ μ L. Además se asoció con una mayor infiltración de CP en MO y otros factores pronósticos adversos¹⁰⁰

2.4. FACTORES RELACIONADOS CON EL HUESO. PRESENCIA DE LESIONES FOCALES EN RM DE CUERPO COMPLETO

En los últimos años, con la implantación de técnicas de imagen más sensibles se han podido detectar lesiones óseas de manera más precoz que con la serie ósea realizada mediante radiología convencional, que era considerada el “gold estándar” para el estudio de la enfermedad ósea en las GM¹⁰⁵.

En diferentes estudios de pacientes con GMSI, se ha demostrado que la presencia de una o más lesiones focales en médula ósea detectadas en la RM de cuerpo completo tenía valor como factor pronóstico de riesgo a la progresión con una HR=4,34^{106,107}.

3. MODELOS PREDICTIVOS DE PROGRESIÓN DE LA GMSI A MIELOMA MÚLTIPLE

El riesgo de progresión de la GMSI a MM es del 1% anual. Este persiste y aumenta en el tiempo, de tal modo que el riesgo es del 10% a los 10 años, 18% a los 20 años, 28% a los 30 años, 36% a los 35 años y 36% a los 40 años^{4,6,34}.

En dos estudios independientes, se demostró que el MM siempre es precedido por una GMSI previa, pero no todos los pacientes con GMSI progresan a MM u otras enfermedades relacionadas^{108,109}.

En el apartado anterior, se han descrito diferentes estudios centrados en la identificación de factores que pueden contribuir a predecir el riesgo que un paciente con GMSI tiene de progresar a MM. Aunque en el caso de la GMSI, el riesgo global es bajo y uniforme, para mejorar las estrategias de seguimiento de pacientes con GMSI, se han diseñado diferentes modelos de riesgo de progresión a MM que permiten estratificar a los pacientes y proporcionarles una información más precisa sobre el riesgo que presentan de progresión a MM. Entre estos, destacan el modelo publicado por el grupo de la Clínica Mayo y los descritos por el grupo de Salamanca/GEM-PETHEMA^{48,53,57}.

3.1. MODELO PRONÓSTICO DE LA CLÍNICA MAYO

Rajkumar et al. realizaron un estudio en una cohorte de 1.148 pacientes diagnosticados de GMSI, del Sureste de Minnesota, con un seguimiento desde enero del 1960 hasta diciembre de 1994, con una mediana de quince años. Describieron un modelo de progresión basado en los siguientes factores pronósticos: concentración de CM >1,5 g/dL, ratio alterada de CLL (rango de normalidad: 0,26-1,65) y afectación de cadena pesada no-IgG⁴⁸, estratificando a los pacientes con GMSI en cuatro grupos.

El riesgo absoluto de la progresión a los 20 años fue del 5% para los pacientes sin factores de riesgo (riesgo bajo) y el riesgo aumentó al 21%, 37% y 58% para los pacientes con un factor (riesgo intermedio bajo), dos factores (riesgo intermedio alto) o tres de factores de riesgo (alto riesgo), respectivamente⁴⁸.

Recientemente, estos datos se han actualizado y se ha evaluado el riesgo en función del tipo de cadena pesada de Ig afecta. De tal modo que seleccionaron los casos de GMSI IgM y observaron que la presencia de dos factores de riesgo, es decir, una ratio de CLL alterada y un CM mayor de 1,5 g/dL, estaba asociada con un riesgo de progresión a los 20 años del 55%, en comparación con el 41% y el 19% de aquellos que presentaban sólo uno o ningún factor de riesgo, respectivamente. Mientras que en

los pacientes con GMSI no IgM, el riesgo de progresión a los 20 años fue del 7%, 20% y 30% según presentasen ninguno, uno o dos factores de riesgo, respectivamente⁶.

Posteriormente, Katzmann et al. evaluaron el valor de la supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado como factor de riesgo de progresión de la GMSI, en la misma cohorte de pacientes con GMSI del Sureste de Minnesota de la Clínica Mayo. Así, describieron un modelo pronóstico utilizando los factores de riesgo previamente descritos (CM >1,5 g/dL, isotipo de Ig no IgG y ratio de CLL alterada) y añadiendo la supresión del par de HLC, como cuarto factor.

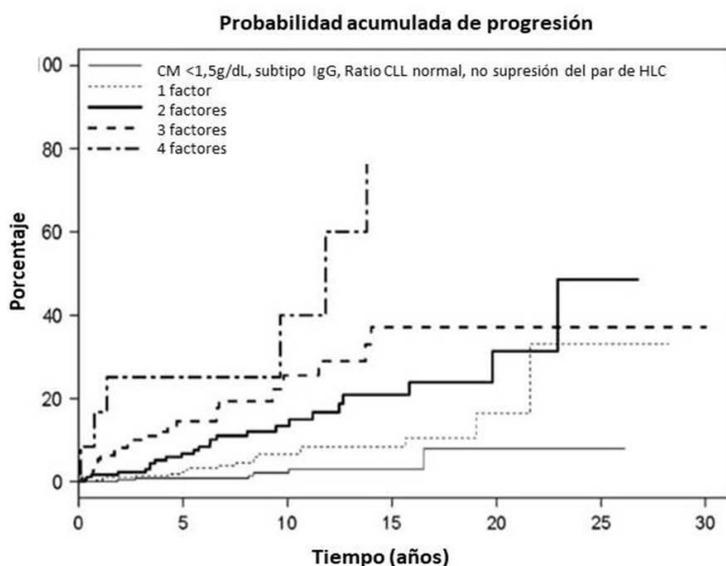


Figura 1.5. Modelo de riesgo de progresión de GMSI que incluye los siguientes factores pronósticos: la supresión del par de la HLC, la cantidad del CM (>1,5 g/dL), tipo de cadena pesada no-IgG y la ratio de CLL alterada. Figura extraída de Katzmann, J. A. et al. *Leukemia* 27, 208–12 (2013)⁶⁰.

Este modelo permitió predecir de manera más exacta el riesgo de progresión a MM⁶⁰, estratificando a los pacientes en cinco grupos de riesgo, con un TTP a los 20 años del 0%, 9,2%, 16,1%, 23,4%, cuando presentaron ninguno, uno, dos o tres factores, respectivamente. Todavía no hay datos disponibles del TTP de aquellos pacientes con los cuatro factores pronósticos debido al escaso número de eventos observados, aunque el efecto de la supresión del par de HLC en este grupo también implicó un mayor riesgo de progresión con un HR de 1.9 (IC del 95%: 0,6; 5,8) (Figura 1.5)⁶⁰.

En estudios posteriores, se ha confirmado el valor de la supresión del par de HLC como factor pronóstico que supone un aumento del riesgo de progresión de hasta seis veces mayor y con un TTP menor que aquellos sin supresión de las HLC^{110,111}.

3.2. MODELO PRONÓSTICO DEL GRUPO DE SALAMANCA/GEM-PETHEMA

El modelo pronóstico propuesto por Pérez-Persona, del grupo de Salamanca, se describió a partir de un estudio donde se evaluaron 276 pacientes con GMSI, con una mediana de seguimiento de 56 meses. Este modelo se basó en la presencia de un porcentaje mayor del 95% de CPc en MO y la aneuploidía del índice de ADN de las CP, ambas determinaciones realizadas mediante la CMF multiparamétrica. Se estratificaron a los pacientes en tres categorías con un riesgo a los 5 años de progresión de 2%, 10% y 46% según la presencia de ninguno, uno o dos de los factores de riesgo de progresión citados⁵⁷.

En otro estudio de 311 casos con GMSI, el mismo grupo de Salamanca, evaluó la combinación de dos factores: el porcentaje mayor del 95% de CPc en MO junto con la presencia con un patrón “*evolving*” del CM; identificando tres grupos de riesgo de progresión a los 5 años de 2%, 16% y 72%, según tuvieran ninguno, uno o dos de los factores pronósticos mencionados (Tabla 1.6)⁵³.

Modelos pronósticos de la GMSI	Rajkumar et al. (n=1148) ⁴⁸		Pérez-Persona et al. (n=276) ⁵⁷		Pérez-Persona et al. (n=311) ⁵³	
	Riesgo de progresión a los 20 años	% del total	Riesgo de progresión a los 5 años	% del total	Riesgo de progresión a los 7 años	% del total
0	5	39	2	46	2	49
1	21	37	10	48	16	45
2	37	20	46	6	72	6
3	58	5	-	-	-	-

Tabla 1.6. Modelos predictores de progresión de la GMSI^{48,57,53}.

4. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS PARA EL ESTUDIO DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

El diagnóstico de GMSI se hace, habitualmente, de forma casual, cuando en un análisis rutinario, bien se detectan las proteínas totales elevadas o un CM en el EEF de proteínas del suero solicitado por otro motivo.

Para la realización de una correcta aproximación diagnóstica, es fundamental realizar una buena historia clínica y exploración física. El estudio se debe completar con la siguiente batería de pruebas recomendadas para el diagnóstico de las GM:

- Pruebas de laboratorio que incluyan: Hemograma y examen de frotis de SP. Bioquímica sérica: creatinina, urea, calcio, fósforo, proteínas totales, albúmina, LDH, Beta2 microglobulina y PCR. Estudio de proteínas en suero y en orina de 24 horas, EEF sérico y urinario y cuantificación del CM en suero y de Bence-Jones en orina. IFE en suero y en orina. Dosificación de Ig. Cuantificación de las CLL (concentración de kappa, lambda y ratio κ/λ)⁴⁸.
- Aspirado y/o biopsia de MO: porcentaje de CP totales, porcentaje de CP inmunofenotípicamente patológicas mediante CMF⁵⁷, Hibridación in situ con fluorescencia (FISH) en MO (con CP purificadas) de las siguientes alteraciones citogenéticas recurrentes: t(4;14), del(17/17p), t(14;16), +1q, 1p.
- Estudios de imagen: la serie ósea radiológica ha quedado relegada por la aplicación de nuevas técnicas de imagen con mayor sensibilidad como TC de baja dosis, el PET/TC o la RM de cuerpo completo o de columna y pelvis^{2,112-115}.
- Punción aspiración (PAAF) de grasa abdominal, si hubiera sospecha clínica de amiloidosis o se detectara, dentro de la batería de pruebas realizadas en una GMSI, una ratio de CLL en suero alterada o albuminuria superior a 500 mg/24h en la orina de 24 horas.

Cabe señalar que la mayoría de los expertos no recomiendan realizar de manera rutinaria el estudio de MO en los casos de GMSI tipo IgG y con un CM menor de 1,5 g/dL (grado de recomendación 2C). Tampoco está claro el papel de los estudios de imagen en aquellos pacientes con GMSI, asintomáticos (sin dolor óseo) y con un CM IgG menor de 1,5 g/dL o IgA menor de 1 g/dL (grado de recomendación 2C), pues no parece discriminar entre pacientes con MM y GMSI. En aquellos con una esperanza de vida limitada, debido a su edad avanzada o presencia de comorbilidades graves,

pueden no realizarse estudios de MO ni de imagen. De manera general, se podrán limitar las pruebas invasivas en los casos de GMSI de bajo riesgo¹¹⁶. Por el contrario, en pacientes jóvenes es recomendable realizar todos los estudios si el paciente consiente pues dada la expectativa de vida, la probabilidad de desarrollar un MM es mayor, por lo que siempre es útil tener la mayor información y más detallada posible al diagnóstico para así poder evaluar los cambios que ocurren durante el seguimiento.

5. MANEJO DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

Existen cuatro guías internacionales para el seguimiento de pacientes con GMSI, basadas en un consenso de expertos: la guía del Foro de Mieloma del Reino Unido y del Grupo de Estudio sobre el Mieloma Nórdico del 2009 (“UK Myeloma Forum and Nordic Myeloma Study Group”, UK-Nordic)⁸⁵; la Guía del Grupo Internacional de Trabajo del Mieloma de 2010 (“International Myeloma Working Group”, IMWG)³⁶; el Panel de Consenso Internacional de Expertos de 2010 (“International Expert Consensus”, IEC)¹¹⁷; y la guía de la Red Europea de Mieloma de 2014 (“European Myeloma Network”, EMN)¹¹⁸.

Aunque existen ciertas diferencias entre estas cuatro guías, en las recomendaciones para un óptimo seguimiento de los pacientes con GMSI, la mayoría de estas aconseja una reevaluación anual de estos pacientes (Tabla 1.7).

En un estudio de 11.676 pacientes diagnosticados de GMSI se evaluó si existía concordancia entre las citadas guías de práctica clínica y además se analizó cuál era la estrategia de seguimiento de pacientes con GMSI más utilizada en Estados Unidos. Se objetivó que sólo la mitad de los pacientes eran seguidos según alguna de las guías de práctica clínica mencionadas¹¹⁹.

Es recomendable hacer un seguimiento a todos los pacientes a los que se diagnostique de GMSI, pues además de predecir la progresión a MM y presentar menos complicaciones, la supervivencia global es más prolongada que en aquellos pacientes a los que no se les realiza ningún seguimiento¹²¹. Esto podría deberse a que los casos con MM han sido precedidos por una GMSI conocida, podrían haber recibido un tratamiento precoz y esto traducirse en una mejor supervivencia además de poder detectar otras enfermedades concomitantes durante el seguimiento¹²².

Por el contrario, en otro estudio retrospectivo de 116 pacientes con MM también precedidos de una GMSI conocida, no se observaron diferencias respecto al número de hospitalizaciones o aparición de complicaciones relacionadas con el MM, en aquellos pacientes a los que se les realizó un seguimiento óptimo (al menos cada 3

años); no observándose, en este caso, diferencias en la supervivencia global en ambos grupos¹²³.

Puesto que el riesgo de progresión de la GMSI persiste incluso pasados 25 años desde el diagnóstico⁶, se recomienda realizar un seguimiento de por vida en estos pacientes para diagnosticar la transformación a enfermedad sintomática antes de que se produzcan complicaciones clínicas graves que podría suponer un empeoramiento del estado general y de la calidad de vida difícilmente recuperable¹²³.

Riesgo pronóstico y estudios recomendados	UK Myeloma Forum and Nordic Myeloma Study Group (2009)¹²⁰	International Expert Consensus (2010)¹¹⁷	International Myeloma Working Group (2010)³⁶	European Myeloma Network (2014)¹¹⁸
Riesgo pronóstico bajo	Primer año, cada 3-4 meses; posteriormente, cada 6-12 meses, si está estable.	Primeros 2 años, cada 4-6 meses; posteriormente cada 6-24 meses.	A los 6 meses; posteriormente cada 2-3 años, si está estable.	A los 6 meses; posteriormente cada 1-2 años, si está estable o sin seguimiento.
Riesgo pronóstico alto	Al menos cada 3-4 meses.	Primeros 2 años, cada 4-6 meses; posteriormente, cada 6-24 meses.	A los 6 meses; posteriormente cada año, si está estable.	A los 6 meses; posteriormente, cada año.
Pacientes con esperanza de vida < 5 años	Se puede suspender el seguimiento	No mencionado	No mencionado	No seguimiento
Estudios recomendados	Cuantificación del CM, urea sérica, Ig, iones, calcio, creatinina y hemograma.	Cuantificación del CM.	Cuantificación del CM y hemograma.	Cuantificación del CM, hemograma, calcio y creatinina.

Tabla 1.7. Comparación de las cuatro guías internacionales para el seguimiento de pacientes con GMS^{36,117,118,120}.

Según la guía más actual¹¹⁸, de la “European Myeloma Network” (EMN) para el manejo de la GMSI, se recomienda la utilización del modelo pronóstico de la Clínica Mayo⁴⁸, ya que los tres factores de riesgo, en los que se basa esta clasificación, están disponibles fácilmente en todos los pacientes (grado de evidencia 1B). Aun así, es recomendable utilizar todos los factores pronósticos disponibles, para así adaptar el seguimiento de manera más precisa (recomendación grado C).

Para el seguimiento adecuado de estos pacientes se debe realizar una correcta historia clínica y examen físico, además de los estudios de laboratorio para reevaluar la GMSI, como son la cuantificación del CM, hemograma, creatinina y calcio sérico.

La guía de la EMN recomienda que los pacientes con riesgo bajo (con una tasa de progresión de 5% a los 20 años) el seguimiento puede realizarse con menor frecuencia, durante el primer año cada seis meses, pudiéndose espaciar la reevaluación de la GMSI a uno o dos años. Mientras que aquellos con riesgo intermedio (con una tasa de progresión de 21–37% a los 20 años) y riesgo alto (con una tasa de progresión de 58% a los 20 años) deben ser seguidos cada seis meses durante el primer año y posteriormente cada año (grado de recomendación 2C)^{48,116}.

En el caso de la GMSI de CLL, aunque la tasa de progresión a MM es muy baja (aproximadamente un 0.3% al año), existe un riesgo considerable de desarrollar enfermedad renal²⁰, por esto, se recomienda un seguimiento similar a los pacientes con riesgo alto de progresión, es decir, a los seis meses y posteriormente anual (grado de recomendación 2C). En este caso, estos pacientes podrían progresar como una amiloidosis o enfermedad por depósito de CLL, de tal modo que deberían realizarse, además, pruebas para evaluar el daño orgánico mediante el análisis de Pro-BNP, TnT y albuminuria en orina de 24 horas durante el seguimiento. En el caso de presentar alguna de las citadas alteraciones, sería preciso ampliar el estudio con pruebas de imagen como el ecocardiograma y/o la ecografía abdominal para descartar daño cardíaco o visceromegalias. Estas recomendaciones están basadas en las Guía de consenso publicada por el Grupo Internacional de Mieloma (IMWG) en 2010³⁶.

La gran mayoría de pacientes con GMSI podrían seguirse correctamente en Atención Primaria, cada año o dos años en función del riesgo, conociendo bien los datos de alarma por los cuales el paciente debería ser remitido a la consulta de Hematología:

- Aumento del CM >3 g/dL o >25% (si en valores absolutos es >0,5 g/dL).
- Anemia (Hb <10 g/dL o disminución de 2 g/dL desde su nivel basal), leucopenia o trombopenia no explicada, de nueva aparición.

- Hipercalcemia (valores corregidos >11 mg/dL o 1 mg/dL por encima del límite superior de la normalidad).
- Insuficiencia renal aguda (Cr >2 mg/dL, CICr <40 mL/min y/o aumento inferior a estos a juicio del médico).
- Dolores óseos de nueva aparición, exacerbación de dolores habituales, evidencia de lesiones líticas óseas u osteoporosis previamente no existente y no atribuible a otra causa.
- Aparición de lesión sugerente de plasmocitoma.
- Síndrome clínico sugerente de hiperviscosidad.
- Infecciones bacterianas de repetición (más de dos episodios en un año).
- Clínica de compresión medular.
- Clínica y/o pruebas complementarias que sugieran amiloidosis (como la proteinuria no selectiva >500 mg/día).

Cabe señalar que según las guías de EMN¹¹⁸, se desaconseja el seguimiento de aquellos pacientes ancianos o con comorbilidades graves y una esperanza de vida corta, salvo que presentasen algunos de los síntomas descritos anteriormente sugerentes de progresión a MM.

6. ESTRATEGIAS PARA LA PREVENCIÓN DE LA PROGRESIÓN Y ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO EN LA GMSI

En la actualidad no existen estrategias que hayan demostrado como prevenir la progresión de la GMSI a MM. Hasta ahora, el estándar de manejo para las GM asintomáticas ha sido la abstención terapéutica y la observación. Así que fuera del entorno de ensayos clínicos, no se recomienda el tratamiento en la GMSI y solo estaría indicado cuando el paciente presentase progresión a enfermedad sintomática.

Existen diferentes estudios en los que se ha evaluado el tratamiento precoz, fundamentalmente centrado en el MMS y menos en la GMSI. Los fármacos que clásicamente se han utilizado y evaluado como posibles tratamientos para retrasar la progresión han sido los bifosfonatos o fármacos inmunomoduladores. Por ejemplo, en pacientes con GMSI se demostró que el uso de Ácido Zolendrónico y de Alendronato podía aumentar la densidad mineral ósea, reduciendo así el riesgo teórico de fracturas secundarias al incremento de la reabsorción ósea, la osteoporosis o la osteopenia que

se puede producir en la GMSI, pero no se demostró que estos tratamientos pudiera retrasar o prevenir de algún modo la progresión a MM^{124,125}.

Hasta hace unos años, los resultados obtenidos en este tipo de estudios no demostraron que el tratamiento precoz de las GM asintomáticas aportara ningún beneficio, pero cabe destacar, que en ninguno de ellos se tuvo en consideración el riesgo de progresión de los pacientes. Por este motivo, el posible beneficio que podría haberse observado en los pacientes de alto riesgo pudo verse compensado negativamente por los resultados del grupo de bajo riesgo.

La justificación del diseño de nuevas estrategias terapéuticas en estadios asintomáticos de la enfermedad para pacientes seleccionados, con alto riesgo de progresión, reside en que la utilización de nuevos fármacos más eficaces y con mejores perfiles de seguridad, podría conseguir respuestas profundas y duraderas, lo que podría traducirse en una prolongación de la supervivencia^{126,127}.

En el futuro, los resultados tan prometedores que se han observado en pacientes con MMS, podría estimular el desarrollo de nuevos ensayos clínicos destinados a prevenir también la progresión de la GMSI de alto riesgo. Por esto es necesario desarrollar métodos diagnósticos más sensibles que ayuden a caracterizar mejor a los pacientes con GMSI e identificar aquellos con mayor riesgo de progresión a MM.

REFERENCIAS

1. Kyle, R. A. & Rajkumar, S. V. Management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering multiple myeloma (SMM). *Oncol. Williston Park* 25, 578–86 (2011).
2. Rajkumar, S. V. *et al.* International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 15, e538-48 (2014).
3. Kyle, R. A. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and solitary plasmacytoma. Implications for progression to overt multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am* 11, 71–87 (1997).
4. Kyle, R. A. *et al.* Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 354, 1362–9 (2006).
5. Malacrida, V., De Francesco, D., Banfi, G., Porta, F. A. & Riches, P. G. Laboratory investigation of monoclonal gammopathy during 10 years of screening in a general hospital. *J Clin Pathol* 40, 793–7 (1987).
6. Kyle, R. A. *et al.* Long-Term Follow-up of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *N. Engl. J. Med.* 378, 241–249 (2018).
7. Rajkumar, S. V., Larson, D. & Kyle, R. A. Diagnosis of smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 365, 474–5 (2011).
8. Kastiris, E. *et al.* Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk for progression to symptomatic disease. *Leukemia* 27, 947–53 (2013).
9. Larsen, J. T. *et al.* Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma. *Leukemia* 27, 941–6 (2013).
10. Waxman, A. J. *et al.* Classifying ultra-high risk smoldering myeloma. *Leukemia* 29, 751–3 (2015).
11. Hillengass, J. *et al.* Prognostic significance of focal lesions in whole-body magnetic resonance imaging in patients with asymptomatic multiple myeloma. *J Clin Oncol* 28, 1606–10 (2010).
12. Hillengass, J. & Landgren, O. Challenges and opportunities of novel imaging techniques in monoclonal plasma cell disorders: imaging ‘early myeloma’. *Leuk Lymphoma* 54, 1355–63 (2013).
13. Axelsson, U., Bachmann, R. & Hällén, J. Frequency of pathological proteins (M-components) om 6,995 sera from an adult population. *Acta Med Scand* 179, 235–47 (1966).
14. Kyle, R. A., Finkelstein, S., Elveback, L. R. & Kurland, L. T. Incidence of monoclonal proteins in a Minnesota community with a cluster of multiple myeloma. *Blood* 40, 719–724 (1972).
15. Vladutiu, A. O. Prevalence of M-proteins in serum of hospitalized patients. Physicians’ response to finding M-proteins in serum protein electrophoresis. *Ann Clin Lab Sci* 17, 157–61 (1987).
16. Saleun, J. P., Vicariot, M., Deroff, P. & Morin, J. F. Monoclonal gammopathies in the adult population of Finistère, France. *J Clin Pathol* 35, 63–8 (1982).
17. Kyle, R. A. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases. *Am J Med* 64, 814–26 (1978).
18. Kyle, R. A. ‘Benign’ monoclonal gammopathy--after 20 to 35 years of follow-up. *Mayo Clin. Proc.* 68, 26–36 (1993).
19. Kyle, R. A. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood Rev.* 8, 135–141 (1994).
20. Dispenzieri, A. *et al.* Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *Lancet Lond. Engl.* 375, 1721–1728 (2010).
21. Giraldo Castellano, P. *et al.* [Aging of the population and incidence of primary acquired hemopathies in the Autonomous Community of Aragón]. *Rev Esp Salud Publica* 72, 559–70 (1998).
22. Cohen, H. J., Crawford, J., Rao, M. K., Pieper, C. F. & Currie, M. S. Racial differences in the prevalence of monoclonal gammopathy in a community-based sample of the elderly. *Am J Med* 104, 439–44 (1998).

23. Iwanaga, M., Tagawa, M., Tsukasaki, K., Kamihira, S. & Tomonaga, M. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance: study of 52,802 persons in Nagasaki City, Japan. *Mayo Clin Proc* 82, 1474–9 (2007).
24. Eisele, L. *et al.* Prevalence and progression of monoclonal gammopathy of undetermined significance and light-chain MGUS in Germany. *Ann Hematol* 91, 243–8 (2012).
25. Therneau, T. M. *et al.* Incidence of monoclonal gammopathy of undetermined significance and estimation of duration before first clinical recognition. *Mayo Clin Proc* 87, 1071–9 (2012).
26. Crawford, J., Eye, M. K. & Cohen, H. J. Evaluation of monoclonal gammopathies in the 'well' elderly. *Am J Med* 82, 39–45 (1987).
27. Singh, J., Dudley, A. W. & Kulig, K. A. Increased incidence of monoclonal gammopathy of undetermined significance in blacks and its age-related differences with whites on the basis of a study of 397 men and one woman in a hospital setting. *J Lab Clin Med* 116, 785–9 (1990).
28. G.P., S. The Frequency of Monoclonal Gammopathy of Unknown Significance in Black and Caucasian Veterans in a Hospital Population. (1991). doi:10.1007/978-3-642-76655-8_14
29. Landgren, O. *et al.* Risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and subsequent multiple myeloma among African American and white veterans in the United States. *Blood* 107, 904–6 (2006).
30. Landgren, O. & Waxman, A. J. Multiple myeloma precursor disease. *JAMA* 304, 2397–2404 (2010).
31. Landgren, O. *et al.* Racial disparities in the prevalence of monoclonal gammopathies: a population-based study of 12,482 persons from the National Health and Nutritional Examination Survey. *Leukemia* 28, 1537–42 (2014).
32. Landgren, O. *et al.* Prevalence of myeloma precursor state monoclonal gammopathy of undetermined significance in 12372 individuals 10-49 years old: a population-based study from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Blood Cancer J* 7, e618 (2017).
33. Morgan, G. J., Walker, B. A. & Davies, F. E. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer* 12, 335–48 (2012).
34. Kyle, R. A. *et al.* A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 346, 564–9 (2002).
35. Cesana, C. *et al.* Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol* 20, 1625–34 (2002).
36. Kyle, R. A. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 24, 1121–7 (2010).
37. Ogmundsdóttir, H. M. *et al.* Monoclonal gammopathy in Iceland: a population-based registry and follow-up. *Br. J. Haematol.* 118, 166–173 (2002).
38. Blade, J. *et al.* Malignant transformation and life expectancy in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol* 81, 391–4 (1992).
39. Baldini, L. *et al.* Role of different hematologic variables in defining the risk of malignant transformation in monoclonal gammopathy. *Blood* 87, 912–8 (1996).
40. Kyle, R. A. *et al.* Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Engl J Med* 356, 2582–90 (2007).
41. Landgren, O. & Waxman, A. J. Multiple myeloma precursor disease. *JAMA* 304, 2397–404 (2010).
42. Rajkumar, S. V., Merlini, G. & San Miguel, J. F. Haematological cancer: Redefining myeloma. *Nat Rev Clin Oncol* 9, 494–6 (2012).
43. Rajkumar, S. V. Preventive strategies in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Am J Hematol* 87, 453–4 (2012).
44. Landgren, O. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma: biological insights and early treatment strategies. *Hematol. Am Soc Hematol Educ Program* 2013, 478–87 (2013).

45. Mateos, M. V. & Landgren, O. MGUS and Smoldering Multiple Myeloma: Diagnosis and Epidemiology. *Cancer Treat Res* 169, 3–12 (2016).
46. Van De Donk, N., De Weerd, O., Eurelings, M., Bloem, A. & Lokhorst, H. Malignant transformation of monoclonal gammopathy of undetermined significance: cumulative incidence and prognostic factors. *Leuk Lymphoma* 42, 609–18 (2001).
47. van de Donk, N. W., Mutis, T., Poddighe, P. J., Lokhorst, H. M. & Zweegman, S. Diagnosis, risk stratification and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Int J Lab Hematol* 38 Suppl 1, 110–22 (2016).
48. Rajkumar, S. V. *et al.* Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 106, 812–7 (2005).
49. Schaar, C. G. *et al.* Long-term follow-up of a population based cohort with monoclonal proteinaemia. *Br. J. Haematol.* 144, 176–184 (2009).
50. Kyle, R. A. *et al.* Prognostic Factors and Predictors of Outcome of Immunoglobulin M Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *Clin. Lymphoma* 5, 257–260 (2005).
51. Gregersen, H. *et al.* The impact of M-component type and immunoglobulin concentration on the risk of malignant transformation in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica* 86, 1172–9 (2001).
52. Rosiñol, L. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance: predictors of malignant transformation and recognition of an evolving type characterized by a progressive increase in M protein size. *Mayo Clin Proc* 82, 428–34 (2007).
53. Pérez-Persona, E. *et al.* Risk of progression in smoldering myeloma and monoclonal gammopathies of unknown significance: comparative analysis of the evolution of monoclonal component and multiparameter flow cytometry of bone marrow plasma cells. *Br J Haematol* 148, 110–4 (2010).
54. Medina, S. Prognostic markers in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *33*(1), 6–10 (2014).
55. Montoto, S., Bladé, J. & Montserrat, E. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N. Engl. J. Med.* 346, 2087–2088; author reply 2087–2088 (2002).
56. Montoto, S. *et al.* Malignant transformation in IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Semin Oncol* 30, 178–81 (2003).
57. Pérez-Persona, E. *et al.* New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* 110, 2586–92 (2007).
58. Rawstron, A. C. *et al.* Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica* 93, 431–8 (2008).
59. Kyle, R. A. *et al.* Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 78, 21–33 (2003).
60. Katzmann, J. A. *et al.* Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS. *Leukemia* 27, 208–12 (2013).
61. Turesson, I. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance and risk of lymphoid and myeloid malignancies: 728 cases followed up to 30 years in Sweden. *Blood* 123, 338–45 (2014).
62. Rossi, F. *et al.* Proposal and validation of prognostic scoring systems for IgG and IgA monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Clin Cancer Res* 15, 4439–45 (2009).
63. Bradwell, A. R. *et al.* Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clin Chem* 55, 1646–55 (2009).
64. Pika, T. *et al.* Immunoparesis in MGUS - Relationship of uninvolved immunoglobulin pair suppression and polyclonal immunoglobuline levels to MGUS risk categories. *Neoplasma* 62, 827–32 (2015).
65. Hill, P. G., Forsyth, J. M., Rai, B. & Mayne, S. Serum free light chains: an alternative to the urine Bence Jones proteins screening test for monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 52, 1743–8 (2006).

66. Katzmann, J. A. *et al.* Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 48, 1437–44 (2002).
67. Katzmann, J. A. *et al.* Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 55, 1517–22 (2009).
68. Katzmann, J. A. *et al.* Long-term biological variation of serum protein electrophoresis M-spike, urine M-spike, and monoclonal serum free light chain quantification: implications for monitoring monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 57, 1687–92 (2011).
69. Dispenzieri, A. *et al.* International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 23, 215–24 (2009).
70. Mian, M. *et al.* “Idiopathic Bence-Jones proteinuria”: a new characterization of an old entity. *Ann. Hematol.* 92, 1263–1270 (2013).
71. Kyle, R. A. *et al.* Idiopathic Bence Jones Proteinuria (Smoldering Monoclonal Light-Chain Proteinuria): Clinical Course and Prognosis. *Blood* 120, 1861–1861 (2012).
72. Darzynkiewicz, Z., Traganos, F. & Melamed, M. R. New cell cycle compartments identified by multiparameter flow cytometry. *Cytometry* 1, 98–108 (1980).
73. Morgan, R. J. *et al.* Detection of hypodiploidy using multi-parameter flow cytometric analysis: a prognostic indicator in multiple myeloma. *Am J Hematol* 30, 195–200 (1989).
74. Kumar, V. *et al.* Flow cytometric analysis of DNA indices, expression of p53 and multidrug resistance genes in multiple myeloma patients. *Anal Quant Cytol Histol* 26, 271–7 (2004).
75. San-Miguel, J., Mateos, M. V. & Gutierrez, N. C. Risk stratification in the era of novel therapies. *Cancer J* 15, 457–64 (2009).
76. San Miguel, J. F., García-Sanz, R., González, M. & Orfão, A. DNA cell content studies in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 23, 33–41 (1996).
77. Orfao, A. *et al.* Flow cytometry: its applications in hematology. *Haematologica* 80, 69–81 (1995).
78. Kaufmann, H. *et al.* Both IGH translocations and chromosome 13q deletions are early events in monoclonal gammopathy of undetermined significance and do not evolve during transition to multiple myeloma. *Leukemia* 18, 1879–1882 (2004).
79. Avet-Loiseau, H. *et al.* 14q32 translocations and monosomy 13 observed in monoclonal gammopathy of undetermined significance delineate a multistep process for the oncogenesis of multiple myeloma. Intergroupe Francophone du Myelome. *Cancer Res* 59, 4546–50 (1999).
80. Fonseca, R. *et al.* Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 100, 1417–24 (2002).
81. López-Corral, L. *et al.* The progression from MGUS to smoldering myeloma and eventually to multiple myeloma involves a clonal expansion of genetically abnormal plasma cells. *Clin Cancer Res* 17, 1692–700 (2011).
82. Chng, W.-J. *et al.* Clinical and biological implications of MYC activation: a common difference between MGUS and newly diagnosed multiple myeloma. *Leukemia* 25, 1026–1035 (2011).
83. Schmidt-Hieber, M. *et al.* Cytogenetic profiles in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance: a study in highly purified aberrant plasma cells. *Haematologica* 98, 279–287 (2013).
84. Mikulasova, A. *et al.* Genomewide profiling of copy-number alteration in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Eur. J. Haematol.* 97, 568–575 (2016).
85. Bird, J. *et al.* UK Myeloma Forum (UKMF) and Nordic Myeloma Study Group (NMSG): guidelines for the investigation of newly detected M-proteins and the management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Haematol* 147, 22–42 (2009).
86. López-Corral, L. *et al.* Transcriptome analysis reveals molecular profiles associated with evolving steps of monoclonal gammopathies. *Haematologica* 99, 1365–72 (2014).
87. Dhodapkar, M. V. *et al.* Clinical, genomic, and imaging predictors of myeloma progression from asymptomatic monoclonal gammopathies (SWOG S0120). *Blood* 123, 78–85 (2014).

88. Isaksson, E. *et al.* Blood clonal B-cell excess in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS): association with malignant transformation. *Br. J. Haematol.* 92, 71–76 (1996).
89. Witzig, T. E., Kyle, R. A., O'Fallon, W. M. & Greipp, P. R. Detection of peripheral blood plasma cells as a predictor of disease course in patients with smoldering multiple myeloma. *Br J Haematol* 87, 266–72 (1994).
90. Billadeau, D. *et al.* Clonal circulating cells are common in plasma cell proliferative disorders: a comparison of monoclonal gammopathy of undetermined significance, smoldering multiple myeloma, and active myeloma. *Blood* 88, 289–96 (1996).
91. Kumar, S. *et al.* Prognostic value of circulating plasma cells in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *J Clin Oncol* 23, 5668–74 (2005).
92. Gonsalves, W. I. *et al.* Quantification of clonal circulating plasma cells in relapsed multiple myeloma. *Br J Haematol* 167, 500–5 (2014).
93. An, G. *et al.* Multiple myeloma patients with low proportion of circulating plasma cells had similar survival with primary plasma cell leukemia patients. *Ann Hematol* 94, 257–64 (2015).
94. Billadeau, D. *et al.* Detection and quantitation of malignant cells in the peripheral blood of multiple myeloma patients. *Blood* 80, 1818–24 (1992).
95. Periago, A. *et al.* Circulating aberrant plasma cells allows risk stratification of patients with myeloma. *Am J Hematol* (2016). doi:10.1002/ajh.24431
96. Nowakowski, G. S. *et al.* Circulating plasma cells detected by flow cytometry as a predictor of survival in 302 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* 106, 2276–9 (2005).
97. Chandesris, M. O. *et al.* Detection and follow-up of fibroblast growth factor receptor 3 expression on bone marrow and circulating plasma cells by flow cytometry in patients with t(4;14) multiple myeloma. *Br J Haematol* 136, 609–14 (2007).
98. Flores-Montero, J. *et al.* Next Generation Flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia* 31, 2094–2103 (2017).
99. Rawstron, A. C. *et al.* Circulating plasma cells in multiple myeloma: characterization and correlation with disease stage. *Br J Haematol* 97, 46–55 (1997).
100. Sanoja-Flores, L. *et al.* Next generation flow for minimally-invasive blood characterization of MGUS and multiple myeloma at diagnosis based on circulating tumor plasma cells (CTPC). *Blood Cancer J* 8, 117 (2018).
101. Witzig, T. E. *et al.* Peripheral blood monoclonal plasma cells as a predictor of survival in patients with multiple myeloma. *Blood* 88, 1780–7 (1996).
102. Bianchi, G. *et al.* High levels of peripheral blood circulating plasma cells as a specific risk factor for progression of smoldering multiple myeloma. *Leukemia* 27, 680–5 (2013).
103. Paiva, B. *et al.* A multiparameter flow cytometry immunophenotypic algorithm for the identification of newly diagnosed symptomatic myeloma with an MGUS-like signature and long-term disease control. *Leukemia* 27, 2056–61 (2013).
104. Witzig, T. E., Kimlinger, T. K. & Greipp, P. R. Detection of peripheral blood myeloma cells by three-color flow cytometry. *Curr Top Microbiol Immunol* 194, 3–8 (1995).
105. Wolf, M. B. *et al.* Sensitivity of whole-body CT and MRI versus projection radiography in the detection of osteolyses in patients with monoclonal plasma cell disease. *Eur. J. Radiol.* 83, 1222–1230 (2014).
106. Hillengass, J. *et al.* Prognostic significance of whole-body MRI in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia* 28, 174–178 (2014).
107. Dhodapkar, M. V. *et al.* Clinical, genomic, and imaging predictors of myeloma progression from asymptomatic monoclonal gammopathies (SWOG S0120). *Blood* 123, 78–85 (2014).
108. Landgren, O. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood* 113, 5412–7 (2009).
109. Weiss, B. M., Abadie, J., Verma, P., Howard, R. S. & Kuehl, W. M. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood* 113, 5418–22 (2009).

110. Magnano, L. *et al.* Prognostic Impact of Serum Heavy/Light Chain Pairs in Patients With Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Smoldering Myeloma: Long-Term Results From a Single Institution. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 16, e71-7 (2016).
111. Greil, C. *et al.* The serum heavy/light chain immunoassay: A valuable tool for sensitive paraprotein assessment, risk, and disease monitoring in monoclonal gammopathies. *Eur J Haematol* 99, 449–458 (2017).
112. Fonti, R. *et al.* 18F-FDG PET/CT, 99mTc-MIBI, and MRI in the prediction of outcome of patients with multiple myeloma: a comparative study. *Clin Nucl Med* 40, 303–8 (2015).
113. Hillengass, J. *et al.* Whole-body computed tomography versus conventional skeletal survey in patients with multiple myeloma: a study of the International Myeloma Working Group. *Blood Cancer J* 7, e599 (2017).
114. Cavo, M. *et al.* Role of 18F-FDG PET/CT in the diagnosis and management of multiple myeloma and other plasma cell disorders: a consensus statement by the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol* 18, e206–e217 (2017).
115. Dimopoulos, M. *et al.* International myeloma working group consensus statement and guidelines regarding the current role of imaging techniques in the diagnosis and monitoring of multiple Myeloma. *Leukemia* 23, 1545–1556 (2009).
116. van de Donk, N. W. *et al.* The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European Myeloma Network. *Haematologica* 99, 984–96 (2014).
117. Berenson, J. R. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance: a consensus statement. *Br J Haematol* 150, 28–38 (2010).
118. van de Donk, N. W. C. J. *et al.* The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European Myeloma Network. *Haematologica* 99, 984–996 (2014).
119. Go, R. S., Heien, H. C., Sangaralingham, L. R., Habermann, E. B. & Shah, N. D. Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance: Follow-up Patterns in the United States and Concordance With Clinical Practice Guidelines. *Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes* 1, 161–169 (2017).
120. Bird, J. *et al.* UK Myeloma Forum (UKMF) and Nordic Myeloma Study Group (NMSG): guidelines for the investigation of newly detected M-proteins and the management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Haematol* 147, 22–42 (2009).
121. Go, R. S., Gundrum, J. D. & Neuner, J. M. Determining the clinical significance of monoclonal gammopathy of undetermined significance: a SEER-Medicare population analysis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 15, 177-186.e4 (2015).
122. Sigurdardottir, E. E. *et al.* The Role of Diagnosis and Clinical Follow-up of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance on Survival in Multiple Myeloma. *JAMA Oncol.* 1, 168–174 (2015).
123. Bianchi, G. *et al.* Impact of optimal follow-up of monoclonal gammopathy of undetermined significance on early diagnosis and prevention of myeloma-related complications. *Blood* 116, 2019–2025 (2010).
124. Berenson, J. R. *et al.* Zoledronic Acid Markedly Improves Bone Mineral Density for Patients with Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Bone Loss. *Clin. Cancer Res.* 14, 6289–6295 (2008).
125. Pepe, J. *et al.* The Effects of Alendronate Treatment in Osteoporotic Patients Affected by Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *Calcif. Tissue Int.* 82, 418–426 (2008).
126. Paiva, B. *et al.* Immune status of high-risk smoldering multiple myeloma patients and its therapeutic modulation under LenDex: a longitudinal analysis. *Blood* 127, 1151–62 (2016).
127. Dispenzieri, A. *et al.* Smoldering multiple myeloma requiring treatment: time for a new definition? *Blood* 122, 4172–81 (2013).

II. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

El MM es una discrasia de CP que está precedida por dos entidades consideradas premalignas: la GMSI y el MMS. Ambas se definen como enfermedades asintomáticas pero con capacidad de progresión a MM.

La GMSI presenta un riesgo de progresión a MM del 1% al año que persiste incluso tras 25 años de seguimiento. El MMS, sin embargo, se comporta de manera heterogénea presentando formas de bajo riesgo de evolución a MM, con un curso evolutivo similar al de la GMSI, y otros de alto riesgo, considerados “*early myeloma*”. El MMS presenta un riesgo de progresión mayor durante los primeros cinco años (10%) desde el diagnóstico y luego disminuye sustancialmente, 3% por año durante los siguientes 3 años y 1% por año posteriormente^{1,2}. Aunque desde el punto de vista teórico, todos los MM están precedidos por un estado previo de GMSI y MMS, no siempre se diagnostican en estos estadios y en ocasiones cuando los pacientes son derivados a la consulta de Hematología, ya presentan daño orgánico y son diagnosticados de MM.

El 3% de la población mayor de 50 años tiene una GMSI por lo que, dada su frecuencia, es importante conocer la prevalencia en la población general y podría, potencialmente, ayudar a planificar una estrategia de seguimiento más adecuada de los pacientes. Con una optimización de los recursos y una mejor planificación de la carga asistencial, se podría plantear un control médico entre Atención Primaria y Atención Especializada de manera individualizada para la detección precoz de progresión a MM.

El estándar de manejo de los pacientes con GMSI y MMS es la observación hasta la progresión a MM. En los últimos años, se han llevado a cabo diferentes ensayos en MMS de alto riesgo con el objetivo de prevenir la progresión a MM, con resultados muy eficaces en términos de TTP y SG, lo que podría cambiar el paradigma terapéutico de estos pacientes³⁻⁶.

En la última década, el estudio de las CLL en suero y de la ratio de kappa/lambda, ha mejorado la sensibilidad y especificidad en la identificación de las GM⁷. De tal modo que el IMWG en 2009 incorporó la cuantificación de las CLL a sus recomendaciones de cribado, diagnóstico, pronóstico y seguimiento de las GM⁸.

Los rangos de normalidad de las CLL descritos y recomendados por el fabricante se han centrado en la población normal de otro país⁹. El interés de generar rangos locales de las CLL con sueros normales en una población urbana, radica en que

proporcionaría unos valores de referencia más fidedignos. Por tanto, es interesante evaluar la aplicabilidad de los valores de normalidad en la población española, además teniendo en cuenta determinadas características de la misma, como la edad o la función renal.

El diagnóstico precoz de la GMSI y el MMS es importante puesto que se podría realizar, si fuera necesario, una intervención terapéutica en estadios precoces del MM, o simplemente un seguimiento más estrecho de estos casos. Por ello, el desarrollo de técnicas diagnósticas más sensibles y no cruentas, así como la identificación de nuevos factores predictores de progresión podrían ayudar a dilucidar cuáles son los mecanismos de progresión de la GMSI.

Actualmente, se sabe que la cantidad de CPc circulantes en SP aumenta progresivamente en los diferentes estadios de la enfermedad, desde la GMSI al MM. Esto hace pensar que un incremento de CPc circulantes en una GMSI puede ser un factor predictor de progresión a MM^{10,11}. Además, el empleo de la NGF ha demostrado su utilidad en la detección de CPc circulantes con mayor sensibilidad que otras técnicas empleadas hasta ahora¹²⁻¹⁴. Si se confirmara el valor pronóstico de las CPc en SP en la GMSI, podría impulsar la implantación de la NGF como técnica poco invasiva en el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes.

En los últimos años, el estudio de la inmunoparesia evaluada mediante el ensayo de HLC ha demostrado su utilidad como factor pronóstico en las GMSI¹⁵, ya que indica el grado de supresión inmune de manera más específica y sensible. Además, pone de manifiesto el grado de expansión clonal tumoral¹⁶ y puede ayudar a predecir qué pacientes tienen mayor riesgo de presentar insuficiencia renal durante su evolución¹⁷⁻¹⁹.

Finalmente, el desarrollo de nuevas escalas de riesgo con factores pronósticos de mayor sensibilidad ayudaría a individualizar más el seguimiento de estos pacientes según el riesgo de progresión a MM^{20,21}.

Las novedades previstas en nuestro estudio incluyen las siguientes premisas:

- La realización, por primera vez, de un estudio de prevalencia de GMSI en una población local española.
- El seguimiento de una serie grande de pacientes con GMSI, que cumplen los criterios diagnósticos del IMWG²², de manera homogénea y adaptada al riesgo según los modelos pronósticos de la Clínica Mayo y los del grupo de Salamanca.

- El estudio, en una población extensa española, de los valores normales de referencia de las concentraciones en suero de las CLL kappa y lambda.
- La realización, por primera vez, de un estudio de CPc circulantes en SP mediante la NGF en pacientes con GMSI, basado tanto en el estudio de la presencia o ausencia de dichas CP, como en el número y porcentaje de CPc en SP.
- Además, la tecnología empleada en NGF, siguiendo el protocolo del grupo EuroFlow, denominado “*Bulk Lyse*”, permite alcanzar una mayor sensibilidad en la detección y cuantificación de CPc en SP.

2. OBJETIVOS

En base a las premisas expuestas, se propusieron los siguientes objetivos.

1. Evaluar la prevalencia de la GMSI, en pacientes mayores de 50 años, en un estudio poblacional de la ciudad de Segovia.
2. Estudiar las características basales de una cohorte de pacientes diagnosticados de GMSI, para detectar factores predictores de evolución a MM.
3. Definir los rangos e intervalos de referencia de las concentraciones de las cadenas ligeras libres en suero, obtenidos de una cohorte de donantes sanos en un estudio poblacional español.
4. Evaluar el riesgo de progresión de los pacientes con GMSI a MM:
 - 4.1. Evaluar el riesgo de progresión a MM, según el modelo de la Clínica Mayo y los del grupo de Salamanca, de una cohorte de pacientes con GMSI.
 - 4.2. Valorar la presencia y la cantidad de células plasmáticas patológicas circulantes en sangre periférica detectadas mediante Next Generation Flow, como factor predictor de riesgo de progresión a MM, en una cohorte de pacientes con GMSI.
 - 4.3. Evaluar y validar los resultados previos sobre la inmunoparesia determinada mediante Hevylite Chain®, como factor predictor de riesgo de progresión a MM, en una cohorte de pacientes con GMSI.
 - 4.4. Evaluar la asociación entre las células plasmáticas patológicas circulantes detectadas por Next Generation Flow, la inmunoparesia determinada mediante Hevylite Chain® y otros factores pronósticos de la GMSI descritos en la literatura.

REFERENCIAS

1. Kyle, R. A. *et al.* Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Engl J Med* 356, 2582–2590 (2007).
2. Kyle, R. A. & Rajkumar, S. V. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia* 23, 3–9 (2009).
3. Mateos, M.-V. *et al.* Lenalidomide plus dexamethasone versus observation in patients with high-risk smoldering multiple myeloma (QuiRedex): long-term follow-up of a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 17, 1127–1136 (2016).
4. Mateos, M. V. *et al.* Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 369, 438–47 (2013).
5. Rajkumar, S. V., Landgren, O. & Mateos, M. V. Smoldering multiple myeloma. *Blood* 125, 3069–75 (2015).
6. S. Lonial *et al.* Randomized phase III trial of lenalidomide versus observation alone in patients with asymptomatic high-risk smoldering multiple myeloma. 2019 ASCO Annual Meeting. Abstract No: 8001 (E3A06). *J Clin Oncol* 37, 2019 (suppl; abstr 8001)
7. Bradwell, A. R. *et al.* Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 47, 673–80 (2001).
8. Dispenzieri, A. *et al.* International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 23, 215–24 (2009).
9. Katzmann, J. A. *et al.* Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 48, 1437–44 (2002).
10. Kumar, S. *et al.* Prognostic value of circulating plasma cells in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *J Clin Oncol* 23, 5668–74 (2005).
11. Periago, A. *et al.* Circulating aberrant plasma cells allows risk stratification of patients with myeloma. *Am J Hematol* (2016). doi:10.1002/ajh.24431
12. Billadeau, D. *et al.* Clonal circulating cells are common in plasma cell proliferative disorders: a comparison of monoclonal gammopathy of undetermined significance, smoldering multiple myeloma, and active myeloma. *Blood* 88, 289–96 (1996).
13. An, G. *et al.* Multiple myeloma patients with low proportion of circulating plasma cells had similar survival with primary plasma cell leukemia patients. *Ann Hematol* 94, 257–64 (2015).
14. Witzig, T. E., Kyle, R. A., O'Fallon, W. M. & Greipp, P. R. Detection of peripheral blood plasma cells as a predictor of disease course in patients with smoldering multiple myeloma. *Br J Haematol* 87, 266–72 (1994).
15. Katzmann, J. A. *et al.* Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS. *Leukemia* 27, 208–12 (2013).
16. Larsen, J. T. *et al.* Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma. *Leukemia* 27, 941–6 (2013).
17. Dispenzieri, A. *et al.* Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *Lancet* 375, 1721–1728 (2010).
18. Weiss, B. M., Abadie, J., Verma, P., Howard, R. S. & Kuehl, W. M. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood* 113, 5418–22 (2009).
19. Landgren, O. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood* 113, 5412–7 (2009).
20. Kyle, R. A. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 24, 1121–7 (2010).

21. van de Donk, N. W. C. J. *et al.* The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European Myeloma Network. *Haematologica* 99, 984–996 (2014).
22. Group, I. M. W. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 121, 749–57 (2003).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. PACIENTES Y MUESTRA

1.1. ESTUDIO DE CRIBADO POBLACIONAL DE LA GMSI

Se incluyeron en el estudio un total de ciento tres pacientes, mayores de 50 años, de Segovia capital, diagnosticados de GMSI entre el 1 de octubre de 2008 y el 31 de octubre de 2011 (tres años). Todos los pacientes fueron incluidos tras la firma del consentimiento informado, aprobado por el Comité Ético del Complejo Asistencial de Segovia y de acuerdo a la Declaración de Helsinki (Anexo 1 y 2). La GMSI fue definida según los criterios del International Myeloma Working Group¹.

El reclutamiento de pacientes se realizó mediante tres vías: la primera fue a través de una propuesta directa por parte del médico de Atención Primaria cuando los pacientes acudían a su consulta por diversas causas; la segunda vía se realizó reclutando a todos aquellos pacientes que presentaran una GM en el seno de un estudio realizado por otra razón, durante el periodo del estudio; y la tercera forma de reclutamiento se formalizó mediante el envío por correo ordinario de una carta informativa a toda la población de Segovia capital mayor de 50 años (19.672 personas) proponiéndoles su participación en el estudio. Del total de cartas se devolvieron 732 por fallecimiento, cambio de domicilio o dirección errónea. De las que recibieron la carta informativa, expresaron su interés por participar en el estudio 1.771 personas acudiendo a su Centro de Salud o al Hospital General de Segovia. Durante varios periodos de los años 2008 y 2009 se mantuvo la figura de informador adicional, que se encargó de publicitar el estudio entre los pacientes que acudieron a extraerse sangre en los Centros de Salud.

Se realizó, por tanto, un estudio de cribado poblacional de GMSI a 7.597 personas, que dieron su consentimiento para participar, mediante el estudio del EEF e IFE en suero, objetivándose un total de 181 pacientes con CM. Del total de pacientes con GM, sólo 103 casos cumplían estrictamente los criterios diagnósticos de GMSI y fueron válidos para el estudio. El resto de pacientes fueron descartados por no tratarse de GMSI, sino otras GM como son: MM, MW, síndromes linfoproliferativos, amiloidosis, GM asociadas en neoplasias hematológicas no linfoides y GM transitorias. Además, 39 casos eran posibles GMSI pero rehusaron participar en el estudio y ser estudiados en la consulta. Durante el seguimiento, 15 pacientes fueron diagnosticados de GMSI transitoria, definida por la desaparición del CM, confirmada en dos determinaciones seriadas en un espacio de tres meses, mediante EEF e IFE en suero, por lo que fueron descartadas del estudio. La serie total de GMSI seleccionada fue, por lo tanto, de 103 pacientes.

1.2. ESTUDIO DE LA INCIDENCIA Y PREVALENCIA DE LA GMSI

El cálculo de la incidencia de la GMSI se realizó con 118 casos con GMSI, incluyendo 103 de la serie final y 15 GMSI transitorias.

El cálculo de la tasa de prevalencia de la GMSI se realizó teniendo en cuenta el número total de casos (n=118) detectados al final del estudio y aquellos (n=66) que habían sido diagnosticados de GMSI previamente al estudio y estaban siendo seguidos en la consulta de Hematología.

1.3. ESTUDIO DE RANGOS DE NORMALIDAD DE LAS CLL

Para la determinación de los rangos de normalidad de las CLL, se seleccionaron 594 muestras de suero de individuos que habían participado en el *screening* poblacional de GMSI y en los que se había descartado la presencia de CM mediante EEF e IFE en suero.

1.4. ESTUDIO DE FACTORES PRONÓSTICOS

Para evaluar los factores pronóstico de la GMSI, se aumentó el tamaño muestral, añadiendo a la muestra inicial de 103 pacientes, 72 casos más diagnosticados de GMSI en la consulta de Hematología del Hospital General de Segovia, consecutivamente desde el 1 de noviembre de 2011 hasta 31 de septiembre de 2015. Los pacientes fueron evaluados en dicha consulta mediante reevaluación clínica y analítica confirmando estabilidad de su GMSI en el momento de la inclusión.

La serie total fue por tanto de 175 pacientes diagnosticados de GMSI entre el 1 de octubre de 2008 y 30 de septiembre de 2015.

2. METODOLOGÍA

A la población que aceptó participar, se le realizaron los estudios basales y evolutivos siguientes:

2.1. DATOS BASALES

Realizados en el momento del cribado:

- 2.1.a. Datos biológicos: proteinograma con albúmina e inmunofijación sérica (tipo de Ig monoclonal)

Realizados y recogidos en el momento del diagnóstico:

- 2.1.b. Datos demográficos

- 2.1.c.** Datos biológicos: hemograma, creatinina, calcio sérico, proteínas totales séricas, proteinograma con albúmina, inmunofijación sérica (tipo de Ig monoclonal), dosificación de las Ig, CLL séricas (kappa, lambda y ratio kappa/lambda), Hevylite Chain® de todas las Ig, PCR, Beta2 microglobulina, proteinuria 24 horas, proteinuria de Bence-Jones.
- 2.1.d.** Análisis de CP en SP por CMF de NGF: porcentaje de CP totales, porcentaje de CPc y CPn.
- 2.1.e.** Serie ósea radiológica u otras pruebas de imagen (RM o TC).
- 2.1.f.** Análisis de MO: porcentaje de CP totales, porcentaje de CP inmunofenotípicamente patológicas, FISH con CP purificadas en MO, aneuploidía del ADN, porcentaje de CP en fase de síntesis (S).

2.2. DATOS EVOLUTIVOS

Realizados y recogidos durante el seguimiento:

- 2.2.a.** Datos biológicos: hemograma, creatinina, calcio sérico, proteínas totales séricas, proteinograma con albúmina, dosificación de Ig, CLL séricas (kappa, lambda y ratio kappa/lambda), PCR, Beta2 microglobulina, proteinuria 24 horas, proteinuria de Bence-Jones.
- 2.2.b.** Serie ósea radiológica u otras pruebas de imagen, si presentase cualquier sintomatología que lo justificara.
- 2.2.c.** Patrón “*evolving*” del CM sérico, según los criterios de Rosiñol, que se define como un incremento progresivo del CM, más de 0,5 g/dL en cada determinación, durante los tres primeros años desde el diagnóstico (Rosiñol et al., 2007)⁵².
- 2.2.d.** Fecha de progresión a MM.
- 2.2.e.** Fecha de último seguimiento con situación, vivo o muerto y causa de la misma.

2.3. CLASIFICACIÓN SEGÚN LOS MODELOS DE RIESGO Y SEGUIMIENTO ADAPTADO AL RIESGO

Tras el diagnóstico, los pacientes fueron clasificados según el modelo pronóstico de la Clínica Mayo y los del grupo de Salamanca, según presentasen los siguientes factores pronósticos (Tabla 3.1)²⁻⁴:

Clasificaciones pronósticas	Ig no IgG	CM >1,5 g/dL	Ratio CLL alterada	CPc >95% en MO por CMF	Aneuploidía del ADN	Patrón <i>evolving</i> del CM
Clínica Mayo	✓	✓	✓			
Grupo de Salamanca I				✓	✓	
Grupo de Salamanca II				✓		✓

Tabla 3.1. Modelos pronósticos en la GMSI³⁻⁵.

El modelo de riesgo descrito por la Clínica Mayo incluye el tipo y cantidad de CM, así como la presencia de una ratio normal o alterada de CLL en suero. Los pacientes se clasificaron en bajo riesgo, riesgo intermedio-bajo, intermedio-alto y alto riesgo, según presentaran ninguno, uno, dos o tres de los citados factores. Para poder evaluar la concordancia de los diferentes modelos pronósticos, se unificó el grupo de riesgo intermedio-bajo e intermedio-alto de la escala de la Clínica Mayo en un solo grupo de riesgo intermedio.

Adicionalmente, se aplicó también el modelo del grupo de Salamanca, que incluye el porcentaje de CPc dentro del compartimento de CP en la MO y la evaluación de la aneuploidía de ADN, ambos mediante la CMF. También se aplicó otro modelo que desarrolló el mismo grupo que incluye la presencia de un patrón “*evolving*” del CM junto con el porcentaje de CPc en la MO por CMF. Se estratificó a los pacientes en los diferentes grupos de riesgo: bajo, intermedio o alto, según presentaran ninguno, uno o dos de los factores descritos. Cabe señalar que solo se pudo realizar el estudio de la aneuploidía del ADN en 54 casos (30,8%) debido a la dificultad de la técnica por la escasa cantidad de CP que presentan en MO algunas GMSI.

El seguimiento de cada paciente se realizó de manera individualizada en función del riesgo pronóstico que presentaran al diagnóstico. Inicialmente, todos los pacientes realizaron una primera visita a los tres-cuatro meses tras el diagnóstico, para confirmar estabilidad clínica y analítica. Posteriormente, las visitas sucesivas a la consulta se planificaron según las recomendaciones del International Myeloma Working Group⁵:

- Riesgo bajo: cada uno-dos años.
- Riesgo intermedio: cada año.
- Riesgo alto: cada seis meses.

Los datos evolutivos descritos en el apartado 2.2 fueron evaluados y recogidos en cada visita de seguimiento.

En cada consulta se valoró si los pacientes con GMSI presentaban alguno de los signos o síntomas de posible daño orgánico atribuible al Mieloma, como son:

- Aumento del CM >3 g/dL o $>25\%$ (si en valores absolutos es $>0,5$ g/dL).
- Anemia (Hb <10 g/dL o disminución de >2 g/dL desde su nivel basal), leucopenia o trombopenia no explicada, de nueva aparición.
- Hipercalcemia (valores corregidos $>11,5$ mg/dL o 1 mg/dL por encima del límite superior de la normalidad).
- Insuficiencia renal aguda (Cr >2 mg/dL, CICr <40 mL/min y/o aumento inferior a éstos a juicio del médico).
- Dolores óseos de nueva aparición, exacerbación de dolores habituales evidencia de lesiones líticas óseas u osteoporosis previamente no existente y no atribuible a otra causa.
- Aparición de lesión sugerente de plasmocitoma.
- Síndrome clínico sugerente de hiperviscosidad.
- Infecciones bacterianas de repetición (más de dos episodios en un año).
- Clínica de compresión medular
- Clínica y/o pruebas complementarias que sugieran amiloidosis (como la proteinuria no selectiva >500 mg/día).

2.4. MANEJO Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

El manejo y almacenamiento de las muestras necesarias para la realización de las determinaciones analíticas se describen a continuación:

- El hemograma, el recuento celular (de leucocitos, hematíes y plaquetas) y el estudio de CP en SP mediante CMF se realizó extrayendo dos muestra de 5 cc de SP, obtenida mediante venopunción, en tubos con EDTA como anticoagulante. Estas muestras fueron procesadas en menos de 24 horas tras su extracción en el Servicio de Citometría de Flujo de la Universidad de Salamanca. Cabe destacar, que aunque el análisis de la CP en SP era

considerado un estudio basal, sólo 76 pacientes, del total de 175, dieron su consentimiento y quisieron colaborar en esta parte de estudio.

- Las siguientes determinaciones analíticas: creatinina, calcio sérico, proteínas totales séricas, proteinograma con albúmina, inmunofijación sérica, dosificación de las Ig, CLL séricas, PCR, Beta2 microglobulina; se realizaron con una muestra de 10 cc de SP, obtenida mediante venopunción, en un tubo con gel. Para la separación y obtención del suero se centrifugó dicho tubo a 300 g durante 10 minutos.
- El estudio de las Hevylite Chain®, se realizó en otra muestra de 10 cc de SP, obtenida mediante venopunción, en un tubo con gel. Para la obtención del suero y su almacenamiento se procedió de la siguiente manera. El suero se separó mediante la centrifugación de los 10 cc de SP, a 300 g durante 10 minutos, separándose en alícuotas de 1 cc. Estas fueron congeladas a - 80°C, en un plazo máximo de dos horas desde su extracción, en congeladores de la zona de criopreservación de la Unidad de Investigación del Complejo Hospitalario de Segovia, que disponía de servicio de control de temperatura y alarma centralizada para evitar descongelaciones accidentales. Las muestras quedaron almacenadas en el Complejo Hospitalario de Segovia, hasta que se realizó el análisis de las HLC que se procesaron en bloque en el Servicio de Análisis Clínicos del Complejo Hospitalario de Salamanca.

Cabe señalar que de los 175 pacientes solo se disponía de suero extraído en el momento del diagnóstico de 111 casos, por lo que el estudio de HLC solo se pudo realizar en estos últimos.

- El estudio de las proteínas en orina y la detección de la proteína de Bence Jones, se realizó en una muestra de orina recogida durante 24 horas, desde la segunda orina de la mañana del día anterior del análisis de la muestra, hasta la primera orina del día de su procesamiento.
- Las muestras de MO se obtuvieron mediante aspirado de hueso esternal. Se extrajeron: 4 cc de sangre medular en un tubo con EDTA como anticoagulante, para el estudio mediante CMF y 10 cc en un tubo con 0,3 cc de Heparina Litio, para el estudio de HIS.

2.5. METODOLOGÍA DETALLADA

Para el estudio de las variables y diferentes parámetros descritos anteriormente se procedió de la siguiente manera. Los datos demográficos y biológicos fueron recogidos de la historia clínica de cada paciente. La metodología del laboratorio empleada se describe a continuación:

2.5.a. Recuento celular de leucocitos, hematíes y plaquetas

Se realizó en el contador automático ADVIA-120 de Bayer mediante citometría de flujo. Los rangos de normalidad de los diferentes parámetros del hemograma para el ADVIA-120 son (Tabla 3.2):

Recuentos	Rango de referencia
Leucocitos	4,50 - 11,50 (x10E3/ μ L)
Hematíes	4,00 - 6,00 (x10E6/ μ L)
Plaquetas	140 – 400 (x10E3/ μ L)

Tabla 3.2. Rangos de referencia normales de los recuentos celulares.

2.5.b. Cuantificación de hemoglobina

Se procesó en el contador automático ADVIA-120 de Bayer. Se utilizó el método de Cianmetahemoglobina, que es un reactivo líquido para la determinación fotométrica de hemoglobina en sangre. Los eritrocitos son lisados por acción de un agente tensioactivo presente en el reactivo, liberando su contenido de hemoglobina en la solución. La hemoglobina liberada es oxidada a metahemoglobina por el ferrocianuro, siendo esta última convertida en Cianmetahemoglobina por la presencia de cianuro. La absorbancia de la Cianmetahemoglobina es medida a 540 nm, siendo la intensidad del color obtenida, directamente proporcional a la concentración de hemoglobina en la muestra. El rango de normalidad de la hemoglobina para el ADVIA-120 es:

- Hemoglobina: 12,0 – 17,0 g/dL

2.5.c. Fórmula leucocitaria automática

Se realizó en el contador automático ADVIA-120 de Bayer, utilizando el método de citometría de flujo de células teñidas con peroxidasa. El rango de normalidad de los distintos parámetros de la fórmula leucocitaria automática para el ADVIA-120 son los siguientes (Tabla 3.3).

Fórmula leucocitaria	Rango de referencia (%)	Rango de referencia (x10E3/μL)
Segmentados	40,0 – 73,0	1,80 – 8,00
Linfocitos	20,0 – 49,0	1,30 – 4,50
Monocitos	3,0 – 11,0	0,20 – 1,00
Eosinófilos	0,0 – 6,5	0,00 – 0,50
Basófilos	0,0 – 2,0	0,00 – 0,20
Células no clasificadas	0,0 – 5,0	0,00 – 0,50

Tabla 3.3. Rangos de referencia normales de la fórmula leucocitaria.

2.5.d. Fórmula leucocitaria óptica

Se realizó mediante el recuento diferencial de 100 leucocitos del frotis teñido según Wright-Giemsa, utilizando el microscopio óptico convencional que cumple con las exigencias del Programa de Garantía Externa de Calidad en Hematología de la SEHH anual.

2.5.e. Creatinina

Se procesó en el aparato HITACHI 917, utilizando el método espectrofotométrico que se basa en la reacción de Jaffé (1886). La creatinina reacciona con el ácido pícrico en medio alcalino formando un complejo de color rojo a una longitud de onda entre 510 - 520 nm. Para la valoración de la función renal se utilizó la fórmula de MDRD-4 para la estimación de la tasa de filtrado glomerular (TFG). Dicha fórmula de TFG-MDRD-4 es la siguiente:

- $TFG = 175 \times (creatinina/88,4)^{-1,154} \times (edad)^{-0,203} \times (0,742 \text{ si mujer}) \times (1,210 \text{ si raza negra})$

Esta estimación de la TFG, no es válida para personas con IMC <19 o >35 o con alteraciones importantes de la masa muscular, en hepatopatías graves, edemas o ascitis, en vegetarianos estrictos o aquellos que tomen suplementos de creatina o creatinina⁶.

El rango de normalidad de la creatinina y TFG para el HITACHI 917 es:

- Creatinina: 0,7 – 1,2 mg/dL
- TFG-MDRD-4 \geq 60 mL/min

2.5.f. Calcio sérico

Se efectuó en el aparato HITACHI 917, utilizando el método de Cresolftaleína complexona colorimétrico. Está basado en la unión específica de la Cresolftaleína complexona, un indicador metalocrómico, y el calcio a un pH alcalino lo que produce un desplazamiento del espectro de absorción del complejo. La intensidad del cromóforo formado es proporcional y nos cuantifica la concentración del calcio total de la muestra. El rango de normalidad del calcio sérico para el HITACHI 917 es:

- Calcio: 8,4 – 10,2 mg/dL

2.5.g. Proteínas totales séricas

Se realizó en el aparato HITACHI 917, utilizando el método del Biuret colorimétrico. Este se basa en que en una solución alcalina de albúmina, los iones de cobre reaccionan con la unión peptídica de las proteínas produciendo un color púrpúreo que se cuantifica espectrofotométricamente a 540 nm. El rango de normalidad de las proteínas totales para el HITACHI 917 es:

- Proteínas totales: 6,4 – 8,3 g/dL

2.5.h. Proteinograma

Se efectuó en el aparato PARAGÓN CZE 2000 de IZASA, utilizando el método de electroforesis capilar. Este se base en el desplazamiento diferencial de sustancias cargadas (iones), neutras o migraciones pasivas, por atracción o repulsión en un campo eléctrico. La separación de las proteínas se efectúa en un capilar de sílice fundido. La muestra se introduce en la entrada del capilar y se le aplica un voltaje alto en los extremos de dicho capilar, por lo que las moléculas de la muestra migran y se separan mediante un flujo electro-osmótico, hacia el cátodo. De tal manera, los cationes van a migran rápidamente hacia la salida del capilar, mientras que los aniones migrarán pero más lentamente. Así, un detector monitorizará el paso de cada proteína midiendo la absorbancia en la región ultravioleta (214 nm) (Bossuyt, 2003). El rango de normalidad de los distintos parámetros del proteinograma para el PARAGÓN CZE 2000 son los siguientes (Tabla 3.4).

Proteínas	Rango de referencia (%)
Albúmina	55,8 – 66,1
Alfa-1-globulinas	2,9 – 4,9
Alfa-2-globulinas	7,1 – 11,8
Beta-globulinas	8,4 – 13,1
Gamma-globulinas	11,1 – 18,8

Tabla 3.4. Rangos de referencia normales del proteinograma.

2.5.i. Proteínas en orina de 24 horas

Se procesó en el aparato HITACHI 917, utilizando la técnica de turbidimetría. Esta se basa en la medición de la luz transmitida a través de una suspensión, tiene la ventaja de permitir la valorización cuantitativa, sin separar las proteínas de la solución, realizando la medición con un espectrofotómetro.

El rango de normalidad de las proteínas en orina de 24 horas para el HITACHI 917 es:

- Proteínas en orina de 24 horas: <0,3 g/24 horas

2.5.j. Proteína de Bence-Jones (BJ)

Se procesó en el aparato PARAGÓN CZE 2000 de IZASA que utiliza el mismo método de electroforesis capilar en zona (CZE) descrito en el apartado para el estudio del proteinograma.

2.5.k. Identificación de la proteína monoclonal en suero u orina

Se realizó en el aparato PARAGÓN CZE 2000 de IZASA, que utiliza el método de inmunofijación electroforética por sustracción (IFE), que consiste en la realización de una electroforesis capilar de la muestra de suero u orina en gel de agarosa para separar las proteínas presentes en la muestra y posteriormente son inmunofijadas con antisueros con diferentes especificidades contra cadenas pesadas y ligeras (anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-CLL-kappa y anti-CLL-lambda). La solución fijadora y los antisueros se dispersan sobre el gel en los carriles de migración electroforéticamente, precipitando los antígenos correspondientes. Las proteínas solubles no precipitadas se eliminan mediante absorción con papel de lavado. La precipitación del complejo Ag-Ac queda atrapada en la matriz del gel y son visualizadas mediante tinción con violeta

ácido. Así se identifica el isotipo de paraproteína monoclonal por la especificidad que tienen los Ac a los que se ha unido (PARAGON CZE 2000. Información química. Electroforesis de proteínas séricas. 2000)⁷.

2.5.I. Dosificación de inmunoglobulinas (IgG, IgA e IgM)

Se procesó en el aparato IMAGE 800 de IZASA, utilizando la nefelometría cinética. Este método mide directamente la intensidad de la radiación dispersada en dirección distinta a la fuente de radiación (con ángulos que oscilan entre 15° y 90°). El rango de normalidad de las distintas Ig para el IMAGE 800 son (Tabla 3.5):

Ig	Rango de referencia (mg/dL)
IgG	751 – 1560
IgM	46 – 304
IgA	82 - 453

Tabla 3.5. Rangos de referencia normales de las Ig.

2.5.m. Cadenas ligeras libres en suero (kappa, lambda)

Para el ensayo inmuno-turbidimétrico para el estudio de las CLL, se utilizó el analizador IMAGE 800 de IZASA con los reactivos específicos de Binding Site[®]. En cada muestra se analizaron las concentraciones de la CLL kappa y lambda y de obtuvo la ratio de CLL κ/λ . Los rangos de normalidad utilizados como referencia de las CLL y de su ratio fueron los definidos por el fabricante procedentes de sueros normales de donantes de sangre sanos, descritos para cada CLL (Tabla 3.6)⁸.

CLL	Rango percentil 95
Kappa	3,3 - 19,4 (mg/L)
Lambda	5,7 - 26,3 (mg/L)
Cociente κ/λ	0,26 - 1,65

Tabla 3.6. Rangos de referencia normales de las CLL y de su ratio⁸.

2.5.n. Hevylite Chain® de todas las Ig

Para el ensayo inmuno-turbidimétrico para el estudio de las HLC, se utilizó el analizador SPA Plus con los reactivos específicos de The Binding Site®. En cada muestra se analizaron las concentraciones de las distintas HLC (es decir, IgG-κ, IgG-λ, IgA-κ, IgA-λ, IgM-κ y IgM-λ).

Los rangos de normalidad utilizados como referencia de las HLC y de sus ratios fueron los definidos por el fabricante procedentes de sueros normales de donantes de sangre sanos, descritos para cada HLC (Tabla 3.7)⁹.

HLC	Media	Mediana	Rango de referencia (g/L)
IgG-κ	7,10	6,75	3,84-12,07
IgG-λ	3,95	3,90	1,91-6,74
Ratio IgG-κ/ IgG-λ	1,84	1,74	1,12-3,21
IgA-κ	1,35	1,37	0,57-2,08
IgA-λ	1,18	1,25	0,44-2,04
Ratio IgA-κ / IgA-λ	1,20	1,18	0,78-1,94
IgM-κ	0,71	0,63	0,19-1,63
IgM-λ	0,39	0,35	0,12-1,01
Ratio IgM-κ / IgM-λ	1,85	1,81	1,18-2,74

Tabla 3.7. Rangos de referencia normales de las HLC y de sus ratios para su utilización de SPA PLUS (The Binding Site®)⁹.

En cada paciente se analizaron cuatro parámetros de las HLC para:

i) Evaluar el grado de expansión tumoral clonal:

- La ratio del par de HLC de la Ig monoclonal de la GMSI, es decir, en una GMSI IgG-κ, se realizó el cociente de los pares de HLC IgG-κ/ IgG-λ. Se definió la ratio de HLC alterada cuando estaba fuera, por encima o por debajo, de su rango normal de referencia.

ii) Evaluar la inmunoparesia:

- La supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado (no monoclonal), es decir, en un paciente con GMSI IgG-κ, sería la supresión de la IgG-λ, es decir, una disminución de la concentración de esta por debajo del límite inferior del rango de referencia para IgG-λ.

- La supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado, por debajo del 25% de su valor de referencia de normalidad, es decir, un mayor grado de supresión de los pares de HLC no monoclonales.
- La supresión del par de HLC de las Ig policlonales. Esta se definió como la disminución de cualquiera de los pares de HLC de las Ig policlonales en la GMSI. Por ejemplo, en un paciente con una GMSI IgG, la supresión sería la de los pares de las HLC de la IgA y/o IgM, es decir, IgA- κ , IgA- λ , IgM- κ e IgM- λ , por debajo de los límites inferiores de sus rangos de referencia. Este concepto es similar al de la inmunoparesia clásica.
- La supresión del par de HLC de las Ig policlonales por debajo del 25% de su valor de referencia de normalidad, es decir, un mayor grado de supresión de los pares de HLC policlonales. Este concepto también es similar al de la inmunoparesia clásica.

El estudio de HLC se realizó en 111 pacientes de los que se disponía de suero del momento del diagnóstico.

2.5.o. Proteína C Reactiva

Se procesó en el aparato IMAGE 800 de IZASA, que utiliza el mismo método de nefelometría cinética descrita en el apartado anterior para dosificación de Ig. El rango de normalidad de la PCR para el IMAGE 800 es:

- PCR: 0 – 0,8 mg/dL

2.5.p. Beta2 microglobulina

Se procesó en el IMMULITE 2000 de Siemens, detectada mediante la técnica de Quimioluminiscencia, basada en el principio de emisión luminosa a través de una reacción (antígeno-anticuerpo). El rango de normalidad de la Beta2 microglobulina para el IMMULITE 2000 es:

- Beta2 microglobulina: 0,6 – 2,16 mg/L

2.5.q. Estudios inmunofenotípicos de las CP en SP mediante Next Generation Flow

Se realizaron los estudios inmunofenotípicos de las muestras de SP extraídas en tubos con EDTA y se procesaron siguiendo el protocolo del EuroFlow “*Bulk Lyse*”. La preparación de las muestras, según este protocolo, se realizó de la siguiente manera. La SP se mezcló con 50 mL de una solución de cloruro de amonio (NH₄Cl) y se incubó

durante quince minutos a temperatura ambiente para lisar los hematíes no nucleados. A continuación, las células nucleadas se lavaron en solución salina tamponada con fosfato que contenía un 0,5% de albúmina de suero bovino y un 0,09% de ácido sódico (NaN₃). Para el marcaje solamente de los CD (*clúster* de diferenciación) de la superficie de membrana (Sm) de las células lavadas se incubaron con los diferentes anticuerpos (Ac) durante 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Posteriormente, se añadieron 2 mL de la solución de lisis FACS -Becton/Dickinson Biosciences (BD), San José, CA- al sedimento celular, se mezclaron y se realizó otra incubación durante 10 minutos a temperatura ambiente. La identificación de los marcadores Cy (citoplasmáticos) se realizó de acuerdo con el procedimiento operativo estándar de EuroFlow para el marcaje simultáneo de los marcadores celulares de Sm y Cy utilizando el kit de reactivos Fix & Perm (An der Grub, Viena, Austria) (para información más detallada sobre el protocolo, consulte www.EuroFlow.org).

Esta técnica permite analizar $\geq 10 \times 10^6$ células de SP que se marcaron con el panel de anticuerpos monoclonales de dos tubos/ocho colores del grupo EuroFlow-IMF para el estudio de la enfermedad mínima residual en MM. En el tubo 1 se utilizaron los siguientes Ac monoclonales: CD138-BV421, CD27-BV510, CD38ME-FITC, CD56-PE, CD45-PerCPCy5.5, CD19-PECy7, CD117-APC y CD81 -APCC750; mientras que en el tubo 2 fueron: CD138-BV421, CD27-BV510, CD38-FITC, CD56-PE, CD45-PerCPCy5.5, CD19-PECy7, Ig-Cy-Kappa-APC y Ig-Cy-Lambda-APCC750 (Tabla 3.8).

Las células marcadas con los Ac monoclonales se analizaron en citómetros de flujo FACSCanto II -Becton Dickinson Biosciences (BD), San Jose, CA- usando el software FASCDiva (BD). Se calculó el porcentaje de CP sobre la celularidad total de la SP y posteriormente se consideró solo el compartimento de CP en SP, calculando el porcentaje de CP clonales con inmunofenotipo patológico y CP fenotípicamente normales.

Panel EuroFlow								
Fluorocromos	BV421	BV510	FITC	PE	PerCPCy5.5	PECy7	APC	APCC750
Tubo 1	CD138	CD27	CD38ME	CD56	CD45	CD19	CD117	CD81
Tubo 2	CD138	CD27	CD38	CD56	CD45	CD19	Ig-Cy-kappa	Ig-Cy-lambda

Tabla 3.8. Anticuerpos monoclonales utilizados para identificar, cuantificar y caracterizar las CP en SP propuesto por el Grupo EuroFlow.

Para el análisis de datos de CMF, se utilizó el software Infinicyt (versión 2.0; Cytognos SL, Salamanca, España). Los niveles de expresión de antígeno se evaluaron específicamente para SP, y se expresaron como valores medios de intensidad de fluorescencia (MFI, unidades arbitrarias escaladas de 0 a 262,144).

El estudio de CP en SP mediante CMF se realizó en 76 pacientes que dieron su consentimiento para participar en esta parte de estudio.

2.5.r. Serie ósea radiológica

Se utilizó la radiografía convencional (Rx) para detectar enfermedad ósea. Se realizó al diagnóstico y durante el seguimiento si hubo sospecha de aparición de una nueva lesión ósea.

Se realizaron una serie de trece radiografías que incluyeron: Rx lateral de cráneo, Rx de tórax, Rx de pelvis, Rx de los huesos largos de brazos y piernas (ambos húmeros y fémures) y Rx lateral y postero-anterior de columna cervical, dorsal y lumbar. Se evaluó la presencia de zonas de pérdida de mineralización (osteopenia/osteoporosis), lesiones líticas, fracturas y aplastamientos vertebrales.

Si con la Rx no se objetivaba ninguna lesión y el paciente presentaba alta sospecha de enfermedad ósea, se emplearon otras técnicas de imagen como la RM de cuerpo completo o el TC de baja dosis.

2.5.s. Estudio de la MO

- Porcentaje de CP en el medulograma

Se utilizó la muestra del grumo medular obtenido en el primer aspirado, extendido y teñido con Wright-Giemsa. Se realizó el recuento de CP obtenido del recuento diferencial de 400 células nucleadas, utilizando el microscopio óptico convencional.

- Estudios inmunofenotípicos de las CP en MO mediante CMF de cuatro colores

Se realizaron los estudios inmunofenotípicos de las muestras de MO extraídas en tubos con EDTA que se procesaron en las primeras 24 horas tras su obtención. La muestra de MO se mezcló con 50 mL de una solución de cloruro de amonio (NH_4Cl) y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente para lisar los hematíes no nucleados. A continuación, las células

nucleadas se lavaron en solución salina tamponada con fosfato que contenía un 0,5% de albúmina de suero bovino y un 0,09% de ácido sódico (NaN_3). Se incubó la muestra con los anticuerpos monoclonales utilizando una técnica de inmunofluorescencia directa de cuatro colores.

Se adquirió un mínimo de cien mil eventos, que se habían marcado con una combinación de Ac monoclonales (FITC / PE / PerCP-Cy5.5 / APC) de tres tubos/cuatro colores, para el estudio de la EMR en MM. En el tubo 1 se utilizaron los siguientes Ac monoclonales: CD38 / CD56 / CD19 / CD45; en el tubo 2: CD138 / CD28 / CD33 / CD38, y en el tubo 3: CD20 / CD117 / CD138 / CD38. Además, una alícuota fue marcada solamente con CD38-APC utilizándose como control negativo para la evaluación de los niveles de autofluorescencia de las CP¹⁰ (Tabla 3.9).

Anticuerpos monoclonales	Fluorocromos			
	FITC	PE	PerCP-Cy5.5	APC
Tubo 1	CD38	CD56	CD19	CD45
Tubo 2	CD138	CD28	CD33	CD38
Tubo 3	CD20	CD117	CD138	CD38

Tabla 3.9. Anticuerpos monoclonales utilizados para identificar, cuantificar y caracterizar las CP en MO.

Las células marcadas con los Ac monoclonales se analizaron en citómetros de flujo FACSCalibur™-Becton Dickinson Biosciences (BD), San Jose, CA- usando el software CellQUEST (BD).

Se identificó el porcentaje de CP sobre la celularidad total de la MO y posteriormente se consideró solo el compartimento de CP en MO. Se calculó el porcentaje de CPc y CPn, basándose en la expresión diferencial de CD38, CD19, CD45, y CD56, y las características de dispersión de luz. Si no se lograba la diferenciación de las CPc, la muestra de MO se volvía a marcar con los siguientes monoclonales: CD28, CD117, CD33 y/o CD20^{11,12}.

Para el análisis de datos de citometría de flujo, se utilizó el software Paint-A-Gate PRO (Becton Dickinson, San José, CA), siguiendo las recomendaciones de la Red Europea de Mieloma (*European Myeloma Network*)¹³.

- Hibridación in situ fluorescente (FISH) con CP purificadas en de MO

Se realizó el estudio de las siguientes alteraciones citogenéticas recurrentes: t(4;14), del(17/17p), t(14;16), +1q, 1p.

- Estudio de la Aneuploidía del ADN, porcentaje de CP en fase S

La ploidía estudiada por CMF se expresó con un índice de ADN. Este se calculó mediante un cociente entre la moda del canal de fluorescencia G0/G1 de la población de CP y el canal G0/G1 de las células normales residuales. (San Miguel *et al.*, 1996) De tal manera que si el índice de ADN era igual a 1, se consideró que las células tumorales eran diploides, mientras que si era diferente de 1, el ADN celular se consideró aneuploide (hiperdiploide si el índice ADN >1 o hipodiploide si en índice de ADN <1)¹⁴.

El estudio de la aneuploidía se pudo realizar solo en 54 casos, por presentar escasa cantidad de CP en algunas GMSI, lo que dificultaba su realización.

2.5.t. Patrón evolutivo “*evolving*” del CM Sérico

Se evaluó mediante la revisión del aumento o estabilidad del CM seriado en los tres primeros años desde el diagnóstico. Se consideraron GMSI “*evolving*” aquellas que presentaron un incremento progresivo del CM, más de 0,5 g/dL en cada determinación, durante los tres primeros años desde el diagnóstico¹⁵.

2.5.u. Fecha de progresión a MM

La progresión se definió como la transformación de GMSI en MM según los criterios establecidos por el IMWG⁵. Fue recogida de la historia clínica de cada paciente.

2.5.v. Fecha de último seguimiento

Se recogió tanto la fecha del último seguimiento, como la situación de cada paciente (vivo o muerto). En caso de éxitus también se recogió la causa de la misma. Todos estos datos fueron obtenidos de la historia clínica de cada paciente.

2.6. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

Para el análisis estadístico se ha empleado la aplicación informática: IBM-SPSS-22 (referencia: IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics v 22.0 for Windows; Armonk. NY. USA).

El manejo estadístico de los datos obtenidos se realizó:

- Para la evaluación de variables cualitativas (nominales) se analizaron la distribución de frecuencias y porcentajes.
- La exploración de datos de las variables cuantitativas se realizaron con gráfico Q-Q de ajuste a la normalidad, histograma, coeficientes de asimetría y curtosis/altura junto al test de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov y descripción con las herramientas habituales de centralidad (media, mediana) y variabilidad (desviación estándar, rango y amplitud intercuartil).
- El cruce de variables cuantitativas se realizó empleando el test Chi-cuadrado. Para evaluar la significación estadística de las diferencias observadas entre los grupos, se utilizaron las pruebas t de Student, U de Mann-Whitney o test H de Kruskal-Wallis según la normalidad, o no, de la variable cuantitativa.
- Para evaluar los rangos de referencia de las CLL se realizó la transformación logarítmica de los valores para lograr una distribución Gaussiana. Se calcularon las distintas concentraciones y rangos limitando dichos valores a los incluidos dentro del Intervalo de Confianza (IC) del 95%. Se realizaron estimaciones de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de algunas variables.
- Los estudios de correlación se realizaron utilizando la regresión logística binaria para el análisis multivariante y la regresión de Cox.
- El método de Kaplan-Meier y el test de Log rang (bilateral) se usaron para trazar y comparar el tiempo hasta la progresión (TTP) y las curvas de supervivencia global (SG).

La progresión se definió, según los criterios establecidos por el IMWG, como la transformación de GMSI en MM.

El tiempo hasta la progresión (TTP) se definió como el tiempo transcurrido desde el diagnóstico de la GMSI hasta la progresión de la enfermedad a MM, con muertes por causas diferentes a progresión de la enfermedad “censuradas”.

La supervivencia global (SG) se definió como el periodo que transcurre desde el diagnóstico de la GMSI e inclusión del paciente en estudio hasta el último control realizado o el fallecimiento del paciente por cualquier causa.

La significación estadística se estableció cuando el valor de la p era $<0,05$, excepto en el test KS de bondad de ajuste donde se consideran significativos sólo los desvíos graves, es decir al 1% ($p <0,01$).

Anexo 1

Hoja de información al paciente y consentimiento informado aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del área de Segovia.

“ESTUDIO DEL VALOR PRONÓSTICO DE LAS CÉLULAS PLASMÁTICAS EN SANGRE PERIFÉRICA DETECTADAS MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO DE 8 COLORES EN PACIENTES CON GAMMAPATÍAS MONOCLONALES DE SIGNIFICADO INCIERTO EN LA PROVINCIA DE SEGOVIA”

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

La Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto (GMSI) es una enfermedad caracterizada por la proliferación de células plasmáticas de una única línea celular que producen una proteína homogénea (Pico M). Son cuadros en los que el paciente no presenta síntoma alguno, que habitualmente son diagnosticados de forma accidental al realizar una analítica por otra causa, estimándose que la padece entre un 3 y 4% de la población mayor de 50 años. Es una enfermedad no maligna, pero que puede transformarse en maligna, por lo que se recomienda que estos pacientes sean vigilados en una consulta médica durante toda su vida con una frecuencia variable según una serie de características analíticas.

Por ello, tiene importancia identificar un subgrupo de pacientes con GMSI en los que podamos predecir de una manera más precisa el riesgo de progresión a entidades malignas como el Mieloma Múltiple (MM).

Existen factores de riesgo que parecen ser eficaces a la hora de predecir este riesgo, pero es preciso identificar nuevos factores que nos ayuden a desarrollar intervenciones, de manera más precoz, dirigidas a estos pacientes con GMSI con alto riesgo de progresión.

Un reto importante en el conocimiento del origen y la evolución de la GMSI ha sido la identificación de la célula de origen de dicha patología. Las células plasmáticas patológicas pueden detectarse en la sangre periférica, en una analítica de sangre normal, en pacientes que ya han desarrollado el Mieloma, mediante técnicas diagnósticas muy avanzadas, como es la Citometría de Flujo.

Se ha demostrado que el número de células plasmáticas circulantes es una medida de la actividad de la enfermedad y un importante factor pronóstico para la supervivencia de pacientes con MM.

Desde el Servicio de Hematología del Complejo Asistencial de Segovia, queremos poner en su conocimiento y pedir su colaboración en un estudio que vamos a realizar en nuestro Hospital, en pacientes diagnosticados de Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto en la provincia de Segovia. Este estudio será realizado por los Servicio de Hematología y Análisis Clínicos del Complejo Asistencial de Segovia y del Complejo Asistencial de Salamanca.

El objetivo que nos proponemos estudiar es la posible asociación entre la presencia de células plasmáticas circulantes detectadas mediante Citometría de Flujo y otros factores pronósticos ya conocidos, predictores de evolución a malignidad, en

pacientes diagnosticados de GMSI. Los datos se analizarán nuevamente tras 10 años de seguimiento, para evaluar el valor pronóstico de la presencia de dichas células plasmáticas circulantes con respecto al riesgo de progresión de la enfermedad a MM.

Debe saber que la participación en el estudio es totalmente voluntaria. La no participación en él, no ocasionará perjuicio alguno en el seguimiento del paciente.

Las muestras que son necesarias analizar son únicamente de sangre periférica, es decir, una analítica normal. Para ello, le solicitamos su permiso para la extracción de una muestra de sangre, para realizar la analítica que habitualmente se le pide en la Consulta de Hematología para el seguimiento de su GMSI y sin precisar más muestra, también podremos realizar, con su consentimiento, el estudio de las células plasmáticas en sangre periférica por Citometría de Flujo y otros parámetros nuevos. De esta manera y gracias a su colaboración, podremos cumplir el objetivo de nuestro proyecto de investigación.

Debe saber que sus datos y los de los demás pacientes participantes, tanto de análisis como de historia clínica o radiología, serán utilizados para sacar conclusiones del estudio y publicar los resultados, en los que de ninguna forma constará su identidad. Las bases de datos elaboradas lo serán de forma codificada, por lo que en lugar de su identidad o de cualquier dato que pudiera identificarle solo constará un código que se le asignará al entrar en el estudio. La lista de códigos que relaciona sus datos con su identidad será única y permanecerá bajo la custodia de la Investigadora Principal, la Dra. Aránzazu García Mateo, del Servicio de Hematología del Complejo Asistencial de Segovia. Parte de las muestras, de suero obtenido de su sangre y del ARN y ADN extraído de sus células, quedarán almacenadas en el Complejo Asistencial de Segovia y del Complejo Asistencial de Salamanca, por un periodo máximo de 20 años, por si en los próximos años se identificara algún nuevo factor de importancia para la enfermedad que estamos estudiando. Solo se podrán utilizar estas muestras en estudios relacionados con la enfermedad para la que Vd. da su consentimiento (GMSI). Las muestras almacenadas también lo serán de forma codificada.

Vd. tiene derecho a solicitar en cualquier momento y sin necesidad de especificar el motivo, la eliminación total de la información obtenida y de las muestras donadas, que en ese momento estén almacenadas en el Banco de muestras.

Para todo lo no previsto en este documento, se aplicará la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre), la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica y cualquier otra que resultara aplicable.

Para cualquier duda, puede dirigirse a la Dra. García Mateo, en el número de teléfono 921 419100 (extensión: 59074 o 58590).

“ESTUDIO DEL VALOR PRONÓSTICO DE LAS CÉLULAS PLASMÁTICAS EN SANGRE PERIFÉRICA DETECTADAS MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO DE 8 COLORES EN PACIENTES CON GAMMAPATÍAS MONOCLONALES DE SIGNIFICADO INCIERTO EN LA PROVINCIA DE SEGOVIA”

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo (Nombre y Apellidos) _____

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He leído la hoja de información que se me ha entregado

He hablado con el Dr.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1º Cuando quiera
- 2º Sin tener que dar explicaciones
- 3º Sin que ello repercuta en mis cuidados médicos

Acepto voluntariamente participar en el Proyecto y autorizo el uso de toda la información obtenida. Entiendo que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

Firma del paciente

Fecha

Nombre y firma del médico que informa

Fecha

Anexo 2

Documento del Comité Ético de Investigación Clínica del área de Segovia.

**COMPLEJO ASISTENCIAL
HOSPITAL GENERAL**
C/ Luis Erik Clavería Neurólogo, s/n
40002 SEGOVIA
Fax 921 44 05 32
Tel. 921 41 91 00



Comité Ético De Investigación Clínica
del Área de Segovia (CEIC)

D^a. M^a BELEN CANTÓN ÁLVAREZ, COMO PRESIDENTA DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL AREA DE SEGOVIA.

CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el 25 de febrero de 2016 (Acta 2/2016), y a propuesta del Investigador del estudio Dra. Aránzazu García Mateo, sobre el estudio titulado:

“Estudio del valor pronóstico de las células plasmáticas en sangre periférica detectadas mediante Citometría de Flujo de ocho colores en pacientes con Gammapatía Monoclonal de Significado incierto en la provincia de Segovia”.

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

Dra. D^a M^a Belén Cantón Álvarez- Subdirectora Médico – Presidenta del CEIC.
Dra. D^a M^a Teresa Criado Illana.- (Farmacia).
Dra. D^a M^a Luisa Alonso Fito – (Residente de Farmacia)
Dra. D^a Nélida Vicente tierno (Oftalmología)
Dr. D. Israel Moya Villalvilla – (Urología)
Dr. D. Martín Vargas Aragón- (Psiquiatría)
Dr. D. Ángel Luis Fuentes de Frutos.- (Anestesiología y Reanimación).
D. Jesús M^a Esteban Tinaquero.- (Licenciado en Derecho).
Dra. D^a Elena Moreno Sánchez – (Farmacia Atención Primaria).
D^a. Estrella Arranz de Dios.- (Subdirectora de Gestión).

Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.

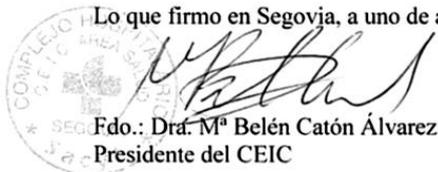
Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del Estudio en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.

El procedimiento para obtener el consentimiento informado y el plan de reclutamiento de sujetos previstos son adecuados y tiene el V^o B^o de CEIC.

La capacidad del investigador y sus colaboradores y las instalaciones y medios disponibles son apropiados para llevar a cabo este Estudio.

Por tanto, este Comité Ético de Investigación Clínica, ante el Estudio presentado y habiendo tenido en cuenta el cumplimiento de la legislación vigente, acepta que dicho Estudio sea realizado en el Hospital, por el investigador que lo propone.

Lo que firmo en Segovia, a uno de abril de dos mil dieciséis.


Fdo.: Dra. M^a Belén Catón Álvarez
Presidenta del CEIC

**Junta de
Castilla y León**
Consejería de Sanidad

REFERENCIAS

1. Group, I. M. W. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 121, 749–57 (2003).
2. Rajkumar, S. V. *et al.* Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 106, 812–7 (2005).
3. Pérez-Persona, E. *et al.* New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* 110, 2586–92 (2007).
4. Pérez-Persona, E. *et al.* Risk of progression in smoldering myeloma and monoclonal gammopathies of unknown significance: comparative analysis of the evolution of monoclonal component and multiparameter flow cytometry of bone marrow plasma cells. *Br. J. Haematol.* 148, 110–114 (2010).
5. Kyle, R. A. & Rajkumar, S. V. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Curr Hematol Malig Rep* 5, 62–9 (2010).
6. Salvador-González, B. *et al.* Estimation of glomerular filtration rate by MDRD-4 IDMS and CKD-EPI in individuals of 60 years of age or older in primary care. *Nefrologia* 33, 552–63 (2013).
7. Bossuyt, X. Separation of serum proteins by automated capillary zone electrophoresis. *Clin Chem Lab Med* 41, 762–72 (2003).
8. Katzmann, J. A. *et al.* Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 48, 1437–44 (2002).
9. Katzmann, J. A. *et al.* Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS. *Leukemia* 27, 208–12 (2013).
10. San Miguel, J. F. *et al.* Immunophenotypic evaluation of the plasma cell compartment in multiple myeloma: a tool for comparing the efficacy of different treatment strategies and predicting outcome. *Blood* 99, 1853–6 (2002).
11. Paiva, B. *et al.* Multiparameter flow cytometry quantification of bone marrow plasma cells at diagnosis provides more prognostic information than morphological assessment in myeloma patients. *Haematologica* 94, 1599–602 (2009).
12. Mateo, G. *et al.* Prognostic value of immunophenotyping in multiple myeloma: a study by the PETHEMA/GEM cooperative study groups on patients uniformly treated with high-dose therapy. *J Clin Oncol* 26, 2737–44 (2008).
13. Rawstron, A. C. *et al.* Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica* 93, 431–8 (2008).
14. Orfao, A. *et al.* Flow cytometry: its applications in hematology. *Haematologica* 80, 69–81 (1995).
15. Rosiñol, L. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance: predictors of malignant transformation and recognition of an evolving type characterized by a progressive increase in M protein size. *Mayo Clin Proc* 82, 428–34 (2007).

IV. RESULTADOS

1. ESTUDIO DE UNA COHORTE POBLACIONAL

Se realizó un estudio de cribado poblacional de GM a 7.597 personas voluntarias de un total de 19.672 mayores de 50 años, censadas oficialmente en Segovia capital, es decir, un 38,61% de la población diana del estudio. La figura 4.1 muestra el ritmo de participación acumulada real en comparación con la curva ideal de participación para el cribado de toda la población.

El estudio se realizó durante el periodo comprendido entre el 1 de octubre de 2008 y el 31 de octubre de 2011 (tres años). La cohorte incluyó 5.814 personas provenientes de los Centros de Salud por el Médico de Atención Primaria o por su ofrecimiento tras haber recibido la carta informativa y representaban el 76,53% de la cohorte poblacional. Se incluyeron 1.783 personas adicionales, que representaban el 23,46% de la cohorte poblacional, en las que se solicitó un CM en el proteinograma para el estudio de otras patologías por médicos de Atención Primaria.

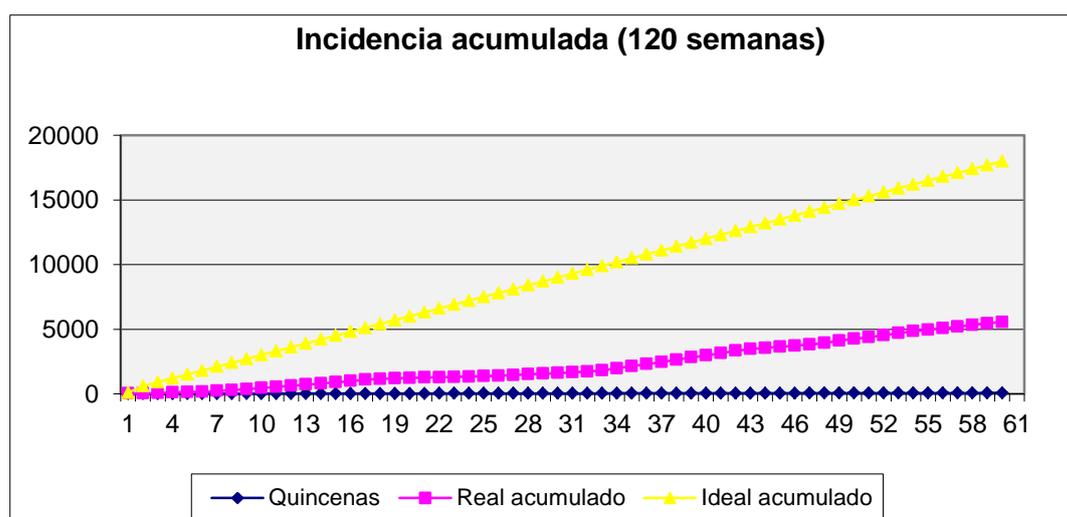


Figura 4.1. Incidencia acumulada de cribado. Muestra el ritmo de participación acumulada, comparada con la curva ideal de participación.

La mediana de edad de la muestra estudiada fue de 64 años (rango: 50-102), con una distribución por sexos de un 42,8% (n=3.495) de hombres frente a un 57,1% (n=4.102) de mujeres.

La muestra fue representativa de toda la ciudad y las muestras estudiadas de los distintos Centros de Salud de Segovia fue similar y equilibrada (Tabla 4.1 y 4.2).

Se detectaron un total de 181 pacientes con CM. Estos pacientes fueron estudiados en la consulta de Hematología, estableciendo el diagnóstico de: MM en 9 pacientes, MMS

en 7, MW en 9 personas, 3 Síndromes Linfoproliferativos con gammapatía asociada, 4 Gammapatías asociadas a neoplasias, 1 Gammapatía asociada a VHC. Los 118 restantes fueron inicialmente diagnosticados de GMSI, de los cuales 15 fueron finalmente diagnosticados de GM transitorias puesto que el CM desapareció durante el seguimiento, confirmándose mediante estudios de EEF e IFE. La serie total incluyó, por tanto, 103 pacientes.

Variables	Población >50 años susceptible de cribado de estudio de GM	Muestra estudiada
N, (%)	19.672	7.597 (39,19)
Edad (años), mediana (rango)	65 (50-104)	64 (50-102)
Sexo		
– Masculino, n (%)	8493 (43,81)	3080 (42,88)
– Femenino, n (%)	10889 (56,18)	4102 (57,11)

Tabla 4.1. Características de la población y de la muestra estudiada en Segovia capital.

Centros de Salud	Variables	Población >50 años susceptible de cribado de estudio de GM	Muestra estudiada
Segovia-1	N, (%)	8794	3258 (37,04)
	Edad (años), mediana (rango)	66 (50-104)	64 (50-94)
	Sexo		
	– Masculino, n (%)	3793 (43,13)	1378 (42,29)
	– Femenino, n (%)	5001 (56,86)	1880 (57,70)
Segovia-2	N, (%)	5902	2158 (36,56)
	Edad (años), mediana (rango)	63 (50-102)	63 (50-102)
	Sexo		
	– Masculino, n (%)	2686 (45,50)	947 (43,88)
	– Femenino, n (%)	3216 (54,49)	1209 (56,11)
Segovia-3	N, (%)	4976	1762 (35,40)
	Edad (años), mediana (rango)	65 (50-100)	65 (50--97)
	Sexo		
	– Masculino, n (%)	2149 (43,18)	753 (42,73)
	– Femenino, n (%)	2827 (56,81)	1009 (57,26)

Tabla 4.2. Características de la población y de la muestra estudiada en Segovia capital, por Centros de Salud.

1.1. INCIDENCIA Y PREVALENCIA DE GMSI EN SEGOVIA CAPITAL

Ciento tres individuos cumplieron los criterios diagnósticos y, por tanto, fueron diagnosticados de GMSI en el periodo del estudio, lo que representa una incidencia de 1,55%.

Características basales	n=103
Sexo (masculino/femenino), n (%)	60/43 (58,3/41,7)
Edad (años), mediana (rango)	68 (51-93)
Hemoglobina (g/dL), mediana (rango)	14,4 (11,5-18,5)
LDH alta, n (%)	4 (4)
Calcio (mg/dL), mediana (rango)	9,4 (7,6-10,3)
Creatinina (mg/dL), mediana (rango)	1 (1-2)
Albúmina (g/dL), mediana (rango)	4,41 (3,6-5,1)
Tipo CM (IgG/IgA/IgM/biclonal/BJ), n (%)	71/20/10/1/1 (69/19/10/1/1)
CM sérico (g/dL), mediana (rango)	0,39 (0,1-2,55)
Beta2 microglobulina (mg/L), mediana (rango)	1,9 (1,19-5,48)
CP en MO en el medulograma, % (rango)	2,65 (0,3-7,4)
CPc en MO por CMF, % (rango)	34 (0-100)
Cadena pesada no-IgG, n (%)	32 (31,1)
CM \geq 1,5 g/dL, n (%)	5 (4,9)
Ratio alterada de CLL involucrada / no involucrada, n (%)	24 (25,3)
CPc >95% en MO por CMF, n (%)	7 (8,5)
Aneuploidía del ADN, n (%)	11 (20,4)
Inmunoparesia, n (%)	9 (8,8)
Patrón “evolving” del CM, n (%)	6 (5,8)
Progresión, n (%)	5 (4,9)

Tabla 4.3. Características basales de los pacientes diagnosticados de GMSI.

En octubre de 2011, la prevalencia de GMSI en la población segoviana mayor de 50 años estudiada fue del 2,42%. Las características basales de los pacientes y de la enfermedad aparecen representadas en la Tabla 4.3.

La mediana de edad en el momento del diagnóstico de la GMSI fue de 68 años y la prevalencia fue aumentando con la edad, hasta duplicarse (6,57%) en la población mayor de 80 años (Figura 4.2).

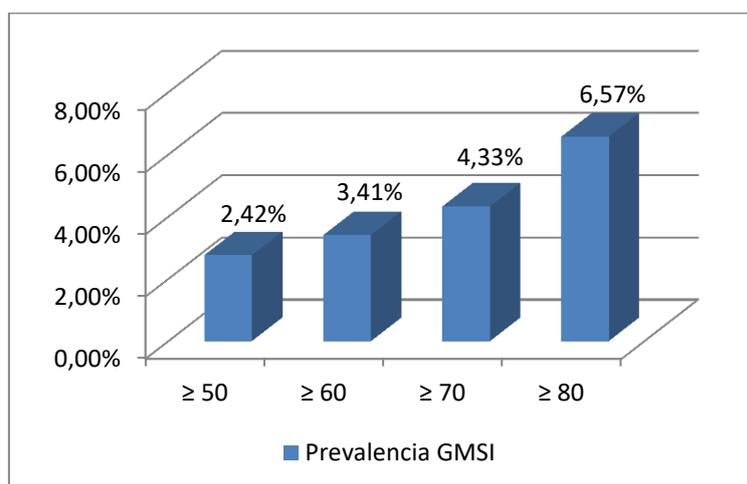


Figura 4.2. Prevalencia acumulada de GMSI por grupos de edad.

Teniendo en cuenta que la muestra seleccionada para el cribado era de edad superior a 50 años, la distribución por grupos de edad mostró que el 77,7% de los participantes tenían más de 60 años, el 46,6% más de 70 años y el 19,4% más de 80 años (Figura 4.3).

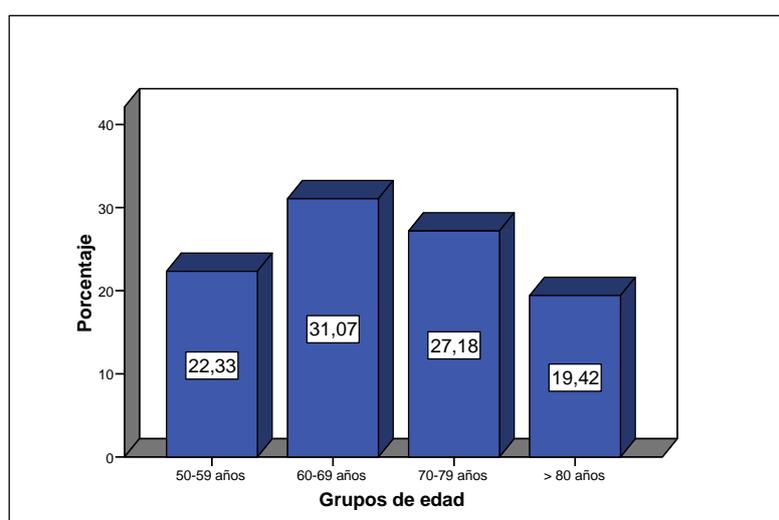


Figura 4.3. Distribución por edad de la muestra poblacional.

La GMSI fue más prevalente en hombres que en mujeres, en todas las franjas de edad, salvo la comprendida entre los 60-69 años en que la prevalencia fue similar en ambos sexos (Figura 4.4).

La mediana de seguimiento de los pacientes del estudio poblacional fue de 78 meses (rango: 1-102). Se observaron un 4,8% de progresiones (5 de 103 pacientes).

Edad (años)	Sexo			Tasa de prevalencia (%)
	Femenino n (%)	Masculino n (%)	Total n (%)	
50-59	8 (34,8)	15 (65,2)	23 (22,3)	2,42
60-69	16 (50)	16 (50)	32 (31,1)	3,41
70-79	10 (35,7)	18 (64,3)	28 (27,2)	4,33
>80 años	9 (45)	11 (55)	20 (19,4)	6,57
Total	43 (41,7)	60 (58,3)	103 (100)	2,42

Figura 4.4. Distribución de GMSI por sexos y edad de la muestra poblacional.

2. ESTUDIO DE LOS RANGOS E INTERVALOS DE REFERENCIA DE LAS CLL EN UNA POBLACIÓN LOCAL ESPAÑOLA

Se seleccionaron 594 muestras de suero de individuos sanos para el estudio de los rangos de referencia de CLL en nuestra población, en los que se había descartado la presencia de CM mediante EEF e IFE en suero.

Los rangos e intervalos de referencia de las CLL obtenidos fueron similares a los publicados en otros países y a los recomendados por el fabricante, The Binding Site (Tabla 4.4).

Rangos de normalidad de CLL	Nuestro estudio (Rango percentil 95)
CLL κ (mg/L)	3,97 - 22,19
CLL λ (mg/L)	6,89 - 34,12
Cociente CLL κ / λ	0,28 - 1,31

Tabla 4.4. Rangos de normalidad de las CLL obtenidos en nuestro estudio.

Se determinaron las concentraciones y los intervalos de referencia para cada CLL y se describieron para las distintas poblaciones en función del sexo, la edad (punto de corte

70 años) y función renal, evaluada mediante la tasa de filtrado glomerular (TFG) usando la fórmula FG-MDRD-4 (punto de corte TFG \leq o >60 mL/min) (Tabla 4.5).

No se observaron diferencias significativas entre los valores de las CLL según el sexo. Sin embargo, las concentraciones de la CLL- κ , la CLL- λ y su ratio fueron significativamente más altas en los pacientes mayores de 70 años. Asimismo, las concentraciones de CLL- κ , la CLL- λ fueron también más altas en los pacientes con deterioro de la función renal (FG ≤ 60 mL/min), aunque la ratio no fue diferente según la TFG, significativamente.

	Sexo	n	Mediana (rango)	p	Edad	n	Mediana (rango)	p	TFG	n	Mediana (rango)	p
CLL- κ (mg/L)	Hombre	232	9,11 (4,01-22,87)	N.S.	<70	369	8,43 (3,78-19,49)	$<0,001$	≤ 60	269	9,79 (4,26-23,8)	$<0,01$
	Mujer	360	9,1 (3,89-21,75)		≥ 70	223	10 (4,66-25,02)		>60	300	8,6 (3,93-20,28)	
CLL- λ (mg/L)	Hombre	233	14,28 (6,95-33,11)	N.S.	<70	370	14,05 (6,28-31,18)	$<0,001$	≤ 60	269	15,31 (7,38-33,78)	$<0,05$
	Mujer	361	15 (6,95-34,46)		≥ 70	224	16 (7,38-38,09)		>60	301	14 (6,61-34,12)	
Ratio κ/λ	Hombre	230	0,65 (0,28-1,40)	N.S.	<70	367	0,53 (0,28-1,23)	$<0,001$	≤ 60	268	0,62 (0,24-3,04)	N.S.
	Mujer	359	0,59 (0,29-1,23)		≥ 70	222	0,66 (0,29-1,41)		>60	298	0,6 (0,27-1,29)	

N.S.=No significativo al 5% ($p > 0,05$).

Tabla 4.5. Concentraciones e intervalos de referencia de las CLL según el sexo, grupos de edad y TFG.

3. ESTUDIO DE UNA COHORTE DE GMSI DIAGNOSTICADA EN LA CONSULTA DE HEMATOLOGÍA

Se añadieron a la cohorte poblacional de 103 pacientes, 72 casos más diagnosticados de GMSI en la consulta de Hematología.

Características basales	Cohorte del screening poblacional N=103	Cohorte de la consulta de Hematología N=72	Cohorte total N=175	p
Sexo (masculino/femenino), n (%)	59/44 (57,28/42,72)	43/29 (59,7/40,3)	102/73 (58,28/41,71)	N.S.
Edad (años), mediana (rango)	68 (51-93)	69 (42-88)	69 (42-93)	N.S.
Hemoglobina (g/dL), mediana (rango)	14,4 (11,5-18,5)	13,7 (11,5-17,9)	14,3 (11,5-18,5)	N.S.
LDH alta, n (%)	4 (4)	9 (14,5)	14 (8,6)	p=0,035
Calcio (mg/dL), mediana (rango)	9,4 (7,6-10,3)	9,4 (8,10-13,10)	9,4 (7,60/13,10)	N.S.
Creatinina (mg/dL), mediana (rango)	1 (1-2)	0,9 (0,5-7,2)	1 (0,50/7,20)	p=0,001
Albúmina (g/dL), mediana (rango)	4,41 (3,6-5,1)	4,1 (3,2-4,8)	4,3 (3,2/5,1)	N.S.
Tipo de CM (IgG/IgA/IgM/biclonal/BJ), n (%)	71/20/10/1/1 (69/19/10/1/1)	47/15/7/1/0 (67/22/10/1/0)	119/35/17/1/1 (68/20/10/1/1)	N.S.
CM sérico (g/dL), mediana (rango)	0,39 (0,1-2,55)	0,44 (0,1-2,50)	0,4 (0,1-2,55)	N.S.
Beta2 microglobulina (mg/L), mediana (rango)	1,9 (1,19-5,48)	1,92 (1,01-9,45)	1,93 (1,01-9,45)	N.S.
CP en MO en el medulograma, % (rango)	2,65 (0,3-7,4)	3,37 (0,5-9,67)	2,80 (0-9,67)	p=0,015
CPc en MO por CMF, % (rango)	34 (0-100)	64,5 (0-100)	45,70 (0-100)	p=0,013
Cadena pesada no-IgG, n (%)	32 (31,1)	23 (32,9)	55 (31,8)	N.S.
CM ≥1,5 g/dL, n (%)	5 (4,9)	4 (6,3)	9 (5,5)	N.S.
Ratio alterada de CLL involucrada / no involucrada, n (%)	24 (25,3)	16 (36,4)	36 (28,1)	p=0,017
CPc >95% en MO por CMF, n (%)	7 (8,5)	8 (13,3)	15 (10,6)	N.S.
Aneuploidía del ADN, n (%)	11 (20,4)	0 (0)	11 (20,4)	-
Inmunoparesia, n (%)	9 (8,8)	12 (21,1)	21 (13,2)	p=0,019
Patrón "evolving" del CM, n (%)	6 (5,8)	4 (8,9)	10 (5,7)	N.S.
Progresión, n (%)	5 (4,9)	5 (7,7)	10 (5,7)	N.S.

N.S.= No significativo al 5% (p >0,05)

Tabla 4.6 Comparación de las características basales de los pacientes con GMSI de la cohorte del screening poblacional y la cohorte ampliada.

Las características clínicas y biológicas de la cohorte ampliada de 72 pacientes de GMSI, están resumidas en la tabla 4.6, junto a las características de la cohorte de GMSI detectada en el screening poblacional.

Las características principales de los pacientes fueron similares para ambos grupos. Los pacientes de la cohorte extraída de la consulta de Hematología presentaron: i) una cifra de Hemoglobina más baja (13,7 g/dL vs 14,4 g/dL, $p=0,012$); ii) mayor proporción de pacientes con LDH alta (9 (14,5%) vs 4 (4%), $p=0,035$); iii) una cifra de creatinina mayor (0,9 mg/dL (0,5-7,2) vs 1 mg/dL (1-2), $p=0,001$); iv) mayor cantidad de CP en MO en el medulograma (3,37% vs 2,65%, $p=0,015$); v) mayor porcentaje de CPc por CMF en MO (64,5% vs 34%, $p=0,013$); vi) mayor cantidad de pacientes con ratio de CLL alterada (16 (36,4%) vs 24 (25,3%), $p=0,017$); y vii) mayor proporción de pacientes con inmunoparesia (12 (21,1%) vs 9 (8,8%), $p=0,019$), respecto a los pacientes de la cohorte extraída del screening poblacional de GMSI. Aquellos casos que presentaron valores fuera de la normalidad, respecto al calcio, creatinina, Beta2 microglobulina, fueron revisados y se confirmó que dichas alteraciones eran explicadas por comorbilidades o causas distintas a la GMSI.

En la cohorte total de 175 pacientes, la mediana de edad de los pacientes del estudio fue de 69 años al diagnóstico. La distribución por sexos fue 102 (58,3%) varones frente a 73 (41,7%) mujeres. El tipo de cadena pesada afecta más frecuente fue IgG, en 119 (68%) casos, seguido de 35 (20%) casos con IgA y 17 (10%) con IgM; solo un (1%) caso fue una GMSI Bence Jones pura. El valor de la mediana del CM sérico fue de 0,4 g/dL (rango: 0,1-2,55 g/dL). La mediana de infiltración de CP en MO en el medulograma fue de 2,80% (rango: 0-9,67%), con un porcentaje del 45,70% (rango: 0-100%) de CPc en MO por CMF. Además, 15 (10,6%) casos presentaron un porcentaje de CPc en MO mayor de 95%. Treinta y seis (28,1%) pacientes mostraron una ratio de las CLL en suero alterada. La inmunoparesia, de una o dos de las Ig policlonales, estaba presente en 21 (13,2%) casos. El patrón “*evolving*” del CM se observó en 10 (5,7%) casos.

La mediana de seguimiento de la serie total fue de 64 meses (rango: 1-100 meses).

4. EVALUACIÓN DEL RIESGO DE PROGRESIÓN DE GMSI A MM

4.1. MODELO PRONÓSTICO DE LA CLÍNICA MAYO

El modelo de riesgo descrito por la Clínica Mayo fue aplicado a nuestra serie de pacientes diagnosticados de GMSI que, como se ha mencionado en “Material y Métodos”, incluye el tipo y cuantificación del CM, así como la presencia de una ratio

normal o alterada de las CLL en suero. La mitad de los pacientes, 70 (50%), fueron clasificados en el grupo de riesgo bajo, mientras que 51 (36,4%) y 19 (13,6%) eran de riesgo intermedio-bajo e intermedio-alto, respectivamente, según el modelo de la Clínica Mayo. Ninguno de los pacientes presentó riesgo alto (Tabla 4.7).

4.2. MODELO PRONÓSTICO DEL GRUPO DE SALAMANCA/GEM-PETHEMA

Adicionalmente, se aplicó también el modelo del grupo de Salamanca, que incluye la evaluación de la aneuploidía del ADN así como el porcentaje de CPc por CMF dentro del compartimento de CP en la MO. Se observó que la mayoría de los pacientes, 40 (74,1%) de los 54 casos en los que se pudo estudiar la aneuploidía del ADN, fueron clasificados en el grupo de riesgo bajo y solo 14 pacientes (25,9%) presentaron riesgo intermedio. Tampoco hubo ningún caso de riesgo alto (Tabla 4.7).

Según otro modelo del mismo grupo de Salamanca basado en la presencia de un patrón “*evolving*” del CM junto con el porcentaje de CPc por CMF en MO, se clasificó a la mayoría de los pacientes, 82 (59,4%) en el grupo de riesgo bajo, 52 casos (37,7%) en el de riesgo intermedio y 4 (2,9%) en el de riesgo alto (Tabla 4.7).

Modelos pronósticos	Grupo de riesgo	Cohorte screening poblacional N=103			Cohorte consulta N=72			Cohorte total N=175		
		N	N de casos	Incidencia %	N	N de casos	Incidencia %	N	N de casos	Incidencia %
Clínica Mayo	Bajo	95	50	52,6	44	19	43,2	140	70	50,0
	Intermedio bajo		31	32,6		20	45,5		51	36,4
	Intermedio alto		14	14,7		5	11,4		19	13,6
	Alto		0	0		0	0		0	0
Grupo de Salamanca I (aneuploidía)	Bajo	54	40	74,1	0	-	-	54	40	74,1
	Intermedio		14	25,9		-	-		14	25,9
	Alto		0	0		-	-		0	0
Grupo de Salamanca II (<i>evolving</i>)	Bajo	82	72	87,8	56	46	82,1	138	82	59,4
	Intermedio		8	9,8		8	14,3		52	37,7
	Alto		2	2,4		2	3,6		4	2,9

Tabla 4.7. Distribución de las GMSI según los modelos de riesgo de las GMSI.

4.2.a. Concordancia de los modelos pronósticos

Se observó concordancia en los pacientes de riesgo bajo en 27 (51%) y 53 casos (45,3%) según el modelo de la Clínica Mayo y los del grupo de Salamanca I (aneuploidía) y II (*evolving*), respectivamente. Mientras que en el grupo de riesgo intermedio, solo mostraron concordancia 10 (19%) y 9 (7,7%) pacientes, según el modelo de la Clínica Mayo y Salamanca I y II, respectivamente. Por otro lado, se observó discordancia en 13 pacientes (24,5%) de riesgo intermedio según el modelo de la Clínica Mayo que fueron clasificados en el grupo de bajo riesgo según el modelo del grupo de Salamanca I, que incluía la aneuploidía. De igual modo, 48 (41%) pacientes de riesgo intermedio según el modelo de la Clínica Mayo eran considerados de bajo riesgo según el modelo del grupo de Salamanca II, que incluía el patrón “*evolving*” del CM (Tabla 4.8).

Modelos pronósticos		Grupo de Salamanca I (aneuploidía)				Grupo de Salamanca II (<i>evolving</i>)			
		Riesgo bajo	Riesgo intermedio	Riesgo alto	Total n (%)	Riesgo bajo	Riesgo intermedio	Riesgo alto	Total n (%)
Clínica Mayo	Riesgo bajo	27 (50,9)	3 (5,7)	0 (0)	53 (45,3)	53 (45,3)	4 (3,4)	0 (0)	57 (48,7)
	Riesgo intermedio	13 (24,5)	10 (18,9)	0 (0)	48 (41)	48 (41)	9 (7,7)	3 (2,6)	60 (51,3)
	Riesgo alto	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total, n (%)		40 (75,5)	13 (24,5)	0 (0)	53 (100)	101 (86,3)	13 (11,1)	3 (2,6)	117 (100)
p		0,005				0,025			

Tabla 4.8. Concordancia de los modelos pronósticos.

4.3. ESTUDIO DE LAS CÉLULAS PLASMÁTICAS CIRCULANTES EN SP

4.3.a. Descripción de las CP normales y clonales en SP

Setenta y seis pacientes de la cohorte total de 175 casos de GMSI aceptaron ser incluidos en el estudio de las CP en SP mediante NGF.

Se detectaron CP normales (CPn) circulantes en SP en todos los pacientes con GMSI (mediana: 0,00986 CPn/ μ L, rango: 0,00117-0,2125) y en 35 de 76 (46,1%), se detectaron CPc circulantes en SP (mediana de 0,002965 CPc/ μ L, rango: 0-0,3817) (Tabla 4.9).

Variables	Pacientes (n=76)
CPc por CMF en sangre periférica, n (%)	35 (46,1)
Nº absoluto de CPn/ μ L en SP, mediana (rango)	0,00986 (0,00117 - 0,2125)
Nº absoluto de CPc/ μ L en SP, mediana (rango)	0,002965 (0 - 0,3817)
% de CPc del total de leucocitos en SP, mediana (rango)	0,00029 (0,0005 - 0,158)
% de CPc de todas las CP en SP, mediana (rango)	3,01 (0,0277 - 94,2)
% de CPc/ μ L en SP, mediana (rango)	0,0184 (0,00239 - 9,788)

Tabla 4.9. CP clonales circulantes en SP.

4.3.b. Estudio de la presencia de CPc circulantes en SP

El análisis de la presencia de CPc circulantes en SP de los pacientes incluidos en el estudio como una variable cualitativa nos permitió identificar una asociación entre presencia de CPc circulantes en SP y i) CM más elevado (CM: 0,54 g/dL vs 0,36 mg/dL, respectivamente, $p=0,005$); ii) mayor porcentaje de CPc por CMF en MO en el compartimento de CP (CPc en MO: 57,86% vs 28,62%, $p=0,001$; OR: 1,02 con un IC 95% (1,01-1,04), $p < 0,01$); iii) patrón “evolving” del CM (100%, $p=0,049$) y iv) cadena pesada afecta IgA, en 11 pacientes (68,75%; $p=0,046$). (Tabla 4.10).

Factores pronósticos		CM (g/dL)	Plaquetas (μ L)	CP <5% en MO (%)	CPc en MO por CMF (%)	Patrón evolving del CM (%)	CM <1,5 g/dL (%)	Ratio CLL alterada (%)	Ausencia de inmunoparesia (%)
CPc en SP	Presencia	0,54	237.000	-	57,86	100	-	-	-
	Ausencia	0,36	230.000.	-	28,62	0	-	-	-
	p	0,005	N.S.	N.S.	0,001	0,049	N.S.	N.S.	N.S.
CPc en SP	>0,058/ μ L	0,77	274.000	7,7	73,25	N.S.	11,8	-	9,5
	<0,058/ μ L	0,41	228.000	92,3	38,95	N.S.	88,2	-	90,5
	p	0,007	0,039	0,048	0,011	N.S.	0,01	N.S.	0,043

N.S.= No significativo al 5% ($p>0,05$)

Tabla 4.10. Análisis univariante del valor de las CPc en SP por CMF y otros factores de riesgo de progresión de GMSI a MM.

4.3.c. Estudio de la cuantificación de CPc circulantes en SP como variable continua

El análisis de la cuantificación de CPc en SP de los pacientes incluidos en el estudio como una variable cuantitativa nos permitió identificar una asociación entre una cantidad elevada de CPc en SP y i) CM mayor o igual de 0,5 g/dL (CPc en SP: 0,4581/ μ L vs 0,0262/ μ L, respectivamente, $p=0,033$); ii) mayor porcentaje de CPc por CMF en MO (mayor o igual a 47%) en el compartimento de CP (CPc en SP: 0,0638/ μ L vs 0,0123/ μ L, $p=0,0001$); iii) presencia de aneuploidía del ADN (CPc en SP: 0,0597/ μ L vs 0,0196/ μ L, $p=0,004$); iv) ratio de CLL alterada (CPc en SP: 0,7815/ μ L vs 0,0161/ μ L, $p=0,02$) y v) cadena pesada afecta IgG vs IgA (0,2350/ μ L vs 0,0414/ μ L, respectivamente, $p=0,040$).

4.3.c.(1). Detección del punto de corte en función del número absoluto de CPc en SP

Se evaluó la posible relación entre la cantidad de las CPc en SP que pudiera discriminar de manera precisa el riesgo de progresión a MM. Mediante la curva ROC se calculó el punto de corte de las CPc en SP. Inicialmente, el valor de CP obtenido del estudio de curva ROC fue 0,985 CPc/ μ L ($p=0,020$), aunque sólo discriminaba la progresión de dos pacientes en nuestra cohorte.

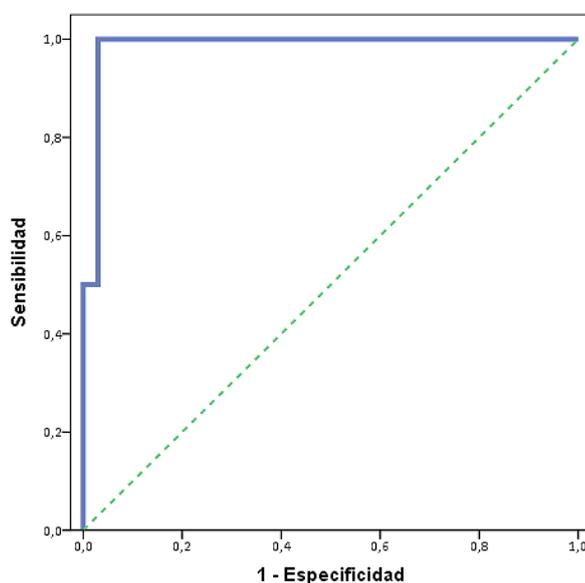


Figura 4.5. Curva ROC para el cálculo del punto de corte de CPc en SP.

Se evaluó conjuntamente la sensibilidad y especificidad de cada valor y se dedujo que el valor de corte óptimo se encontraría entre los valores: 0,028524 - 0,31227 CPc/ μ L, por lo que finalmente se tomó el valor de 0,058 CPc/ μ L como punto de corte más adecuado, con una Sensibilidad=100% y una Especificidad=88%, en nuestra serie

(Figura 4.5). Dicho punto de corte coincidía con el valor más preciso capaz de discriminar entre los casos de MM y GMSI en función del número absoluto de CPc en SP en un estudio publicado en el que se incluyeron los casos de nuestra serie (Sanoja-Flores et al. 2018).

4.3.d. Estudio de las CPc circulantes en SP aplicando el punto de corte de 0,058 CPc/ μ L.

El análisis de la cantidad de CPc en SP en función de dicho punto de corte nos permitió identificar una asociación entre una cantidad mayor de 0,058 CPc/ μ L en SP y i) CM más elevado (CM: 0,77 g/dL vs 0,41 mg/dL, respectivamente, $p=0,007$); ii) mayor número de plaquetas (plaquetas: 274×10^9 vs 228×10^9 , respectivamente, $p=0,039$); iii) mayor porcentaje de CPc por CMF en MO en el compartimento de CP (CPc en MO: 73,25% vs 38,95%, $p=0,011$) (Tabla 4.10).

También se estableció una asociación entre una cantidad menor de 0,058 CPc/ μ L en SP y i) un CM menor de 1,5 g/dL (88,2%, $p=0,009$); ii) una infiltración de CP en MO menor del 5% en el Medulograma (92,3%, $p=0,048$); y iii) ausencia de inmunoparesia (90,5%, $p=0,043$) (Tabla 4.10).

4.3.e. Cantidad de CPc en SP según el grupo de riesgo de los diferentes modelos pronósticos de GMSI

Se evaluó la influencia de la cantidad de CPc en SP detectada en los pacientes incluidos en el estudio según el grupo de riesgo de la Clínica Mayo al que pertenecían. Los pacientes de bajo riesgo presentaron una media de 0,0137 CPc/ μ L, mientras que aquellos de riesgo intermedio-bajo e intermedio alto presentaron una media mayor de 0,0465 y 0,0814 CPc/ μ L, respectivamente ($p=0,006$) (Tabla 4.11).

Según el modelo de Salamanca I, que incluía la aneuploidía, los pacientes de riesgo bajo e intermedio presentaron una media de 0,0196 y 0,0597 CPc/ μ L, respectivamente ($p=0,002$). Mientras que los pacientes de riesgo bajo e intermedio, según el modelo de Salamanca II que incluía el patrón “*evolving*”, presentaron una media de 0,0384 y 0,0130 CPc/ μ L, respectivamente ($p=0,526$) (Tabla 4.11) (Figura 4.6).

Modelos Pronósticos	N total	Grupo de riesgo	N de casos	Nº de CPc en SP/ μL (media)	Valor p
Clínica Mayo	64	Bajo	38	0,0137	0,006
		Intermedio bajo	19	0,0465	
		Intermedio alto	7	0,0814	
		Alto	0	-	
Grupo de Salamanca I (aneuploidía)	32	Riesgo bajo	28	0,0196	0,002
		Riesgo intermedio	4	0,0597	
		Riesgo alto	0	-	
Grupo de Salamanca II (<i>evolving</i>)	64	Riesgo bajo	59	0,0384	0,526
		Riesgo intermedio	5	0,0130	
		Riesgo alto	0	-	

Tabla 4.11. Cantidad de CPc en SP según los grupos de riesgo de los diferentes modelos pronósticos de las GMSI.

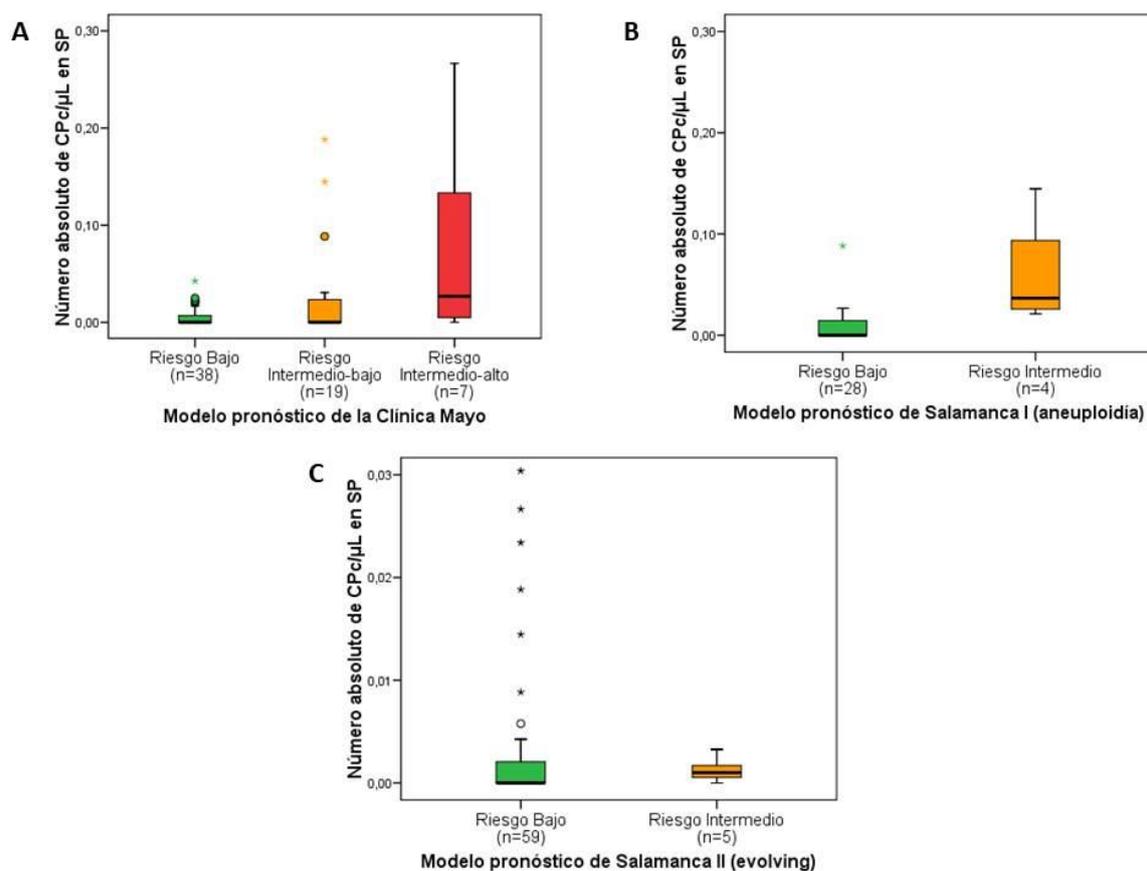


Figura 4.6. Distribución de la cantidad de CPc en SP según los grupos de riesgo de los diferentes modelos pronósticos.

4.4. ESTUDIO DEL GRADO DE EXPANSIÓN TUMORAL CLONAL Y DE LA INMUNOPARESIA MEDIANTE HEVYLITE CHAIN®

4.4.a. Estudio del grado de expansión tumoral clonal mediante la ratio del par de HLC de la Ig monoclonal

Los pares de cadena pesada-ligera de las Igs (Hevylite Chain® (HLC)) fueron analizados en 111 pacientes de los que se obtuvo suero en el momento del diagnóstico.

Para evaluar el grado de expansión tumoral mediante HLC se analizó la ratio del par de HLC de la Ig monoclonal, es decir, en una GMSI IgG- κ , la ratio sería IgG- κ /IgG- λ . Sesenta y dos pacientes (56%) presentaron alteración de la ratio de HLC. Según el tipo de cadena pesada afecta de Ig, observamos que 38 de 80 (47,5%) pacientes con GMSI IgG tenían la ratio alterada, mientras que dentro del grupo de GMSI IgA e IgM, 17 de 23 (74%) y 7 de 8 (87,5%) tenían la ratio alterada, respectivamente ($p=0,026$).

El análisis de la ratio del par de HLC de la Ig monoclonal nos permitió identificar una asociación entre la ratio de HLC alterada y i) CM más elevado (CM: 0,62 g/dL vs 0,33 g/dL, respectivamente, $p < 0,0001$; OR: 53,23 con IC del 95% (2,82/1005,54), $p=0,008$); ii) CM $>1,5$ mg/dL (100%, $p=0,044$); iii) cadena pesada afecta no IgG (78,12%, $p=0,003$); iv) ratio de CLL alterada (77,77%, $p=0,011$); v) mayor infiltración de CP en MO en el medulograma (CP en MO: 3,72% vs 2,43%, $p=0,001$); vi) mayor porcentaje de CPc en MO por CMF en el compartimento de CP (CPc en MO: 54,42% vs 24,42%, $p < 0,001$; OR: 1,02 con IC del 95% (1,01/1,03), $p=0,007$); vii) mayor frecuencia y cantidad de CPc en SP por NGF (68,29%, $p=0,001$, OR: 6,15, IC 95% (2,08-18,18), $p=0,001$; CPc en SP: 0,2864/ μ L vs 0,0139/ μ L, $p=0,0001$) (Tabla 4.12).

Los pacientes con ratio normal de HLC se correlacionaron con otros parámetros de enfermedad menos agresiva, como: i) un CM <1 g/dL (100%, $p=0,0001$) y ii) una infiltración de CP en MO menor del 5% en el medulograma (91,3%, $p=0,007$).

La clasificación de los pacientes con GMSI en función de la ratio alterada del par de HLC en los grupos pronósticos de los modelos pronósticos clásicos mostró que según el de la Clínica Mayo, el 100% de los pacientes que eran de riesgo intermedio ($p=0,0001$) tenían alterada la ratio del par de HLC alterada, mientras que en el grupo de bajo riesgo, las proporciones se distribuyeron uniformemente. Al considerar el modelo de Salamanca, el 92% de los pacientes en el grupo de bajo riesgo tenían una ratio del par de HLC normal ($p=0,010$).

Factores pronósticos		CM (g/dL)	Albúmina (mg/dL)	CPc en SP por NGF n, (%)	CP en MO (%)	CPc en MO por CMF (%)	CM >1,5 g/dL (%)	Cadena pesada no IgG (%)	Ratio CLL alterada (%)
Ratio de HLC	Alterada	0,62	4,36	68,29% 0,2864/ μ L	3,72	54,42	100	78,12	77,77
	Normal	0,33	4,34	31,71% 0,0139/ μ L	2,43	24,42	0	21,88	22,23
	p	0,0001	N.S.	0,0001	0,001	0,001	0,044	0,003	0,011

N.S. = NO significativo al 5% ($p > 0,05$)

Tabla 4.12. Análisis univariante del valor de la ratio de HLC de la Ig monoclonal y otros factores de riesgo de progresión de GMSI a MM.

4.4.b. Estudio de la inmunoparesia

Se estudió la inmunoparesia mediante dos métodos: i) estudio de las Ig completas mediante la nefelometría clásica, y ii) estudio de cadena pesada-ligera de la Ig (HLC) mediante inmuno-turbidimetría para analizar la supresión de las HLC. Para ello evaluamos en primer lugar la supresión del par de HLC del mismo isotipo de Ig no involucrado, es decir, analizamos el par IgG- λ en una GMSI IgG-k; y en segundo lugar, la supresión de los otros pares de HLC correspondientes a las Igs policlonales diferentes al CM, es decir, IgA-k, IgA- λ , IgM-k e IgM- λ en una GMSI IgG-k.

4.4.b.(1). Inmunoparesia detectada mediante nefelometría clásica

Mediante la nefelometría clásica se detectó inmunoparesia en 11 pacientes (10%) de una o ambas Ig policlonales con la disminución del 25% por debajo del límite inferior de la normalidad.

4.4.b.(2). Inmunoparesia detectada mediante la supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado

Mediante el estudio de HLC, se observó que 30 pacientes (27%) presentaban descenso del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado y en 16 pacientes (14,4%) de estos la supresión del par de HLC era superior al 25% con respecto al límite inferior de la normalidad (Tabla 4.13).

Variables de HLC para el estudio de la inmunoparesia	Pacientes (n= 111) n (%)
Supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado, n (%)	30 (27)
Supresión del 25% del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado, n (%)	16 (14,4)
Supresión de par de HLC de las Igs policlonales	33 (30)
– 1 par de HLC	21 (19)
– 2 pares de HLC	11 (10)
– 3 pares de HLC	0 (0)
– 4 pares de HLC	1 (1)
Supresión del 25% del par de HLC de las Igs policlonales	11 (9,9)
– 1 par de HLC	6 (5,5)
– 2 pares de HLC	5 (4,5)

Tabla 4.13. Evaluación de la inmunoparesia mediante la HLC.

El análisis de la supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado nos permitió identificar una asociación entre la supresión del par de HLC y i) CM más elevado (CM: 0,75 g/dL vs 0,40 g/dL, $p < 0,0001$); ii) menor cantidad de albúmina en sangre (albúmina: 4,20 mg/dL vs 4,41 mg/dL, $p=0,004$); iii) CM $>1,5$ g/dL (100%, $p=0,0001$); iv) mayor cantidad de CP en MO en el medulograma (CP en MO: 3,91% vs 2,83%, $p=0,011$); v) mayor porcentaje de CPc en MO por CMF en el compartimento de CP (CPc en MO: 61,87% vs 32,40%, $p < 0,001$; OR: 1,03 con un IC 95% (1,01/1,05), $p=0,0001$); vi) mayor frecuencia y cantidad de CPc en SP por NGF (70,83%, $p=0,018$; CPc en SP: 0,4679/ μ L vs 0,0201/ μ L, $p=0,008$) (Tabla 4.14).

Los pacientes que no tenían suprimido el par de HLC se correlacionaron con otros parámetros de enfermedad menos agresiva, como: i) un CM <1 g/dL (97,5%, $p=0,0001$); ii) una infiltración de CP en MO menor del 7% en el Medulograma (95,9%, $p=0,026$) y iii) mayor proporción de pacientes con una cantidad menor de 0,058 CPc en SP/ μ L por NGF (93,2%, $p=0,036$).

Se clasificó a los pacientes según los modelos pronósticos de la Clínica Mayo y de Salamanca, distribuyéndose estos de manera homogénea, sin presentar diferencias significativas.

Factores pronósticos		CM (g/dL)	Albúmina (mg/dL)	CPc en SP por NGF n, (%)	CP en MO (%)	CPc en MO por CMF (%)	CM >1,5 g/dL (%)	Cadena pesada no IgG (%)	Ratio CLL alterada (%)
Supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrada	Suprimida	0,75	4,20	70,83% 0,4679/ μ L	3,91	61,87	100	-	-
	No suprimida	0,40	4,41	29,17% 0,0201/ μ L	2,83	32,40	0	-	-
	p	0,0001	0,004	0,008	0,011	0,001	0,0001	N.S.	N.S.
Supresión >25% del par de HLC del isotipo de Ig no involucrada	Suprimida	0,91	4,24	0,8905/ μ L	3,92	70,54	-	-	-
	No suprimida	0,42	4,37	0,0256/ μ L	2,99	35,52	-	-	-
	p	0,0001	N.S.	0,03	N.S.	0,0001	N.S.	N.S.	N.S.

N.S. = NO significativo al 5% ($p > 0,05$)

Tabla 4.14. Análisis univariante del valor de la supresión del par de HLC de la Ig no involucrado y otros factores de riesgo de progresión de GMSI a MM.

El análisis de la supresión de más del 25% del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado nos permitió identificar una asociación entre la supresión profunda del par de HLC y i) CM más elevado (CM: 0,91 g/dL vs 0,42 g/dL, $p < 0,0001$; OR: 7,22 con un IC 95% (1,11/46,83), $p=0,038$); ii) mayor porcentaje de CPc en MO por CMF en el compartimento de CP (CPc en MO: 70,54% vs 35,52%, $p < 0,0001$; OR: 1,02 con un IC 95% (1/1,04), $p=0,040$); y iii) mayor cantidad de CPc en SP por NGF (CPc en SP: 0,8905/ μ L vs 0,0256/ μ L, $p=0,03$) (Tabla 4.14).

Los pacientes con una supresión moderada (<25%) o sin supresión del par de HLC se correlacionaron con otros parámetros menos agresivos, como: i) un CM <1 g/dL (95,8%, $p=0,0001$) y ii) mayor proporción de pacientes con una menor cantidad de 0,058 CPc en SP/ μ L por NGF (91,1%, $p=0,025$).

Sin embargo, no se encontró una correlación significativa entre los modelos pronósticos de la Clínica Mayo y los de Salamanca y la frecuencia de supresión del par de HLC.

4.4.b.(3). Inmunoparesia detectada mediante la supresión del par de HLC de Igs policlonales

Posteriormente, se analizaron los pares de HLC de las Igs policlonales de cada paciente. Treinta y tres pacientes (30%) presentaron descenso de algunos de los pares de HLC de las Igs policlonales, de tal modo, que 21 (19%), 11 (10%) y 1 (1%) pacientes presentaron descenso de uno, dos o los cuatro pares de HLC de las Igs policlonales, respectivamente; y en 11 pacientes (10%) de este grupo la supresión del par de HLC de las Igs policlonales fue superior al 25% (Tabla 4.13).

El análisis de la supresión del par de HLC de las Igs policlonales nos permitió identificar una asociación entre la supresión del par de HLC policlona y i) una menor cantidad de albúmina en sangre (albúmina: 4,24 mg/dL vs 4,40 mg/dL, $p=0,017$; OR: 0,06 con un IC 95% (0,01/0,35), $p=0,002$); ii) CM $>1,5$ g/dL (100%, $p=0,001$); iii) una ratio de CLL alterada (79,41%, $p=0,001$; OR: 6,15, IC 95% (2,03/18,74), $p=0,001$); y iv) mayor porcentaje de CPc en MO por CMF en el compartimento de CP (CPc en MO: 54,13% vs 35,85%, $p=0,025$); y v) porcentaje de CPc en MO por CMF mayor del 95% (74,72%, $p=0,028$) (Tabla 4.15).

Los pacientes que no presentaron supresión del par de HLC de las Igs policlonales presentaron otro parámetro de enfermedad menos agresiva, como: es un CM <1 g/dL (97,4%, $p=0,0001$).

Se clasificó a los pacientes según los modelos pronósticos de la Clínica Mayo y de Salamanca I (aneuploidía), mostrando que el 75% y 81,92% de los pacientes que no presentaron supresión del par de HLC de las Igs policlonales, se clasificaron en el subgrupo de riesgo bajo ($p=0,007$ y $p=0,000$, respectivamente). No hubo diferencias significativas según el modelo de Salamanca II (*evolving*).

Factores pronósticos		CM (g/dL)	Albúmina (mg/dL)	CPc en MO por CMF (%)	CM $>1,5$ g/dL (%)	Ratio CLL alterada (%)	CPc $>95\%$ en MO por CMF (%)
Supresión del par de HLC de Igs policlonales	Suprimida	0,67	4,24	54,13	100	79,41	74,72
	No suprimida	0,42	4,40	35,85	0	20,59	25,28
	p	N.S.	0,017	0,025	0,001	0,001	0,028
Supresión $>25\%$ del par de HLC de Igs policlonales	Suprimida	0,99	4,15	45,5	-	-	-
	No suprimida	0,44	4,38	40,14	-	-	-
	p	N.S.	0,017	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

N.S.= No significativo al 5% ($p>0,05$)

Tabla 4.15. Análisis univariante del valor de las alteraciones en las HLC de la Ig no implicada en la GMSI y otros factores de riesgo de progresión de GMSI a MM.

El análisis de la supresión del 25% del par de HLC de las Igs policlonales nos permitió identificar una asociación entre la supresión profunda del par de HLC policlona y una menor cantidad de albúmina en sangre (albúmina: 4,15 mg/dL vs 4,38 mg/dL, $p=0,017$) (Tabla 4.15).

Cuando se clasificó a los pacientes según el modelo pronóstico de Salamanca I (aneuploidía), el 97,61%, ($p=0,0001$) de los pacientes que no presentaron supresión

profunda del par de HLC de Ig policlonal, se clasificaron en el grupo de riesgo bajo. Según el resto de modelos pronósticos no se detectaron diferencias significativas.

4.4.b.(4). Estudio de sensibilidad y validación de la técnica de HLC

Se realizaron estudios de sensibilidad y especificidad para comparar la técnica de nefelometría clásica con el test de HLC para medir la inmunoparesia. En todos los casos el estudio realizado mediante HLC fue superior para detectar la inmunoparesia comparándola con la nefelometría, tanto en sensibilidad (S) como en el valor predictivo negativo (VPN).

En el estudio de S del test de HLC, se observó que ésta fue significativamente superior tanto para la supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado (S=45,6% vs S=16,4%, $p < 0,0001$), como para la supresión del par de HLC de las Ig policlonales (S=60,7% vs S=32,3%, $p < 0,0001$), en comparación con la nefelometría clásica (Tabla 4.16 y 4.17).

Inmunoparesia	N válido	Test de contraste	P-valor	Sensibilidad	V. Predict. Positivo	V. Predict. Negativo	V. Predict. Total
		Valor					
Supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado	111	27,74**	0,0001	45,6%	100%	54,3%	67,0%
Supresión de >25% del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado	111	12,97**	0,0001	25,0%	100 %	46,3%	54,5%
Nefelometría	149	14,54**	0,0001	16,4%	100%	59,4%	62,4%

**=Altamente significativo al 1% ($p < 0,01$)

Tabla 4.16. Sensibilidad de la supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado respecto a la nefelometría.

Se analizó el VPN de cada test, evaluando el porcentaje de aciertos del test con HLC cuando el resultado de la prueba con la que se la compara, la nefelometría, fuera negativo, observando que el VPN de la supresión del par de HLC de Igs policlonales fue mayor al de la nefelometría (VPN: 71,4% vs 68,1%, respectivamente). Asimismo, se analizó el VP total del test de HLC, y el resultado fue superior, tanto el de la supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado (VP=67% vs VP=62,4%), como el de las Ig policlonales (VP=80,2% vs VP=72,3%), respecto al VP de la nefelometría para medir la inmunoparesia (Tabla 4.16 y 4.17).

Inmunoparesia	N válido	Test de contraste		Sensibilidad	V. Predict. Positivo	V. Predict. Negativo	V. Predict. Total
		Valor	P-valor				
Supresión del par de HLC de Igs policlonales	111	48,14**	0,0001	60,7%	100%	71,4%	80,2%
Supresión de >25% del par de HLC de Igs policlonales	111	13,44**	0,0001	21,4%	100%	56,0%	60,7%
Nefelometría	159	34,99**	0,0001	32,3%	100%	68,1%	72,3%

**=Altamente significativo al 1% ($p < 0,01$)

Tabla 4.17. Sensibilidad de la supresión del par de HLC de las Igs policlonales respecto a la nefelometría.

4.4.b.(5). Concordancia entre la nefelometría clásica y HLC en la detección de inmunoparesia

Se evaluó la concordancia en la detección de inmunoparesia entre la nefelometría clásica y la HLC, definida como la disminución del par de HLC, en primer lugar del isotipo de Ig no involucrada y en segundo lugar de las Igs policlonales.

Inmunoparesia		Supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado, n (%)			Supresión de >25% del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado, n (%)		
		No	Si	Total	No	Si	Total
Nefelometría, n (%)	No	77 (69,4)	23 (20,7)	100 (90,1)	89 (80,2)	11 (9,9)	100 (90,1)
	Si	4 (3,6)	7 (6,3)	11 (9,9)	6 (5,5)	5 (4,4)	11 (9,9)
Total, n (%)		81 (73)	30 (27)	111 (100)	95 (85,7)	16 (14,3)	111 (100)
p		0,004			0,002		

Tabla 4.18. Detección de inmunoparesia mediante nefelometría clásica y Hevylite Chain®.

Se detectó inmunoparesia mediante HLC, definida por la supresión del par del isotipo de Ig no involucrado, en un número significativamente superior de pacientes con respecto a la nefelometría clásica, 30 (27%) vs 11 (10%), respectivamente ($p=0,004$), con una discordancia en 23 (20,7%) casos, indicando que HLC sería una técnica más sensible para la detección de inmunoparesia. También se detectó mayor número de pacientes con inmunosupresión más profunda con HLC, con un descenso mayor del

25% del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado en 16 (14,3%) vs 11 (10%) pacientes, respectivamente ($p=0,002$), con una discordancia en 11 (10%) casos respecto a la nefelometría clásica (Tabla 4.18).

Posteriormente, se observó inmunoparesia mediante HLC, definida como la disminución del par de HLC de las Ig policlonales, en un número significativamente superior de pacientes con respecto a la nefelometría clásica, 33 (29,7) vs 11 (10%), respectivamente ($p=0,0001$), con una discordancia en 22 (19,8%) casos, indicando también que HLC sería una técnica más sensible para la detección de inmunoparesia. No se advirtieron diferencias en la detección de inmunosupresión más profunda mediante HLC de las Ig policlonales respecto a la nefelometría clásica, 11 (10%) vs 11 (10%) pacientes, respectivamente, pero si se observó discordancia en 3 (2,7%) casos ($p=0,0001$) (Tabla 4.19).

Inmunoparesia		Supresión del par de HLC de Igs policlonales, n (%)			Supresión de >25% del par de HLC de Igs policlonales, n (%)		
		No	Si	Total	No	Si	Total
Nefelometría, n (%)	No	78 (70,3)	22 (19,8)	99 (90,1)	97 (87,4)	3 (2,7)	100 (90,1)
	Si	0 (0)	11 (9,9)	11 (9,9)	3 (2,7)	8 (7,2)	11 (9,9)
Total, n (%)		78 (70,3)	33 (29,7)	111 (100)	100 (90,1)	11 (9,9)	111 (100)
p		0,0001			0,0001		

Tabla 4.19. Detección de inmunoparesia mediante nefelometría clásica y Hevylite Chain®.

4.5. ESTUDIO DE LOS FACTORES PREDICTORES DE RIESGO A LA PROGRESIÓN DE TODAS LAS VARIABLES ANALIZADAS

Se analizaron todas las variables que habían resultado significativas en el estudio univariante y se evaluó su posible efecto como factores predictores de riesgo a la progresión de GMSI a MM.

En el análisis univariante se observó que los pacientes que tenían mayor riesgo de progresar presentaron: i) un CM más elevado (CM: 1,17 g/dL vs 0,5 g/dL, respectivamente, $p=0,003$); ii) mayor infiltración de CP en MO en el medulograma (CP en MO: 6,07% vs 3,39%, $p=0,005$); iii) mayor porcentaje de CPc en MO por CMF en el compartimento de CP (CPc en MO: 76,60% vs 43,61%, $p=0,006$); y iv) mayor

proporción de pacientes con más de 0,058 CPc en SP/ μ L por NGF (100%, $p=0,0001$). Ninguna de las variables de HLC analizadas resultaron significativas como factores predictores de progresión a MM en el análisis univariante ($p >0,05$).

Factores pronósticos	OR	Valor-p	IC 95% de la OR	HR	Valor-p
CM >1,17 g/dL	3,43	0,014	1,28/8,72	2,19	0,041*
CPc >95% en MO por CMF	5,44	0,032	1,15/25,71	5,56	0,017*
CM >1 g/dL	13,76	0,158	0,36/523,76	-	N.S.
CP en MO en el medulograma (%)	1,20	0,317	0,84/1,71	-	N.S.
CP en MO >5% en el medulograma	1,99	0,487	0,28/13,98	-	N.S.
CPc en MO por CMF	1,01	0,595	0,98/1,04	-	N.S.
Ratio de CLL alterada	1,00	0,998	0,06/16,17	-	N.S.
Inmunoparesia	1,73	0,602	0,22/13,37	-	N.S.
CPc en SP por NGF	-	0,999	-	-	N.S.
Ratio alterada del par de HLC de la Ig monoclonal	6,96	0,148	0,50/96,59	-	N.S.
Supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado	9,59	0,291	0,14/636,42	-	N.S.
Supresión de >25% del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado	3,47	0,554	0,06/21530	-	N.S.
Supresión del par de HLC de Igs policlonales	1,01	0,990	0,12/8,64	-	N.S.
Supresión de >25% del par de HLC de Igs policlonales	1,41	0,882	0,02/12497	-	N.S.

N.S.= No significativo al 5% ($p >0,05$). * = Significativo al 5% ($p <0,05$). Abreviaciones: IC, intervalo de confianza; OR, Odd Ratio; HR, Hazard Ratio.

Tabla 4.20. Análisis multivariante de todos los factores de riesgo de progresión de GMSI a MM analizados en el estudio.

Finalmente, se realizó el análisis multivariante con las variables que habían demostrado valor pronóstico de progresión a MM de manera significativa en el análisis univariante. En este estudio, solo mantuvieron su valor pronóstico de riesgo a la progresión i) el CM mayor de 1,17 g/dL (OR: 3,43, IC 95% (1,28/8,72), $p=0,014$; HR=2,19, $p=0,041$) y ii) el porcentaje de CPc en MO por CMF dentro del compartimento de CP en la MO mayor del 95% (OR: 5,44, IC 95% (1,15/25,71), $p=0,032$; HR=5,56, $p=0,017$). El resto de parámetros no fueron significativos como factores predictores de progresión en la GMSI, en el análisis multivariante (Tabla 4.20).

4.5.a. ESTUDIO DEL TIEMPO HASTA LA PROGRESIÓN A MIELOMA MÚLTIPLE U OTRA ENFERMEDAD DE CÉLULAS PLASMÁTICAS

Debido a la concordancia entre la cohorte del *screening* poblacional y la de la consulta, se utilizó la serie de 175 pacientes diagnosticados de GMSI para evaluar el riesgo de progresar a MM.

La mediana de seguimiento de nuestra serie fue de 64 meses (rango: 1-100 meses). Durante el seguimiento se observó una tasa de progresión de GMSI a MM del 1,8% anual, con un total de 10 progresiones: 5 a MMS y otras 5 a MM. La mediana de tiempo hasta la progresión (TTP) fue de 50 meses en la serie total (rango: 26-80 meses); 52 meses a MMS (rango: 8-72 meses) y de 40 meses a MM (rango: 26-80 meses). Se observó que dos pacientes presentaron un TTP de 26 meses significativamente menor que el resto de pacientes, coincidió con los casos que presentaron una cantidad de CP en MO del 9% en el medulograma, sin presentar ningún otro factor pronóstico adverso, ni cumplían los criterios de MMS ni MM en el momento del diagnóstico.

Los pacientes que habían progresado se distribuyeron según el modelo pronóstico de la Clínica Mayo: 2 pacientes en el grupo de riesgo bajo, 3 en el intermedio bajo y 3 en el intermedio alto, (hubo 2 casos no clasificables). Según el modelo de Salamanca I (aneuploidía): 1 paciente era de riesgo bajo y 2 de riesgo intermedio (hubo 7 pacientes no clasificables). Finalmente, según el modelo de Salamanca II (*evolving*): 4 casos eran de riesgo bajo, 2 de riesgo intermedio y 3 de riesgo alto (hubo 1 caso no clasificable).

Las características principales de los pacientes que progresaron fueron las siguientes: i) 6 de 10 pacientes de sexo femenino (60%); ii) edad media de 70 años (rango: 57-82 años); iii) 4 presentaron inmunoparesia; iv) cantidad media del CM: 0,56 g/dL (rango: 0,23-2,55 g/dL); v) 2 tenían afectada la cadena pesada no IgG; vi) cantidad de CP en MO en el medulograma: 5,7% (rango: 2-9,6%); vii) porcentaje de CPc en MO por CMF: 94% (rango: 0-100%); viii) 2 con CM >1,5 g/dL; ix) 6 con alteración de la ratio de CLL; x) 4 con >95% de CPc en MO por CMF; y xi) 4 con patrón "*evolving*" del CM. Ninguno presentó aneuploidía del ADN.

Respecto a los nuevos factores estudiados, solo se evaluó las CPc en SP por NGF en 2 paciente de los 10 que progresaron y ambos presentaron CPc en SP en una cantidad de mayor de 0,058 CPc/ μ L.

Respecto al estudio de las HLC, se realizó en 7 pacientes de los que progresaron, y de estos se observó: i) 3 casos con la ratio alterada del par de HLC de la Ig monoclonal;

ii) un caso con supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado, y este mismo caso presentó una supresión profunda (mayor del 25%); y iii) 4 casos con supresión del par de HLC de las Igs policlonales y de estos 2 con supresión mayor del 25%.

Se describió un modelo de riesgo de progresión basado en los dos factores pronósticos que habían resultado significativos en el modelo multivariante: CM mayor de 1,17 g/dL y porcentaje mayor de 95% de CPc en MO por CMF, observándose una mediana TTP, para aquellos pacientes con dos factores pronósticos de 80 meses, mientras que en los que tenían un factor o ninguno, la mediana de TTP no fue alcanzada (CM: HR=2,9 (p=0,041); CPc >95%: HR=5,56 (p=0,017)).

V. DISCUSIÓN

La GMSI fue descrita en 1978 por Kyle^{1,2} y es la discrasia de CP más frecuente. Es considerada como una entidad premaligna que precede siempre al MM^{3,4}. Presenta un riesgo de progresión de GMSI a MM aproximadamente de un 1% al año, que se mantiene incluso tras 25 años de seguimiento⁵⁻⁸.

Se han identificado diferentes factores pronósticos que permiten predecir el riesgo de progresión a MM, como son: i) la cantidad del CM, ii) el tipo de cadena pesada involucrada, iii) la ratio alterada de la CLL involucrada vs no involucrada, iv) la cantidad de CPc en MO mediante CMF; v) la aneuploidía del ADN o vi) el patrón “*evolving*” del CM. Los modelos pronósticos descritos por la Clínica Mayo⁸ y los del grupo de Salamanca se han basado en los factores pronósticos anteriormente mencionados^{7,9}.

Sin embargo, en los últimos años, se han descrito técnicas diagnósticas más sensibles que han contribuido a identificar nuevos factores pronósticos que permiten optimizar la identificación del riesgo de progresión a MM y así, poder optimizar el seguimiento y manejo de los pacientes con GMSI y planear, potencialmente, estrategias terapéuticas en estadios precoces del MM.

En la presente tesis doctoral, se ha realizado: i) el primer estudio poblacional prospectivo de prevalencia de GMSI en España en un ámbito no hospitalario, junto con ii) la evaluación de nuevos factores, con posible valor pronóstico, mediante las técnicas más sensibles disponibles para el diagnóstico y actual categorización de las GMSI.

Para el estudio poblacional de prevalencia de la GMSI se definió de manera precisa en el área geográfica en el que se iba a realizar, Segovia capital, lo que es algo fundamental en un estudio de prevalencia que no siempre se menciona, de manera específica, en otras publicaciones.

En la misma línea, este trabajo incluye también un estudio de cribado de GMSI en la población mayor de 50 años con una participación de 39%, menor a lo publicado en un estudio realizado en Minnesota, en el que se consiguió evaluar hasta el 79,1% de la población¹⁰. Se decidió seleccionar aquellos mayores de 50 años para centrar el estudio en la población de mayor riesgo, aunque podría haberse ampliado a todos los grupos de edad, lo que hubiera permitido identificar algún factor específico en la población más joven. No obstante, en el estudio realizado en Minnesota, la mediana de edad y distribución por sexos fueron similares a las de la nuestra cohorte, por lo que se puede asumir que esta fue representativa de la población diana.

La incidencia de GMSI en nuestra población fue de 1,55%, congruente con la descrita en la literatura¹¹, aunque durante el reclutamiento la incidencia acumulada fuera menor a la esperada.

Con respecto a la tasa de prevalencia de la GMSI, 2,42%, fue similar a la comunicada en otras series de países occidentales, como en Estados Unidos o Francia, e igual en cada franja de edad (Tabla 5.1)^{10,12-16}.

Edad (años)	Tasa de prevalencia (%)	
	Minnesota	Cohorte de Segovia
50-59	1,7	2,42
60-69	3	3,41
70-79	4,6	4,33
>80	6,6	6,57
Total	3,2	2,42

Tabla 5.1. Tasa global de prevalencia de la GMSI, según diferentes franjas de edad, en Segovia capital y la observada en el estudio de Kyle, R.A. et al. *N. Engl. J. Med.* 378, 241–249 (2018)¹².

Se han publicado estudios posteriores¹², donde se detectaban diferencias en la prevalencia de la GMSI según la raza, siendo mayor en la raza afroamericana en comparación con la blanca y la hispana. Esto podría explicar que la prevalencia en nuestro estudio resultara ligeramente inferior a la del citado estudio de Kyle et al. en el que se incluyeron pacientes de raza afroamericana. Mientras que en otro estudio realizado en Estados Unidos¹⁷, en el que se evaluó la prevalencia teniendo en cuenta la raza de los pacientes, la tasa en la raza blanca fue idéntica a la de nuestra población.

Las diferencias observadas en la prevalencia en función de la raza es algo bastante bien establecido y las últimas investigaciones parecen apuntar que la biología de la enfermedad es diferente (Munshi et al., *Mayo Clin Proc.*, 2007).

En esta tesis, se confirmó que la GMSI era más frecuente en la población mayor de 50 años y que su prevalencia aumentaba con la edad, haciéndose más prevalente en los mayores de 80 o 90 años^{10,13-16}. Al igual que lo descrito en otras publicaciones, la GMSI se presentó de manera más frecuente en el sexo masculino con una edad media al diagnóstico alrededor de los 70 años, presentando mayor afectación de la cadena pesada IgG, seguido de la IgM e IgA, y de la CLL kappa^{10,13}.

La prevalencia de la GMSI más elevada conocida se observa en la población mayor, lo que permite sugerir estrategias de seguimiento coordinadas entre Atención Especializada y Atención Primaria, para optimizar los recursos y evitar consultas en Atención Especializada que no serían necesarias, lo que contribuiría a humanizar el manejo de los pacientes con enfermedades de las CP. En la misma línea, el seguimiento es obligado en todos los pacientes, incluyendo a los más jóvenes, ya que su expectativa de vida es más larga y, por tanto, la probabilidad de desarrollar un MM también es mayor. El seguimiento de la GMSI permitiría, además, la detección precoz de otras enfermedades.

El test de CLL en suero fue introducido en la evaluación de los pacientes con enfermedades de las CP en 2009⁸, y ha contribuido, por un lado, a identificar más pacientes con enfermedad medible, además de ser útiles en el seguimiento para la evaluación de la respuesta al tratamiento, y por último, y en concreto en los estadios precoces del MM, pueden tener valor pronóstico²⁰. No obstante, como pudiera existir cierta variabilidad intra-paciente, el estudio de los rangos de normalidad de las CLL en una población local española tenía el objetivo de validar la aplicabilidad de los valores de normalidad propuestos por el fabricante, The Binding Site¹⁹.

Los resultados obtenidos de las concentraciones e intervalos de referencia de las CLL fueron similares a los publicados en otros trabajos (Katzmann et al. 2002; Hernando Espinilla et al. 2008), validando así la aplicabilidad del rango de normalidad publicado por Katzmann et al. para la población española (Tabla 5.2). El estudio podría no haber sido necesario y, de hecho, en futuros proyectos no sería preciso analizar los valores de normalidad de las CLL para cada estudio, sino que se pueden utilizar los de referencia indicados por el fabricante²⁰.

CLL	Katzmann ¹⁹	Hernando Espinilla	Muestra poblacional
Kappa (mg/dL)	3,30 - 19,40	2,04 – 18,2	3,97 – 22,19
Lambda (mg/dL)	5,71 - 26,30	6,54 – 19,82	6.89 – 34,12
Ratio CLL κ/λ	0,26 - 1,65	0,45 - 1,43	0.28 - 1,31

Tabla 5.2. Rangos de normalidad de referencia internacional de las de CLL y rangos obtenidos en este estudio.

Se sabe que existen determinadas situaciones o características que pueden influir en la cuantificación de las CLL, como son la función renal o la edad.

La insuficiencia renal puede provocar falsos positivos en la detección de GMSI de CLL de hasta el 6%²¹. Esto es debido a que la insuficiencia renal supone una disminución

del filtrado glomerular y por tanto un aumento de la concentración de las CLL en suero. Para solventar este problema se validó un rango de referencia para cada CLL en una población de pacientes con insuficiencia renal avanzada y GM. Dicho rango alternativo, conocido como “rango renal” (ratio normal de $k/\lambda = 0,37- 3,1$), consiguió aumentar la especificidad del ensayo de CLL del 93% al 99% para el diagnóstico de GMSI en este contexto clínico, manteniendo una sensibilidad del 100%²².

Como era de esperar en este estudio, los pacientes con deterioro de la función renal (TFG ≤ 60 mL/min) presentaron concentraciones de CLL más altas. Además, el intervalo de referencia de la ratio de CLL en pacientes con TFG ≤ 60 mL/min fue similar al descrito por Hutchison et al²². De igual modo, en la población anciana se observó mayor concentración de las CLL en suero debido, posiblemente, al empeoramiento de la función renal. En conclusión, estos resultados confirman la necesidad de utilizar valores de referencia específicos en individuos con insuficiencia renal y edad avanzada.

En nuestro estudio, se seleccionó una cohorte extraída de la consulta de Hematología observándose que las características basales fueron similares a la de la cohorte del cribado poblacional. Las pequeñas diferencias que se detectaron, como en el caso de la hemoglobina, LDH, creatinina, CP en MO, CP clonales por CMF, ratio de CLL e inmunoparesia, podrían explicarse debido a la presencia de valores extremos en algunas de estas variables. En determinados casos en que se observaron algunos valores fuera de la normalidad, como por ejemplo en el caso del calcio, creatinina o Beta2 microglobulina; se explicaron por la existencia de comorbilidades u otras causas distintas a la GMSI.

La evaluación de los factores pronósticos que predicen progresión a MM u otras enfermedades, ya descritos y conocidos para las GMSI, mostró que, en nuestro estudio, algunos marcadores se presentaron en una proporción menor de pacientes. La excepción fue la presencia de cadena pesada afecta no-IgG, que fue similar a la publicada (Tabla 5.3). No existe una explicación clara para la ausencia de concordancia total, aunque las distintas tecnologías utilizadas podrían aclararlo, así como los años diferentes en que se realizaron los estudios y que todos los análisis no se realizaron en el total de la muestra de pacientes.

Este hecho ha influido en la distribución de los pacientes en los diferentes grupos de riesgo de acuerdo a los modelos pronósticos de la Clínica Mayo y de Salamanca. Así, la mayoría de los pacientes se clasificaron en el grupo de riesgo bajo e intermedio, y

sólo algún caso aislado en el grupo de riesgo alto, según el modelo de Salamanca que evaluaba el patrón “*evolving*” del CM.

Factores de riesgo	Clínica Mayo Rajkumar et al, 2005	Salamanca I (aneuploidía) Pérez-Persona et al, 2007	Salamanca II (<i>evolving</i>) Pérez-Persona et al, 2010	Cohorte de Segovia
Cadena pesada no-IgG, (%)	30,25	-	-	31,1
CM ≥1,5 g/dL, (%)	55	-	-	5,5
Ratio de CLL alterada, (%)	67	-	-	28,1
CPc >95% en MO por CMF, (%)	-	18	18	10,6
Aneuploidía del ADN, (%)		58	-	20,4
Patrón “ <i>evolving</i> ” del CM, (%)		-	19	5,7

Tabla 5.3. Características pronósticas de nuestra serie en comparación con la publicada⁷⁻⁹.

Se observó una tasa de progresión del 1,8% al año en la serie total estudiada, lo que corroboró el curso indolente de la GMSI, aunque esta fuera ligeramente superior a los resultados de otras publicaciones^{5,12}. Esto podría explicarse por la presencia de algún caso aislado con una elevada infiltración de CP en MO al diagnóstico, que a su vez presentaron un TTP significativamente menor al del resto de pacientes. Por este motivo, estos casos fueron revisados y se confirmó que no cumplían estrictamente ninguno de los criterios de MMS ni de MM.

Por otro lado, al tratarse de un estudio poblacional, el diagnóstico podría, potencialmente, haberse realizado de manera precoz y esto impactaría en la ausencia de pacientes con alto riesgo, como se observó al clasificarles según el modelo de la Clínica Mayo y del grupo de Salamanca I (aneuploidía) (Tabla 5.4 y 5.5).

Estos resultados apoyan el estudio del CM mediante el EEF y la IFE como métodos válidos para el *screening* de la GMSI en la población general, pues se diagnosticaría a la mayoría de los casos en fases evolutivas iniciales y con un riesgo bajo de progresión a MM u otras enfermedades relacionadas.

Grupo de riesgo	Modelo de la Clínica Mayo⁸ Incidencia (%)	Cohorte de Segovia Modelo de la Clínica Mayo⁸ Incidencia (%)
Bajo	39	50,0
Intermedio-bajo	37	36,4
Intermedio-alto	20	13,6
Alto	5	0

Tabla 5.4. Comparación de los grupos de riesgo según el Modelo de la Clínica Mayo y nuestra serie⁸

Cabe destacar que la aneuploidía del ADN solo se pudo evaluar en un número limitado de casos, lo que posiblemente influyó en las diferencias que se observaron en la proporción de pacientes clasificados según el modelo pronóstico de Salamanca basado en este parámetro.

Grupo de riesgo	Modelo de Salamanca I (aneuploidía)⁷ Incidencia (%)	Cohorte de Segovia Modelo de Salamanca I Incidencia (%)	Grupo de riesgo	Modelo de Salamanca II (evolving)⁹ Incidencia (%)	Cohorte de Segovia Modelo de Salamanca II Incidencia (%)
Bajo	46	74,1	Bajo	49	59,4
Intermedio	48	25,9	Intermedio	45	37,7
Alto	6	0	Alto	6	2,9

Tabla 5.5. Comparación de los grupos de riesgo según los Modelo de Salamanca y nuestra serie^{7,9}.

La discordancia observada al comparar los modelos pronósticos de la Clínica de Mayo y los de Salamanca en la serie completa, tal y como se reporta en las tabla 5.4 y 5.5, pone de manifiesto que nuestra cohorte incluía más pacientes de riesgo intermedio de acuerdo al modelo de la Clínica Mayo que el modelo de Salamanca, lo que se podría explicar porque para comparar ambas clasificaciones se tuvo que unificar, en el modelo de la Clínica Mayo, los grupos de riesgo intermedio-bajo e intermedio-alto en un solo grupo de riesgo intermedio. Para poder discernir el riesgo real de estos pacientes se precisa de mayor tiempo de seguimiento para esclarecer si finalmente se comportan como un riesgo intermedio o bajo.

En los últimos años, se ha implantado la NGF como una de las técnicas más sensibles disponibles para la detección CPc circulantes en SP. Los resultados de esta tesis confirman que mediante la NGF se detecta un mayor número de casos con CPc en SP que con la inmunohistoquímica o la CMF convencional (46% vs 19% - 37%)²³.

Al igual que lo descrito en la literatura²⁴, se confirmó que el número total de CPc en SP detectado mediante NGF aumenta progresivamente en función del riesgo según los modelos de la Clínica Mayo y de Salamanca I (aneuploidía). Aunque estos datos no se pudieron confirmar en el modelo de Salamanca II (*evolving*), en el que se detectó mayor cantidad de CP en el grupo de bajo riesgo, debido a la presencia de una mayor dispersión de los valores de CPc en este, que influyó en el cálculo de la media. Para solventarlo, se calculó, en su lugar, el valor de la mediana de CPc en SP y tuvo un resultado más coherente, siendo mayor en el grupo de riesgo intermedio que en el de bajo riesgo.

En futuros estudios, podría ser de utilidad el análisis seriado de la cantidad CPc en SP mediante NGF para así monitorizar, de manera poco invasiva y rutinaria, a aquellos pacientes que presenten un riesgo más alto de progresión a MM u otras enfermedades relacionadas durante su evolución.

A pesar del número limitado de pacientes en los que se pudo realizar el estudio de CPc circulantes, los resultados fueron interesantes al encontrarse asociación con otros factores pronósticos que hacen referencia a la infiltración tumoral, como son la cantidad de CM, la infiltración de CPc por CMF en MO, la alteración de la ratio tanto de las CLL como de las HLC, lo que podría ser un indicador de enfermedad más agresiva^{24,25}.

Parece que la presencia de CPc en SP podría jugar un papel importante en la diseminación de la enfermedad a localizaciones extramedulares²⁵, por lo que sería interesante, en estudios futuros, evaluar si una mayor cantidad de CPc circulantes se relaciona con progresiones con mayor enfermedad extramedular.

En el estudio de las CPc en SP como factor predictor de riesgo a la progresión en la GMSI, no hubo diferencias significativas debido al pequeño número de progresiones que se observaron en esta cohorte de pacientes. Así mismo era lo esperable en una serie en la que la mayoría de los casos presentaban bajo riesgo de progresión a MM. Se presume que con un tiempo de seguimiento más prolongado, se podría confirmar que la presencia de CPc en SP y un mayor número de estas se asocia con un aumento del riesgo de transformación de GMSI a MM^{28,29}.

Aunque la detección y cuantificación de CPc circulantes no se realiza de manera rutinaria en el diagnóstico de la GMSI, estos resultados apoyarían la implantación de la NGF en SP como técnica muy sensible y poco invasiva en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con GMSI. Por esto, es necesario una estandarización

del punto de corte de la sensibilidad que se debe utilizar así como la automatización de la NGF^{26,27}.

En resumen, se puede concluir que la detección CPc en SP mediante NGF permite identificar un subgrupo de pacientes con mayor masa tumoral e infiltración de CPc en MO. Estos casos parecen presentar mayor riesgo de progresión a MM, por lo que sería necesario realizar un seguimiento más estrecho de estos pacientes.

Aunque el seguimiento rutinario de las GMSI sigue siendo válido y suficiente con la detección del CM así como de las CLL, la monitorización en sangre periférica sería algo complementario que, con largo seguimiento, permitiría identificar a subgrupos de pacientes con mayor riesgo de desarrollar una enfermedad quizás más agresiva en los que, potencialmente, se podría plantear un tratamiento precoz.

El ensayo de HLC ha permitido una cuantificación más precisa de las Igs monoclonales y policlonales. Además, la evaluación de la inmunoparesia mediante la supresión del par de HLC, que indica el grado de supresión inmune y de manera indirecta, el grado de expansión clonal de las CP en MO, ha demostrado tener valor pronóstico en algunos estudios^{30,31}.

En esta tesis, la alteración de la ratio del par de HLC de la Ig monoclonal fue observada en, aproximadamente, la misma frecuencia que lo publicado en la literatura³⁰. Así mismo, estaba alterada de manera más frecuente en la GMSI IgA e IgM, lo que sugiere un posible mecanismo por el cual los isotipos IgA e IgM podrían causar una mayor supresión inmune. Este hallazgo podría explicarse por la presencia de una mayor infiltración de CPc en MO por CMF en las GMSI IgA en comparación con las GMSI IgG.

En este estudio se observó que la frecuencia en la que los pacientes presentaron supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrado y de las Ig policlonales, fue similar en ambos grupos; mientras que en otras publicaciones, la supresión de la Ig policlonal se presentó en menor proporción³⁰.

La alta sensibilidad y valor predictivo total que tiene la supresión del par del HLC, tanto del isotipo de Ig no involucrado como de las Igs policlonales, para detectar la inmunoparesia es, significativamente, superior al de la nefelometría clásica. Esto apoyaría la utilidad de la HLC para valorar la inmunosupresión al diagnóstico. Cabe señalar que, en este trabajo, la inmunoparesia clásica se detectó en menor frecuencia que en otras series, lo que podría influir en los resultados de la sensibilidad de la técnica de HLC para medir la supresión inmune.

Uno de los objetivos que se plantearon en esta tesis fue determinar la relación entre los diferentes parámetros evaluados de las HLC y otros factores pronósticos ya conocidos en la GMSI y otros menos estudiados, como las CPc en MO por CMF y las CPc circulantes detectadas por NGF.

Se confirmó que existía asociación entre la ratio alterada del par de HLC de la Ig monoclonal y los factores pronósticos incluidos en el modelo de la Clínica Mayo (CM >1,5 g/dL, cadena pesada de Ig no IgG y ratio de CLL alterada), como ya había sido descrito previamente por Katzmann et al³⁰.

En la misma línea, la presencia de los factores pronósticos incluidos en el modelo de la Clínica Mayo se asoció, también, con la supresión del par de HLC de las Igs policlonales. Esto apoyaría la idea de que la inmunoparesia clásica, evaluada mediante la supresión de las HLC de las Igs policlonales, también podrían tener valor pronóstico en la GMSI y no solo en el MMS como había descrito Pérez-Persona⁹.

Lo novedoso fue demostrar que tanto la alteración de la ratio de HLC como la supresión del par de HLC del isotipo de Ig no involucrada se relacionaron con factores pronósticos previamente no estudiados, como el porcentaje de CPc en MO mediante CMF y las CPc circulantes en SP detectadas por NGF, lo que informaría de manera indirecta del grado de expansión tumoral tanto en MO como en SP.

En futuros estudios será interesante analizar si existe un patrón evolutivo para los parámetros de HLC, evaluando, fundamentalmente, si la supresión inmune de las HLC se intensifica progresivamente en pacientes más próximos a progresar a MM, así como si esta supresión inmune de las HLC se pudiera asociar con mayor riesgo de desarrollo de infecciones que podría contribuir a identificar pacientes con mayor riesgo de progresar a MM u otras enfermedades relacionadas.

En conclusión, las alteraciones de los parámetros de las HLC se han asociado con factores pronósticos previamente establecidos, lo que refuerza la idea que las HLC permiten evaluar directamente la carga tumoral y supresión inmune.

A diferencia de lo que ocurría con la inmunoparesia evaluada mediante la nefelometría clásica, es interesante destacar que para observar la asociación de la supresión de las HLC y otros factores pronósticos ya conocidos, no es preciso que se produzca una disminución de las HLC de manera profunda o superior al 25%, sino simplemente la disminución de esta por debajo del límite inferior de referencia, posiblemente debido a que el ensayo de HLC es más sensible que la nefelometría evaluando la inmunoparesia como también se ha demostrado en este estudio.

Por el momento, no se han detectado diferencias significativas respecto al tiempo hasta la progresión en ninguno de los grupos de los diferentes parámetros analizados de las HLC, debido al escaso número de progresiones observadas. Posiblemente, un mayor tiempo de seguimiento permita confirmar el valor de las alteraciones de las HLC como factor pronóstico de riesgo a la progresión en las GMSI³⁰.

En resumen, los resultados obtenidos en esta tesis tienen importantes implicaciones en la fisiopatología de la progresión de la GMSI y para demostrar su utilidad clínica, se precisa de mayor tiempo de seguimiento para confirmar el valor de las nuevas variables estudiadas, tanto de la presencia de CPc en SP como de las alteraciones de los parámetros de las HLC, como factores predictores del riesgo de progresión en la GMSI.

En un futuro, la confirmación de estos resultados podría finalizar con un nuevo modelo pronóstico dinámico, potencialmente basado en la cuantificación de CPc en SP junto con las HLC, que contribuiría a identificar pacientes de diferente riesgo de progresión. Esto permitiría, finalmente, precisar el seguimiento adaptado al riesgo con la posibilidad de diseñar, en un futuro, ensayos clínicos para prevenir el desarrollo de MM, sobre todo si alguno de estos modelos permitiera identificar pacientes en los que la progresión a MM fuera más agresiva.

En conclusión, la introducción en la práctica clínica de técnicas tan sensibles y poco invasivas como son la Next Generation Flow para la detección de CPc circulantes en SP y el ensayo de Hevylite Chain®, podrían ser de gran utilidad en la evaluación de la enfermedad y de la carga tumoral tanto al diagnóstico como, posiblemente también, durante el seguimiento de los pacientes con GMSI.

REFERENCIAS

1. Kyle, R. A. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS): a review. *Clin Haematol* 11, 123–50 (1982).
2. Kyle, R. A. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases. *Am J Med* 64, 814–26 (1978).
3. Landgren, O. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood* 113, 5412–5417 (2009).
4. Weiss, B. M., Abadie, J., Verma, P., Howard, R. S. & Kuehl, W. M. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood* 113, 5418–22 (2009).
5. Kyle, R. A. *et al.* Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Engl J Med* 356, 2582–90 (2007).
6. Dispenzieri, A. *et al.* Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood* 111, 785–9 (2008).
7. Pérez-Persona, E. *et al.* New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* 110, 2586–92 (2007).
8. Rajkumar, S. V. *et al.* Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 106, 812–7 (2005).
9. Pérez-Persona, E. *et al.* Risk of progression in smouldering myeloma and monoclonal gammopathies of unknown significance: comparative analysis of the evolution of monoclonal component and multiparameter flow cytometry of bone marrow plasma cells. *Br J Haematol* 148, 110–4 (2010).
10. Kyle, R. A. *et al.* Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 354, 1362–9 (2006).
11. Anagnostopoulos, A. *et al.* Incidence and evolution of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) in Greece. *Ann Hematol* 81, 357–61 (2002).
12. Kyle, R. A. *et al.* Long-Term Follow-up of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *New England Journal of Medicine* 378, 241–249 (2018).
13. Cohen, H. J., Crawford, J., Rao, M. K., Pieper, C. F. & Currie, M. S. Racial differences in the prevalence of monoclonal gammopathy in a community-based sample of the elderly. *Am J Med* 104, 439–44 (1998).
14. Axelsson, U., Bachmann, R. & Hällén, J. Frequency of pathological proteins (M-components) on 6,995 sera from an adult population. *Acta Med Scand* 179, 235–47 (1966).
15. Saleun, J. P., Vicariot, M., Deroff, P. & Morin, J. F. Monoclonal gammopathies in the adult population of Finistère, France. *J Clin Pathol* 35, 63–8 (1982).
16. Therneau, T. M. *et al.* Incidence of monoclonal gammopathy of undetermined significance and estimation of duration before first clinical recognition. *Mayo Clin Proc* 87, 1071–9 (2012).
17. Landgren, O. *et al.* Risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and subsequent multiple myeloma among African American and white veterans in the United States. *Blood* 107, 904–6 (2006).
18. Iwanaga, M., Tagawa, M., Tsukasaki, K., Kamihira, S. & Tomonaga, M. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance: study of 52,802 persons in Nagasaki City, Japan. *Mayo Clin Proc* 82, 1474–9 (2007).
19. Katzmann, J. A. *et al.* Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 48, 1437–44 (2002).
20. Dispenzieri, A. *et al.* International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 23, 215–24 (2009).
21. Vermeersch, P., Van Hoovels, L., Delforge, M., Mariën, G. & Bossuyt, X. Diagnostic performance of serum free light chain measurement in patients suspected of a monoclonal B-cell disorder. *Br. J. Haematol.* 143, 496–502 (2008).

22. Hutchison, C. A. *et al.* Serum free light chain measurement aids the diagnosis of myeloma in patients with severe renal failure. *BMC Nephrol* 9, 11 (2008).
23. Rawstron, A. C. *et al.* Circulating plasma cells in multiple myeloma: characterization and correlation with disease stage. *Br J Haematol* 97, 46–55 (1997).
24. Sanoja-Flores, L. *et al.* Next generation flow for minimally-invasive blood characterization of MGUS and multiple myeloma at diagnosis based on circulating tumor plasma cells (CTPC). *Blood Cancer J* 8, 117 (2018).
25. Billadeau, D. *et al.* Clonal circulating cells are common in plasma cell proliferative disorders: a comparison of monoclonal gammopathy of undetermined significance, smoldering multiple myeloma, and active myeloma. *Blood* 88, 289–96 (1996).
26. Flores-Montero, J. *et al.* Next Generation Flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia* 31, 2094–2103 (2017).
27. Billadeau, D. *et al.* Detection and quantitation of malignant cells in the peripheral blood of multiple myeloma patients. *Blood* 80, 1818–24 (1992).
28. Kumar, S. *et al.* Prognostic value of circulating plasma cells in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *J Clin Oncol* 23, 5668–74 (2005).
29. Periago, A. *et al.* Circulating aberrant plasma cells allows risk stratification of patients with myeloma. *Am J Hematol* (2016). doi:10.1002/ajh.24431
30. Katzmann, J. A. *et al.* Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS. *Leukemia* 27, 208–12 (2013).
31. Pika, T. *et al.* Immunoparesis in MGUS - Relationship of uninvolved immunoglobulin pair suppression and polyclonal immunoglobuline levels to MGUS risk categories. *Neoplasma* 62, 827–32 (2015).

VI. CONCLUSIONES

Respecto al estudio de prevalencia de la Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto en una cohorte poblacional:

1. La prevalencia de GMSI en la población segoviana mayor de 50 años y de raza caucásica es similar a la publicada en otros estudios en países occidentales como Estados Unidos o Francia.
2. La prevalencia de la GMSI aumenta con la edad y es más frecuente en el sexo masculino.
3. Las características basales de la población con GMSI estudiada fueron similares a las descritas en la literatura.
4. La electroforesis de proteínas y la inmunofijación electroforética en suero son métodos válidos para el *screening* de la GMSI en la población general, pues se diagnosticaría a la mayoría de los casos en fases evolutivas iniciales y de riesgo bajo.

Respecto al estudio de los rangos e intervalos de referencia de las cadenas ligeras libres en suero en una población local española:

1. Se confirma la aplicabilidad del rango de normalidad de las cadenas ligeras libres propuesto por la Clínica Mayo y The Binding Site, para la población española.
2. No es preciso estudiar los valores de normalidad de las cadenas ligeras libres en cada estudio en el que se vayan a utilizar estas.
3. Es necesario utilizar valores de referencia de las cadenas ligeras libres específicos en situaciones de insuficiencia renal y/o edad avanzada.

Respecto a la cuantificación de células plasmáticas clonales circulantes en sangre periférica mediante Next Generation Flow:

1. La Next Generation Flow es más sensible en la detección de células plasmáticas clonales en sangre periférica que la inmunohistoquímica o la Citometría de Flujo convencional.
2. La cantidad de células plasmáticas clonales en sangre periférica aumenta en los estadios pronósticos de mayor riesgo según los modelos de la Clínica Mayo y de Salamanca I, basada en la aneuploidía.
3. La implantación y estandarización de la Next Generation Flow es útil para la detección de las células plasmáticas clonales en sangre periférica al diagnóstico y en el seguimiento de los pacientes con GMSI, de manera muy sensible y poco invasiva.

4. La presencia de células plasmáticas clonales circulantes en sangre periférica en una cantidad mayor de 0,058/ μ L se asocia con otros factores pronósticos conocidos en GMSI, que hacen referencia a la infiltración tumoral, por lo que sería necesario realizar un seguimiento más estrecho de estos pacientes.

Respecto capacidad del ensayo de Hevylite Chain® para evaluar la carga tumoral y la supresión inmune en la GMSI:

1. La ratio alterada del par de Hevylite Chain® de la inmunoglobulina monoclonal se relaciona con mayor grado de infiltración tumoral en médula ósea y de supresión inmune, siendo más frecuente dicha alteración en la GMSI IgA e IgM.
2. La supresión del par del Hevylite Chain®, tanto del isotipo de inmunoglobulina no involucrado como de las inmunoglobulinas policlonales, es un método con mayor sensibilidad y valor predictivo total para la detección de la inmunoparesia, respecto a la nefelometría clásica.
3. La ratio alterada del par de Hevylite Chain® de la inmunoglobulina monoclonal y la supresión del par de HLC, tanto del isotipo de inmunoglobulina no involucrado como de las inmunoglobulinas policlonales, se asocian con factores pronósticos conocidos en GMSI, relacionados con una mayor carga tumoral de células plasmáticas en médula ósea y supresión inmune policlonal, por lo que sería necesario realizar un seguimiento más estrecho de estos pacientes.

VII. MATERIAL DERIVADO DE LOS TRABAJS

Hernández JM., Muñoz H., Jiménez-Cobaleda MJ., Queizán JA., Latorre M., de la Hoz B., García-Mateo A., Sánchez Pérez-Moneo B., González L. "Normal ranges and reference intervals of serum Free Light Chain values are higher in elderly people: study in a spanish urban population". ***Haematologica* 2011; 96 (s2): 0863a. 13th International Myeloma Workshop.**

J.M. Hernández Martín, J.A. Queizán, M.J. Jiménez-Cobaleda, H. Muñoz, A. García-Mateo, B. de la Hoz, L. González, B. Sánchez Pérez-Moneo. "Prevalencia de Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto (GMSI) en una población urbana española". ***Haematologica (ed. esp.)* Octubre 2013; PC-223. LV Congreso Nacional de la SEHH.**

A.García Mateo, T. Contreras Sanfeliciano, JA. Queizán Hernández, H. Muñoz, B. Vidriales, B. Rosado Sierra, C. Navarro García de la Galana, SL. Valencia Castillo, C. Olivier Cornacchia, R. Fisac Herrero, J. Hernández Martín, MV. Mateos Manteca. "Prognostic value of Hevylite Chain® in a population cohort of Monoclonal Gammopathy of Uncertain Significance". ***Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia. September 2015, Volume 15, Supplement 3, Pages e192-e193. PO-193. 15th International Myeloma Workshop, 2015.*** <https://doi.org/10.1016/j.clml.2015.07.428>.

A. García Mateo, Navarro García de la Galana, T. Contreras Sanfeliciano, JA. Queizán Hernández, H. Muñoz, B. Vidriales, C. Olivier Cornacchia, R. Fisac Herrero, J. Hernández Martín, MV. Mateos Manteca. "Valor pronóstico de las Hevylite Chain® en una cohorte poblacional de Gammapatías Monoclonales de Significado Incierto". ***Haematologica* 2015; 100:S4. PC-080. LVII Congreso Nacional de la SEHH. Octubre 2015.**

A. García Mateo, C. Navarro García de la Galana, JC. Castillo Rosa, T. Contreras Sanfeliciano, S. Valencia Castillo, C. Olivier Cornacchia, JA. Queizán Hernández, MR. Caro Narros, R. Fisac Herrero, J. Hernández Martín, MV. Mateos Manteca. "Métodos de detección de la inmunoparesia: Hevylite Chain® vs nefelometría en una cohorte poblacional de pacientes con Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto". Poster 16-P. ***Haematologica* 2016. LVIII Congreso Nacional de la SEHH. Octubre 2016; P-16. DOI: 10.3252/pso.es.58SEHH.2016**

Aránzazu García Mateo, Teresa Contreras Sanfeliciano, Luzalba del Carmen Sanoja Flores, Noemí Puig, M^a Del Rosario Caro Narros, Carmen Olivier, José Antonio Queizán, María-Victoria Mateos, Alberto Orfao. "Prognostic Value of the Hevylite

Chain® assay in MGUS Patients: A Population Study". ***Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2018: Poster Abstract 4506.***

Sanoja-Flores Luzalba, Flores-Montero Juan, Paiva Bruno, Puig Noemí, García-Mateo Aránzazu, Garcés Juan Jose, García Omar, Corral-Mateos Alba, Burgos Leire, Pontes Roberia, Hernández-Martín José, Prosper Felipe, Merino Juana, Vidriales María Belén, García-Sanz Ramón, Palomera Luis, Ríos Rafael, Del Cañizo María Consuelo, Durie Brian, Mateos María Victoria, van Dongen Jacques-JM, San Miguel Jesús F., Orfao Alberto on behalf of the EuroFlow Consortium and the International Myeloma Foundation. "Frequency and number of clonal plasma cells in peripheral blood (PB) in plasma cell neoplasm (PCN) by Next Generation Flow". **Poster Abstract. XV Congress of the Sociedad Ibérica de Citometría, 2017.**

Sanoja-Flores, L., J. Flores-Montero, J. J. Garcés, B. Paiva, N. Puig, A. García-Mateo, O. García-Sánchez, et al. 2018. "Next Generation Flow for Minimally-Invasive Blood Characterization of MGUS and Multiple Myeloma at Diagnosis Based on Circulating Tumor Plasma Cells (CTPC)". ***Blood Cancer Journal 8 (12): 117.*** <https://doi.org/10.1038/s41408-018-0153-9>.

VIII. FINANCIACIÓN RECIBIDA

El estudio ha sido beneficiario de las siguientes becas de la Gerencia Regional de Salud del SACYL:

- Título: “Estudio de cohorte poblacional de Gammapatías de Significado Incierto en Segovia capital”, nº de registro: GRS 242/A/08 en 2008.
- Título: “Estudio del valor pronóstico de las células plasmáticas en sangre periférica detectadas mediante Citometría de Flujo de ocho colores en pacientes con Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto en la provincia de Segovia”, nº de registro: GRS 1250/A/16 en 2016.

El ensayo de Hevylite Chain® se ha realizado con el soporte del laboratorio The Binding Site.

IX. GLOSARIO DE ABREVIATURAS

Glosario de abreviaturas

Ac	Anticuerpos
Ag	Antígenos
AL	Amiloidosis primaria
ASO-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa alelo-especifica
CLL	Cadenas ligeras libres (Free Light Chain®)
CICr	Aclaramiento de la creatinina
CM	Componente monoclonal
CMF	Citometría de Flujo
CP	Células plasmáticas
CPc	Células plasmáticas clonales y con inmunofenotipo patológico
CPn	Células plasmáticas con inmunofenotipo normal
Cr	Creatinina
EEF	Espectro electroforético
EMR	Enfermedad mínima residual
FISH	Hibridación in situ con fluorescencia
GEP	Perfil de expresión génica
GM	Gammapatía monoclonal
GMSI	Gammapatía monoclonal de significado incierto
Hb	Hemoglobina
HLC	Cadena pesada-ligera de la Ig (Hevylite Chain®)
HR	Razón de riesgo
IFE	Inmunofijación electroforética.
Ig	Inmunoglobulina

IMWG	International Myeloma Working Group
LCP	Leucemia de células plasmáticas
MM	Mieloma múltiple
MMS	Mieloma múltiple asintomático smoldering
MO	Médula ósea
MW	Macroglobulinemia de Waldenström
NGF	Next Generation Flow
PET/TC	Tomografía por emisión de positrones/Tomografía axial computarizada
PETHEMA	Programa español de Tratamientos en Hematología
RM	Resonancia Magnética
SG	Supervivencia global
SLP	Supervivencia libre de progresión
SP	Sangre periférica
TC	Tomografía axial computarizada
TFG	Tasa de filtrado glomerular
TTP	Tiempo hasta la progresión

