

Impacto de las paraproteínas en la medición de la 25(OH)-vitamina D en pacientes con gammopatías monoclonales

Impact of Paraproteins on the Measurement of 25(OH)-Vitamin D in Patients with Monoclonal Gammopathies

Rubino, Cristabel¹; Serra, María Pía¹; Viale, María Lorena¹; Miller, Eliana¹; Labianca, Liliana¹; Lorenzón, María Victoria¹; Kozak, Andrea¹

¹Laboratorio de Endocrinología Hormonal y Genético, Hospital Italiano. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Cristabel, Rubino. Hospital Italiano, Pte. Perón 4190 (CP1199). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; gisela.rubino@hospitalitaliano.org.ar

Resumen

Introducción: La determinación de los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D (VitD) es clave para evaluar el metabolismo mineral, en especial, en pacientes con riesgo de alteraciones óseas, como los que padecen gammopatías monoclonales (GM), entre ellos, los de mieloma múltiple. Se ha observado que las paraproteínas, producidas por las células plasmáticas, pueden interferir en los inmunoensayos (IE) automatizados, utilizados para cuantificar VitD, generando resultados falsamente elevados o disminuidos, lo que entraña riesgos diagnósticos y terapéuticos. El tratamiento de las muestras con polietilenglicol al 25% (PEG) se ha propuesto como herramienta para precipitar inmunocomplejos y paraproteínas, ya que mejora la especificidad de los ensayos. El objetivo de este estudio fue evaluar la interferencia de las paraproteínas en la medición de VitD en pacientes con GM en un IE quimioluminiscente, antes y después del tratamiento con PEG, y analizar la relación entre el tipo y concentración de inmunoglobulinas (Ig) y el porcentaje de descenso de VitD. **Materiales y métodos:** Se llevó a cabo un estudio transversal en pacientes con y sin GM (grupo control). La medición se realizó en la plataforma Alinity (Abbott) procesando las muestras antes y después del tratamiento con PEG. **Resultados:** El 56% de los pacientes con GM presentó una disminución superior al 30% en los niveles de VitD después del tratamiento con PEG, fenómeno que no se observó en los controles. Se encontró una correlación positiva entre el porcentaje de descenso y la concentración de IgG. **Conclusiones:** Se recomienda interpretar cuidadosamente los valores de VitD en pacientes con GM y considerar el tratamiento con PEG en casos sospechosos de interferencia.

Palabras clave: 25-hidroxivitamina D; interferencia analítica; inmunoensayo; proteína monoclonal; paraproteínas, gammopatías monoclonales, mieloma múltiple.

Abstract

Introduction: Measuring serum 25-hydroxyvitamin D (VitD) levels is key to assessing mineral metabolism, especially in patients at risk of bone disorders, such as those with monoclonal gammopathies (MG), including multiple myeloma. Paraproteins produced by plasma cells have been observed to interfere with the automated immunoassays used to quantify VitD, generating falsely increased or decreased results, which leads to diagnostic and therapeutic risks. Treatment of samples with 25% polyethylene glycol (PEG) has been proposed as a tool to precipitate immune complexes and paraproteins, improving the specificity of the assays. **Aim:** The objective of this study was to evaluate the interference of paraproteins in the measurement of VitD in patients with MG, before and after treatment with PEG, and to analyze the relationship between the type and concentration of immunoglobulins with the percentage of VitD decrease. **Materials and Methods:** Prospective cross-sectional study in patients with and without GM (control group). Measurements were performed on the Alinity platform (Abbott), processing samples before and after PEG treatment. **Results:** 56% of patients with GM presented a decrease greater than 30% in VitD levels after PEG treatment, a phenomenon not observed in controls. A positive correlation was found between the percentage of decrease and Immunoglobulin G concentration. **Conclusions:** It is recommended to carefully interpret VitD values in patients with GM and to consider PEG treatment in suspected cases of interference.

Keywords: 25-hydroxyvitamin D; analytical interference; immunoassay; monoclonal gammopathies; monoclonal protein; paraproteins; multiple myeloma.

Introducción

Las gammopatías monoclonales (GM) son trastornos hematológicos caracterizados por la producción anormal de inmunoglobulinas (Ig) monoclonales o sus fragmentos (paraproteínas), que pueden inducir alteraciones clínicas y analíticas. Estas condiciones varían desde estadios benignos, como la gammapatía monoclonal de significado incierto (MGUS), hasta enfermedades potencialmente mortales, como las neoplasias linfoplasmocíticas (NLP), que incluyen el mieloma múltiple (MM) y la macroglobulinemia de Waldenström (MW)¹.

Alteraciones en el metabolismo fosfocálcico son frecuentes en las GM y aumentan el riesgo de fracturas debido a la disminución de la densidad ósea. Este hecho requiere un seguimiento del metabolismo mineral, en el que la medición de 25-hidroxivitamina D (VitD) es crucial para identificar posibles deficiencias y prevenir complicaciones asociadas¹⁻³.

Actualmente, la mayoría de los laboratorios utilizan inmunoensayos (Ie) automatizados para la medición de VitD debido a su disponibilidad, rapidez y relativa precisión. No obstante, diversos factores pueden interferir con la exactitud de estos ensayos; entre ellos, se destacan los anticuerpos endógenos, tales como los anticuerpos heterófilos, los anticuerpos dirigidos contra Ig animales utilizadas en los reactivos, el factor reumatoideo y, especialmente en el caso de las GM, las paraproteínas. La interferencia por inmunocomplejos se ha descrito en múltiples determinaciones hormonales (como prolactina, TSH, FSH, LH, calcitonina)². En el caso de la VitD, se han reportado resultados erróneamente elevados en pacientes con GM, discordantes con el cuadro clínico y con métodos de referencia, como la LC-MS/MS^{4,5}. En este contexto, el tratamiento de las muestras con polietilenglicol al 25% (PEG) se ha propuesto como herramienta útil para precipitar inmunocomplejos, paraproteínas y macromoléculas interferentes que mejora la especificidad de los Ie⁶. Aunque se ha estudiado su uso para eliminar interferencias en Ie, el mecanismo exacto del PEG y su eficacia en el dosaje de VitD en GM no están completamente confirmados.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la interferencia de la paraproteína en la medición de vitamina D, antes y después del tratamiento con polietilenglicol al 25%, en un inmunoensayo de quimioluminiscencia en la plataforma Alinity de Abbott en pacientes con gammopatías monoclonales. Los objetivos secundarios fueron: determinar si existe correlación entre el tipo de inmunoglobulina monoclonal y el grado de interferencia y evaluar la relación entre la concentración total de inmunoglobulina y el porcentaje de descenso (interferencia) posterior al tratamiento con polietilenglicol.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio observacional, transversal y prospectivo.

Recolección y procesamiento de las muestras

Las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos con anticoagulante EDTA, centrifugadas a 4200 rpm durante 10

Tabla I. Frecuencia del tipo de Ig y/o cadenas livianas libres de los pacientes con GM.

Tipo de Ig	Frecuencia
IgA-κ	4
IgA-λ	1
IgG-λ	9
IgG-κ	8
IgM-κ	3
IgM-λ	1
IgG-κ+L-κ	1
IgM-λ + L-λ	1
IgG-κ + IgA-κ	1
IgG-λ + L-λ	1
IgG	2
Total	32

► IgG, inmunoglobulina G; IgM, inmunoglobulina M; IgA, inmunoglobulina A; κ, cadenas livianas tipo kappa; λ, cadenas livianas tipo lambda; L- cadena libre.

minutos, procesadas en el día o almacenadas a -20°C hasta su análisis. Se midió la concentración de VitD (rango de referencia: deficiente: menor de 10 ng/mL; insuficiente: 10 a 30 ng/mL; suficiente: mayor de 30 ng/mL; toxicidad: mayor de 100 ng/mL) mediante le de quimioluminiscencia en la plataforma Alinity (Abbott).

Los proteinogramas séricos de todos los pacientes fueron realizados utilizando la plataforma Capillarys Flex Piercing 2 de Sebia. En todos los casos, las bandas monoclonales halladas en el proteinograma electroforético se confirmaron y tipificaron mediante el estudio de inmunofijación sérica usando la plataforma Hydrasys 2 de Sebia.

Se realizó el dosaje de las Ig séricas (IgG, IgA, IgM) mediante nefelometría en la plataforma Immage 800 (Beckman Coulter). Las cadenas livianas libres tanto kappa (κ) como lambda (λ) se dosaron mediante inmunoturbidimetría en la plataforma Optilite® de The Binding Site.

Se cargaron los datos en una planilla de cálculos, se ordenaron los pacientes según los resultados obtenidos del dosaje directo de VitD (CD), y del valor de Vit D posterior a la precipitación con PEG (CE) expresado como porcentaje de descenso, concentración y tipo de Ig. Los datos fueron recopilados del sistema de laboratorio y de la historia clínica electrónica.

Evaluación de la interferencia

Para la detección de interferencias, se utilizó la técnica de precipitación con PEG de peso molecular 6000 al 25% en una proporción 1:1 con la muestra; se homogeneizó y se centrifugó a 13.500 rpm por 10 minutos. Esta técnica permite precipitar macromoléculas o inmunocomplejos dejando en solución

Tabla II. Porcentaje de descenso y concentración de las distintas inmunoglobulinas en pacientes con gammopatías monoclonales

Pacientes	Conc. VitD directa (ng/mL)	Conc. VitD extraída (ng/mL)	Descenso (%)	IgG (VR:800-1700 mg/dL)	IgM (VR:70-400 mg/dL)	IgA (VR:50-300 mg/dL)	k libre (VR:3,3-19,4 mg/L)	l libre VR (5,71-26,3 mg/L)
1	154	9,2	94			3970	972,4	58,7
2	154,2	11,6	92,5	3862			8,6	340,4
3	160	51,4	67,9	3040				
4	154	16,6	89,2			3090		
5	160	17,6	89	6520			23,6	2,9
6	144,8	22	84,8	5260			7,6	109,7
7	28,5	6,4	77,5	5650			9,2	7,1
8	10,8	3,5	67,6	4010			96,8	6,4
9	14,5	4,8	66,9	6130			31,5	2058,9
10	46,3	18,1	60,9			8020	5,05	3980,0
11	18,7	7,8	58,3			1080	431,7	3,7
12	26,1	11,8	54,8		1420		35,8	22,5
13	24,4	11,2	54,1	3779			164,8	54,4
14	23,7	11,7	50,6		1840		46,5	31,8
15	48,8	26,5	45,7		1590		65,4	127,1
16	17,9	10	44,1	5200			31,9	1758,8
17	52,2	29,6	43,3	2160			120,6	19,4
18	22,5	15,2	32,4	4000			142,0	141,0
19	16,1	11,4	29,2		4037		11,2	1169,0
20	56	42	25	2670			15,3	23,1
21	39,8	30,2	24,1				25,7	33,8
22	39,5	31,2	21	5550			137,8	7,3
23	33,1	26,6	19,6	2331			15,3	37,2
24	24,3	20,8	14,4	2520			7814,0	19,2
25	39,4	34	13,7				62,5	10,4
26	19,4	17,5	10,9			2190	17,0	7,4
27	26	23,4	10	2450			90,1	10,3
28	54,3	49,6	8,7	2324			24,2	71,6
29	45,4	43	5,3	3370			131,1	3,8
30	32,1	30,4	5,3	904		388	45,2	24,5
31	30,2	28,7	5,2	3300			10,3	42,7
32	23,7	23,4	1,3		1840		46,5	31,8

► Conc.VitD, concentración de vitamina D; IgG, inmunoglobulina G; IgM, inmunoglobulina M; IgA, inmunoglobulina A; κ, cadenas livianas tipo kappa; , cadenas livianas tipo lambda; L- cadena libre.

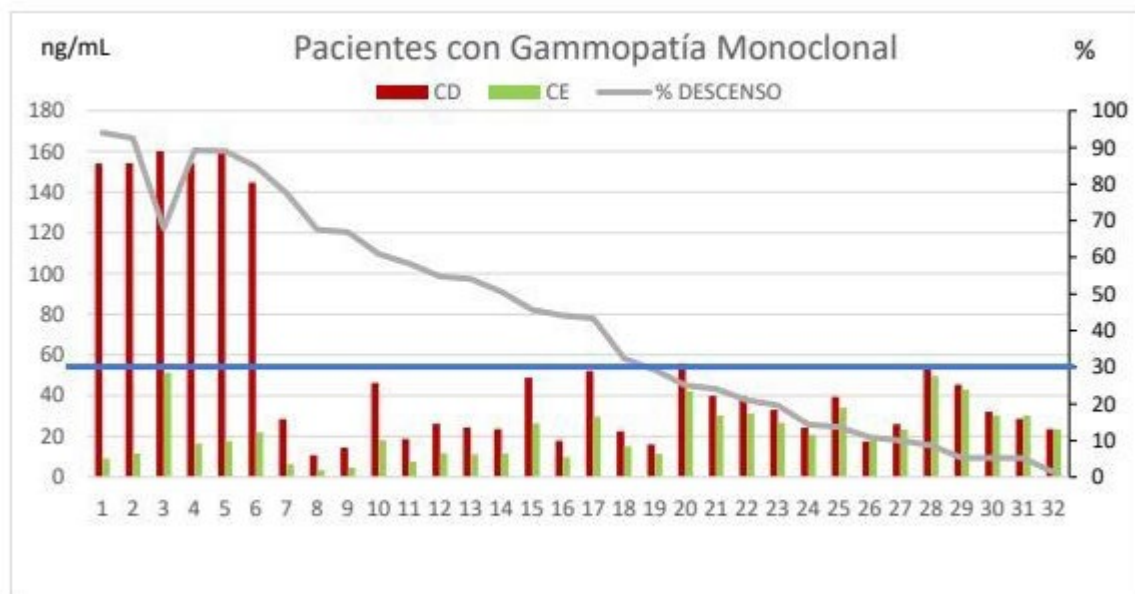
las fracciones no interferentes. La VitD se midió antes del tratamiento [concentración directa: CD] y después del tratamiento [concentración extraída: CE]. La CE es la concentración de VitD obtenida del equipo multiplicada por un factor:2 debido a la dilución con PEG.

Se calculó el porcentaje de descenso en los niveles de VitD tras el tratamiento con PEG utilizando la siguiente fórmula: porcentaje de descenso = 100 - (CE*100/CD).

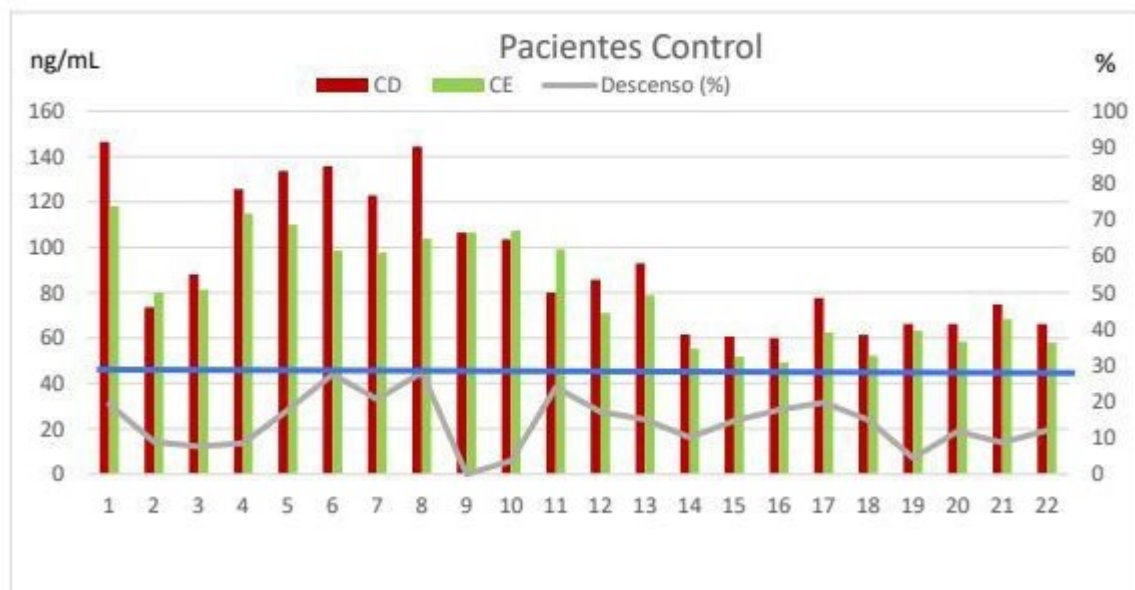
Se realizó un análisis de regresión lineal para evaluar la correlación entre el tipo de Ig monoclonal y el grado de interferencia y la relación entre la concentración total de inmunoglobulina y el porcentaje de descenso (interferencia) posterior al tratamiento. Los coeficientes se estimaron mediante mínimos cuadrados, y su significancia se evaluó mediante pruebas t. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$. El análisis se llevó a cabo con el software Jamovi.

Figura 1. Porcentaje de descenso de VitD posterior al PEG en pacientes con MM (A) y en pacientes sin MM (B).

A.



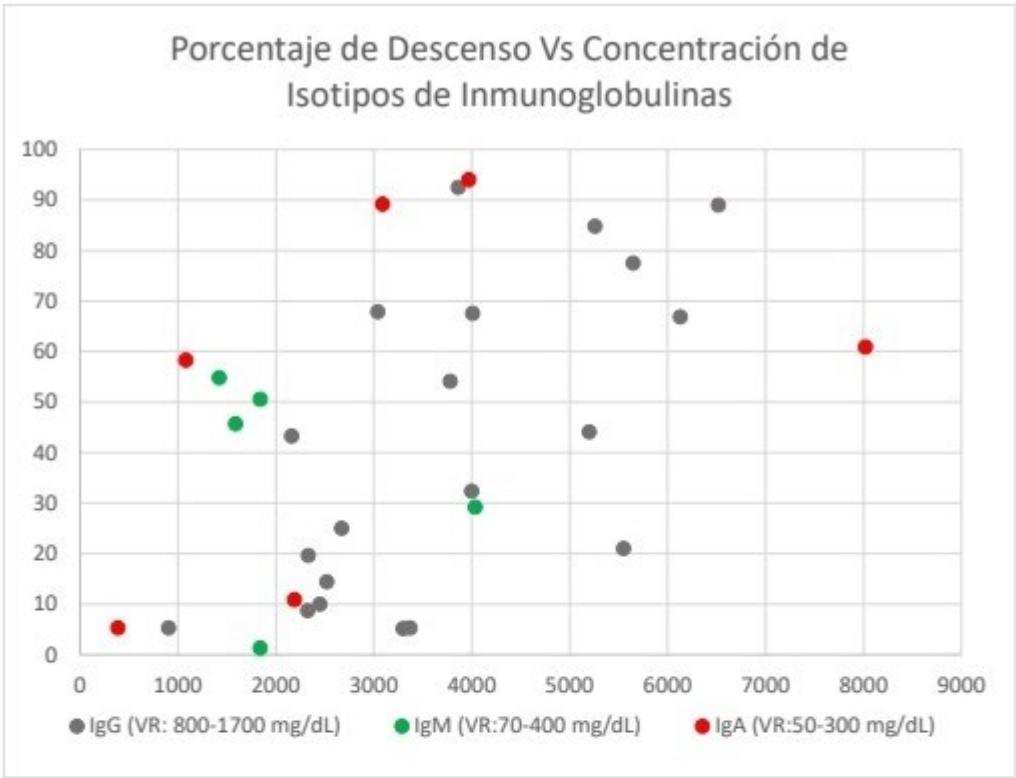
B.



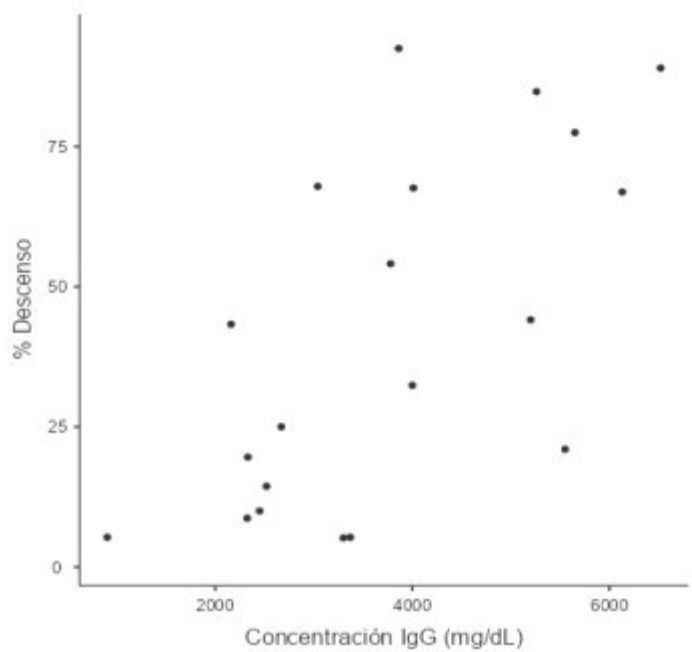
► A, Pacientes con gammopatía monoclonal; B, Pacientes control; CD, concentración directa; CE, concentración extraída.

Figura 2. Porcentaje de descenso vs. concentración de isotipos de inmunoglobulinas.

A.



B.



► IgG, inmunoglobulina G; IgM, inmunoglobulina M; IgA, inmunoglobulina A.da.

Resultados

Se incluyó un total de 61 pacientes de ambos sexos de un hospital privado de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires: 32 presentaban GM donde alguna de las Ig se encontraba por encima del valor de referencia al momento de la obtención de la muestra; 6 de ellos estaban bajo tratamiento para GM; 24, sin tratamiento y, en 2 pacientes, no se encontraron los datos en cuestión. Además, ninguno recibía suplementación con vitamina D. El grupo control fue de 29 individuos sin antecedentes de GM y/o enfermedades autoinmunes.

En 18 de los 32 pacientes con GM (56%), se observó un descenso superior al 30% en los niveles de VitD luego del tratamiento con PEG, en comparación con el valor directo (CD). En cambio, ninguno de los 29 controles presentó un descenso superior a este porcentaje, lo cual refuerza la hipótesis de que esta interferencia es específica de pacientes con GM [ver Figura 1].

En la Tabla I, se muestra la frecuencia de los isotipos de Ig de los pacientes con GM. En la Figura 2 (2A), se visualiza la distribución del tipo (IgG, IgM e IgA) y la concentración de Ig respecto del porcentaje de descenso de los datos presentados en la Tabla II. Mediante un análisis de regresión lineal, se encontró una correlación moderada, con $r=0,65$ [Tabla II], entre la concentración de IgG y la magnitud de la interferencia. En la Figura 2 (2B), no se observó dicha correlación con IgA e IgM.

Se consideró que una disminución de la concentración de VitD mayor del 30% era señal de una interferencia significativa, ya que, en los pacientes del grupo control, nunca se observó una caída de esa magnitud.

Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con investigaciones previas que reportan interferencias significativas en la medición de VitD utilizando inmunoensayos en pacientes con GM4-6. Hager et al.5 describieron la presencia de niveles falsamente elevados de VitD en pacientes con mieloma múltiple y macroglobulinemia de Waldenström, al utilizar determinadas plataformas de inmunoensayo. Estas mediciones analíticas no se correlacionaban con el estado clínico de los pacientes y fueron corregidas tras el tratamiento con PEG al 25% o mediante análisis por LC-MS/MS.

La interferencia inducida por paraproteínas puede originarse por varios mecanismos entre los cuales se incluyen: la unión inespecífica de Ig monoclonales a componentes del le (anticuerpos de captura o de detección); la formación de complejos inmunes que alteran la disponibilidad de la VitD para su detección; el aumento de la viscosidad de la muestra, lo cual puede interferir con la cinética de la reacción.

En este contexto, el uso de PEG se ha mostrado como una herramienta útil para identificar y mitigar estas interferencias. Sin embargo, debe destacarse que esta técnica no reemplaza los métodos de referencia, como LC-MS/MS, que proporciona una mayor especificidad y precisión al medir directamente las fracciones de VitD sin la interferencia de las proteínas séricas. No obstante, el acceso a LC-MS/MS no está disponible en los laboratorios de rutina por lo que conocer y aplicar técnicas de detección de interferencias, como el pretratamiento con PEG, puede ser fundamental en el

contexto clínico asistencial.

La interferencia en la medición de VitD en pacientes con GM es un fenómeno frecuente, con una prevalencia superior al 50% en nuestra cohorte, que puede llevar a errores diagnósticos significativos y resultar en decisiones terapéuticas inapropiadas. El tratamiento de las muestras con PEG permitió identificar y confirmar estas interferencias, lo que demuestra la utilidad de este procedimiento en la detección de errores en los resultados analíticos.

El análisis de este estudio también reveló que los niveles de IgG están significativamente asociados ($P=0.002$) con el grado de interferencia observado, expresado como porcentaje de descenso en los niveles de VitD. Sin embargo, este modelo explica únicamente un 42% de la variabilidad en la interferencia ($r^2 = 0.42$) dejando más de la mitad de la variabilidad sin explicación, posiblemente debido a la influencia de otras variables no evaluadas en este estudio. La falta de correlación con las inmunoglobulinas IgA e IgM podría atribuirse a su baja frecuencia en la cohorte estudiada, así como a la imposibilidad de analizar las cadenas livianas, que podrían tener un impacto relevante. Para obtener una comprensión más completa de los factores que contribuyen a estas interferencias, será necesario ampliar el tamaño de la muestra en estudios futuros.

En conclusión, sugerimos que, en casos de mediciones de VitD en pacientes con gammopatías monoclonales —en particular, cuando los resultados no se correlacionan con el estado clínico del mismo— se considere la posibilidad de presencia de interferencia. En estos casos, el uso de técnicas confirmatorias, como el tratamiento con PEG o, de ser posible, la medición mediante LC-MS/MS, es fundamental para optimizar el diagnóstico y el seguimiento de estos pacientes. Esto contribuirá a evitar intervenciones terapéuticas inadecuadas mejorando el manejo clínico y reduciendo el riesgo de tratamientos innecesarios.

Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Referencias bibliográficas

1. Eslick R. Multiple myeloma: from diagnosis to treatment. *Aust Fam Physician*. 2013;42(10):684-8. PMID: 24130968
2. Ghazal K. Hormone Immunoassay Interference: A 2021 Update. *Ann Lab Med*. 2022;42(1):3-23. <https://doi.org/10.3343/alm.2022.42.1.3>
3. Van Driel M. Vitamin D and Bone: A Story of Endocrine and Auto/Paracrine Action in Osteoblasts. *Nutrients*. 2023;15(3):480. <https://doi.org/10.3390/nu15030480>
4. Ong MWS. Artefactual 25-OH vitamin D concentration in multiple myeloma. *Ann Clin Biochem*. 2017;54(6):716-20. <https://doi.org/10.1177/0004563217690175>
5. HB H. Falsely markedly elevated 25-hydroxyvitamin D in patients with monoclonal gammopathies. *Clin Chem Lab Med*. 2020;59(4):663-9. <https://doi.org/10.1515/ccclm-2020-1411>
6. Rico Ríos N. Elevated Vitamin D leading to an Incidental Diagnosis of Multiple Myeloma. *Ann Clin Biochem*. 2024;0(0):1-6. <https://doi.org/10.1177/00045632241306063>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución -No Comercial- Compartir Igual 4.0 Internacional. Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.