



En la imagen se muestran los resultados del inmunotipado (IT) e inmunofijación (IF) del suero de una paciente en el que se apreció un pequeño componente monoclonal (CM) en el proteinograma. Como se observa en el panel A, el pico correspondiente al CM desaparece en todas las combinaciones de inmunoglobulinas, sugiriendo una polimerización que es necesaria resolver<sup>1,2</sup>. Este resultado se confirmó mediante una IF (figuras B y C). Como se puede observar en el panel B, existe inmunoprecipitación de inmunoglobulinas en todos los pocillos, independientemente del anticuerpo empleado. Esto se debe a que el elevado peso molecular de los polímeros dificulta su movimiento en el gel. En cambio, cuando esos polímeros se hacen desaparecer mediante el uso de un agente reductor (acetilcisteína), las moléculas de inmunoglobulinas recuperan su estructura monomérica y movilidad, permitiendo la identificación de un CM IgM-lambda (figura C).

Los CM suelen aparecer en el proteinograma como un pico adicional en la región gamma, o con menos frecuencia en las regiones beta o alfa. La aparición de dichos picos obliga a confirmar su naturaleza monoclonal, así como a determinar las inmunoglobulinas que lo componen<sup>3</sup>. En la actualidad, las técnicas comúnmente empleadas con este objetivo son la inmunofijación en gel de agarosa y el inmunotipado utilizando electroforesis capilar. En ambos casos se emplean anticuerpos que reconocen un isotipo concreto de inmunoglobulina. En el caso de la inmunofijación, tras someter a las proteínas a una separación electroforética en gel, estas se enfrentan a distintos anticuerpos que reconocerán específicamente cada isotipo de las inmunoglobulinas precipitando en el gel. Posteriormente, la presencia del precipitado se pondrá de manifiesto mediante una tinción de proteínas<sup>1</sup>. Por el contrario, en el

Figure shows immunotyping (IT) and immunofixation (IF) results from a Patient's serum that showed a small monoclonal component (MC) using protein capillary electrophoresis. As noted in panel A, MC peak disappears after incubation with every immunoglobulin isotype antibody. This image suggested a polymerization artifact which must be resolved<sup>1,2</sup>, which was confirmed using immunofixation (figures B and C). Panel B shows immunoprecipitation in each lane, regardless of the tested immunoglobulin. This is due to the polymer's high molecular weight, which prevents its movement along the gel. On the contrary, when immunoglobulins are depolymerized using a chemical compound that reduces disulfide bonds, such as acetylcysteine, they recover their monomer structure and mobility, allowing identification of an IgM-lambda MC (figure C).

MC usually show up after protein electrophoresis as an extra peak in the gamma region, or less frequently in beta or alpha. The monoclonal nature of these peaks must be confirmed, as well as their composition<sup>3</sup>. Nowadays, the most commonly used techniques are agarose gel immunofixation and capillary electrophoresis immunotyping. Both use specific antibodies that recognize each immunoglobulin isotype. Electrophoresis followed by incubation with anti-isotype antibodies is the standard procedure for the immunofixation technique. Immunoglobulin precipitates are then developed using protein staining, such as Coomassie Blue<sup>1</sup>. On the contrary, immunotyping uses incubation with antibodies directed against each isotype before electrophoresis. The formed immunocomplexes migrate between albumin and alpha 1 region and therefore do not appear at their previous location. Thus, the missing peak corresponds to the MC that is now located between albumin and alpha 1 region. MC identification is made by direct comparison between

inmunotipado previo a la electroforesis, se enfrenta el suero del paciente con anticuerpos dirigidos a cada uno de los isotipos de las inmunoglobulinas. Posteriormente, durante la electroforesis, los inmunocomplejos formados migrarán entre la banda de la albúmina y alfa 1, desapareciendo de la región en la cual se encontraba el CM anteriormente. La comparación entre la electroforesis de referencia con la que se produce tras la incubación con los anticuerpos permite la identificación de los isotipos de inmunoglobulinas implicados<sup>2</sup>.

En la analítica solicitada a la paciente para valorar una artritis de larga evolución, no se observaron alteraciones hematológicas, ni en la función hepática, renal o hipercalcemia. Los anticuerpos antinucleares fueron negativos y el factor reumatoide menor de 10 UI/mL. En el proteinograma sérico se observó un pequeño CM equivalente a 0,2 g/L cuya resolución mediante técnicas de IT e IF se muestran en la figura. El componente monoclonal detectado en nuestra paciente es claramente inferior al establecido para considerar el diagnóstico de un mieloma múltiple (3 g/L)<sup>4</sup>. Asimismo, no se detectaron alteraciones orgánicas relacionadas con la proliferación de las células plasmáticas (anemia, hipercalcemia, daño renal o lesiones óseas). Por lo tanto, en ausencia de estudio medular que permita cuantificar la plasmocitosis medular, o imágenes sugestivas de un plasmocitoma, el diagnóstico más probable de esta paciente sería una gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI).

La actitud terapéutica ante una GMSI suele ser de vigilancia debido a posibilidad de progresión hacia mieloma múltiple que ocurre en el 0,5-1% de los pacientes.

Por lo tanto, es importante conocer los posibles artefactos que pueden ocasionar las diferentes formas

the reference electropherogram and every immunoglobulin tested<sup>2</sup>.

Blood tests were requested due to long evolution arthritis. Hematology, kidney and liver tests results were within normal reference values. Calcium serum level was normal. Nuclear antibodies tested negative and rheumatoid factor was below 10 UI/mL. Serum protein electrophoresis showed a small MC corresponding to 0,2 g/L, whose resolution using IT and IF is showed in the figure. This MC is clearly below the established 3 g/L by guidelines in order to diagnose a multiple myeloma<sup>4</sup>. Moreover, no organic damage due to plasma cell proliferation (anemia, hypercalcemia, and kidney damage or bone lesions) was found. Thus, given the lack of a bone marrow morphological analysis that might have quantified the amount of plasma cells, or images that suggested the presence of a plasmacytoma, the most probable diagnosis is a monoclonal gammopathy of unknown significance (MGUS). 0,5-1% of the MGUS diagnosed patients develop a multiple myeloma. Thus, monitoring of these patients is the standard practice.

Knowledge of the different immunoglobulin polymorphisms is important in order to allow correct identification of MC.

moleculares de las inmunoglobulinas, los cuales pueden dar lugar a una identificación errónea del CM.

### Bibliografía/References:

1. David F. Keren. Immunofixation, immunotyping and immunoselection techniques. En: Protein electrophoresis in clinical diagnosis. 1<sup>a</sup> edición. Londres: Hodder Arnold. 2003. p 33-62.
2. Guía técnica Capillarys immunotyping. Barcelona. SEBIA Hispania S.A. 2005. p7.
3. Maria A.V. Willrich, Jerry A. Katzmann. Laboratory testing requirements for diagnosis and follow-up of multiple myeloma and related plasma cell dyscrasias. Clin Chem Lab Med 2016; 54(6): 907–919.
4. S. Vincent Rajkumar. Multiple Myeloma: 2014 update on diagnosis, risk-stratification and management. Am. J. Hematol 2014; 89 (10): 999-1009.