

## CASO CLÍNICO

# Presentación de estudios realizados por Electroforesis e Inmunofijación en muestras de suero y orina de pacientes con "Discrasia de células plasmáticas"

Santoro, S.A.

Sector Proteínas, Laboratorio Central, H.I.G.A.Gral.San Martín. La Plata, Bs.As., Argentina.

**Contacto:** Santoro S.A.; silvinasantoro@hotmail.com

## RESUMEN

Fisiológicamente las células plasmáticas secretan un exceso de cadenas livianas que son eliminadas por riñón. En un desorden inmunoproliferativo de células plasmáticas, se sintetizan cadenas livianas en mayor cantidad y de naturaleza monoclonal que, al eliminarse en la orina, constituyen la proteinuria de tipo mielomatosa o proteinuria de Bence-Jones -Objetivo: presentar los estudios realizados en muestras de suero y orina de pacientes con "Discrasia de células plasmáticas", por técnicas de Electroforesis e Inmunofijación. Se utilizaron muestras de suero fresco y alícuotas de orina de 24 horas concentradas. Las electroforesis y las inmunofijaciones de las muestras de suero y orina concentradas se realizaron en soportes de agarosa, y la cuantificación de inmunoglobulinas se realizó por nefelometría. Se obtuvieron las imágenes de los estudios de electroforesis de suero y orina con presencia de Banda Homogénea, y de inmunofijaciones de suero y orina con Componente Monoclonal de las muestras procesadas. En la presentación de estos estudios se evidencia que la técnica de inmunofijación permite confirmar y tipificar la/las Bandas Homogéneas observadas en la electroforesis.

**Palabras clave:** electroforesis, inmunofijación, banda homogénea, componente monoclonal, proteinuria de Bence-Jones.

## ABSTRACT

Physiologically plasma cells secrete an excess of light chains that are eliminated by the kidney. In a plasma cell immunoproliferative disorder, light chains are synthesized in greater quantity and monoclonal nature, to be eliminated in the urine, proteinuria are myelomatoid type or Bence-Jones proteinuria. To show studies in serum and urine samples of patients with "plasma cell dyscrasia" by techniques electrophoresis and immunofixation. Samples of fresh serum and and 24 hour urine concentrated aliquots were employed. Electrophoresis and immunofixation of serum and concentrated urine were performed on agarose supports, and immunoglobulin quantitation was performed by nephelometry. Images of serum and urine electrophoresis with the presence of homogeneous band, and serum and urine immunofixations with monoclonar components were obtained of processed samples. In the presentation of these studies are evidence that the technique of immunofixation confirms and criminalize the Homogeneous bands observed in electrophoresis.

**Keywords:** electrophoresis, immunofixation, homogeneous strip, monoclonal component, Bence-Jones proteinuria.

ISSN 1515-6761 Ed. Impresa  
ISSN 2250-5903 Ed. CD-ROM  
Código Bibliográfico: RByPC  
Fecha de Recepción:  
08/09/2014  
Fecha de Aceptación:  
24/10/2014

## Introducción

Fisiológicamente las células plasmáticas secretan un exceso de cadenas livianas que son eliminadas por riñón<sup>1</sup>. En un desorden inmunoproliferativo de células plasmáticas se sintetizan cadenas livianas en mayor cantidad y de naturaleza monoclonal que, al eliminarse en la orina, constituyen la proteinuria de tipo mielomatosa o proteinuria de Bence-Jones<sup>2</sup>. Las cadenas libres monoclonales habitualmente se presentan como monómeros o dímeros<sup>1</sup>, pero también puede encontrárselas como multímeros. Las CLM se detectan por el

uroproteinograma en gel de agarosa y se confirman e identifican por inmunofijación (IF). La IF es un método de gran sensibilidad y especificidad que permite confirmar la presencia de componente monoclonal (CM) en suero y orina, incluso las ténues bandas homogéneas como así también aquellas que migran en moviidades atípicas o solapadas con alguna de las múltiples bandas en la electroforesis (EF), y tipificarlas.

El objetivo de este trabajo es presentar los estudios realizados en muestras de suero y orina de cinco pacientes con "Discrasia de células plasmáticas" a células B por técnicas de EF e IF.

**Materiales y métodos**

**Sujeto experimental:**

Muestras de suero fresco y orina de 24 hs.remitidas al laboratorio para su procesamiento, de pacientes con discrasia de células plasmáticas provenientes de diversos servicios del hospital (internados y consultorio externo) y derivaciones de otros hospitales. Las muestras de orina de 24 horas fueron concentradas en concentradores marca PRO-CHEM de acuerdo a la proteinuria de las mismas dosadas en el sector Orinas del Laboratorio (con la técnica de Rojo de Pirogalol en el autoanalizador BT 3000 plus).

**Equipamiento, reactivos y procedimiento:**

Las EF de las muestras de suero y orina concentradas se realizaron en soportes de agarosa en el equipo de electroforesis Microgel (INTERLAB, Italia), utilizando el kit comercial SEROPROTEINAS B-1/B-2. Las IF de las mismas se realizaron con el mismo equipamiento, utilizando el kit comercial IMMUNOFIJACION N.4 VIOLETA ACIDO. La cuantificación de inmunoglobulinas se realizó por Nefelometría con el equipo IMAGE 800 (BECKMAN COULTER,USA).

Las proteínas totales y albúmina séricas fueron dosadas en el sector Química del Laboratorio, con las técnicas de Biuret y Verde de Bromocresol respectivamente, en el autoanalizador BT TARGA (WIENER LAB- ROSARIO- ARGENTINA).

**Valores de referencia en suero:**

Para proteínas totales de 60 a 80 g/l, para albúmina de 36 a 46 g/l, para IgG de 750 a 1600 mg/dl, para IgA de 80 a 450 mg/dl, para IgM de 45 a 300 mg/dl, para kappa de 629 a 1350 mg/dl y para lambda de 313 a 723 mg/dl. Tabla I.

**Valores de referencia en orina:**

Para kappa menor a 1,85 mg/dl y para lambda menor a 5 mg/dl. Tabla II.

**Resultados**

**Paciente 1:**

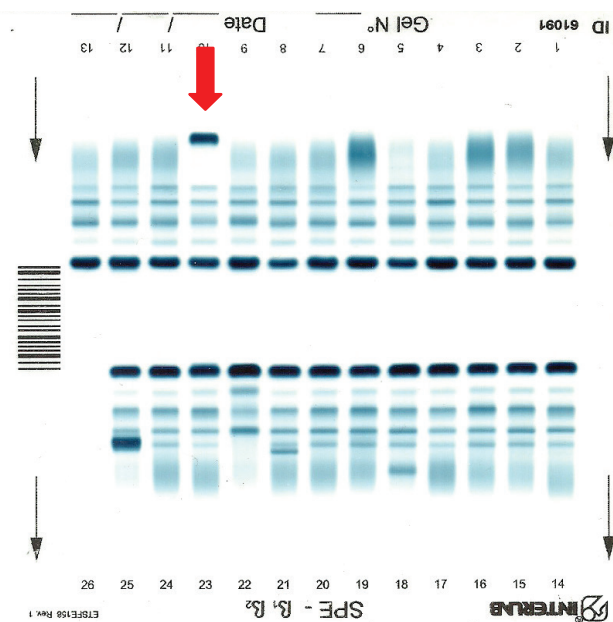
Paciente que presenta en suero proteínas totales de 98

g/l y albúmina de 35 g/l. En el proteinograma electroforético se observa una Banda Homogénea (BH) de movilidad lenta, que representa el 39 % de las proteínas totales (por densitometría) equivalente a 40g/l. El resultado del dosaje de inmunoglobulinas por nefelometría es: IgG 4119 mg/dl, IgA menor de 24 mg/dl, IgM menor de 18 mg/dl. Figura 1.

Se realiza IF en suero confirmando la presencia de un CM IgG Kappa. Figura 2.

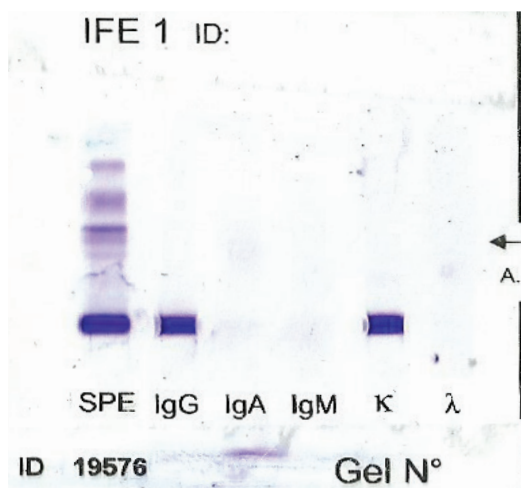
La orina de este paciente resulta positiva + (0,3 g/l) para proteínas en la tira reactiva de orina (no se dosó la proteinuria total por métodos cuantitativos ni se cuantificaron las cadenas livianas).

**Figura 1.** Electroforesis en suero efectuado en agarosa.



El proteinograma señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 1

**Figura 2.** Inmunofijacion en suero efectuada en agarosa.



Inmunofijacion correspondiente al suero del paciente 1

Tabla I. Valores de referencia en suero.	
Proteínas totales	60-80 g/l
Albúmina	36 – 46 g/l
IgG	750 – 1600 mg/dl
IgA	80 – 450 mg/dl
IgM	45 – 300 mg/dl
KAPPA	629 – 1350 mg/dl
LAMBDA	313 – 723 mg/dl

Tabla II. Valores de referencia en orina.	
KAPPA	Menor de 1,85 mg/dl
LAMBDA	Menor de 5 mg/dl

Con la orina de 24 horas concentrada se realiza un Uroproteinograma en agarosa, cuyo resultado es: Proteinuria de tipo mielomatosa. Figura 3.

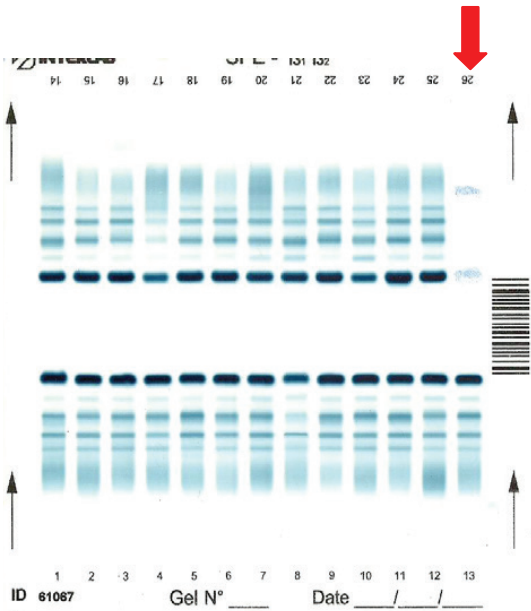
Se realiza también en esta muestra IF, evidenciándose cadenas livianas de tipo Kappa monoclonal [Bence Jones

positiva]. Figura 4.

**Paciente 2:**

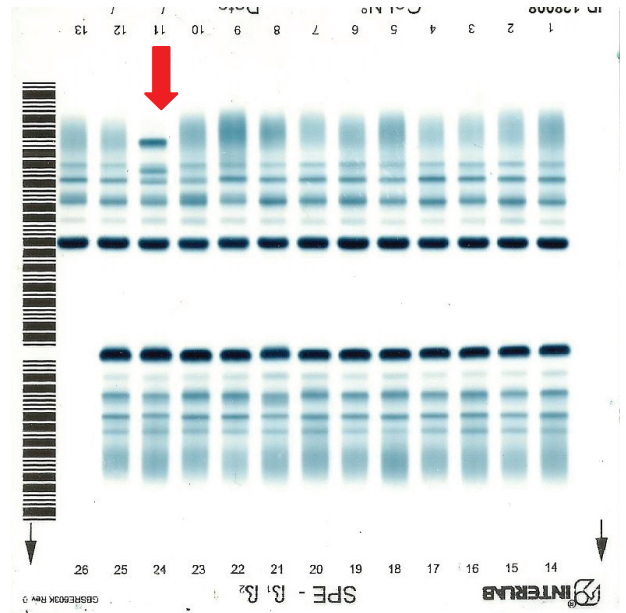
Paciente que presenta en suero proteínas totales de 65 g/l y albúmina de 36 g/l. En el proteinograma electroforé-

**Figura 3.** Electroforesis en orina concentrada efectuada en agarosa.



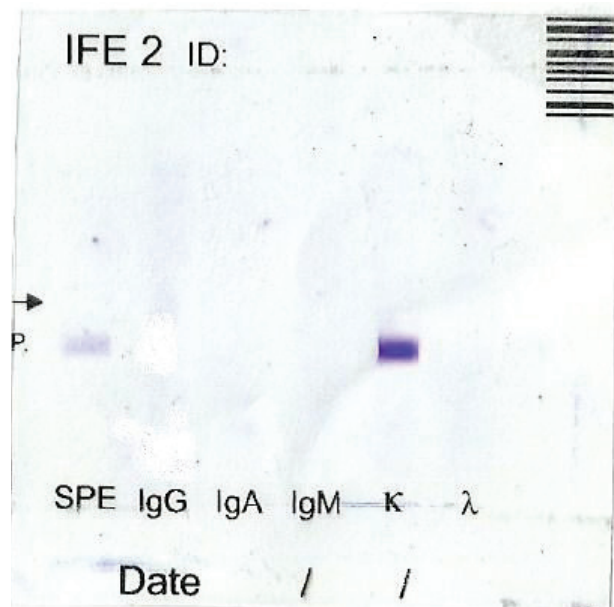
El uroproteinograma señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 1

**Figura 5.** Electroforesis en suero efectuado en agarosa.



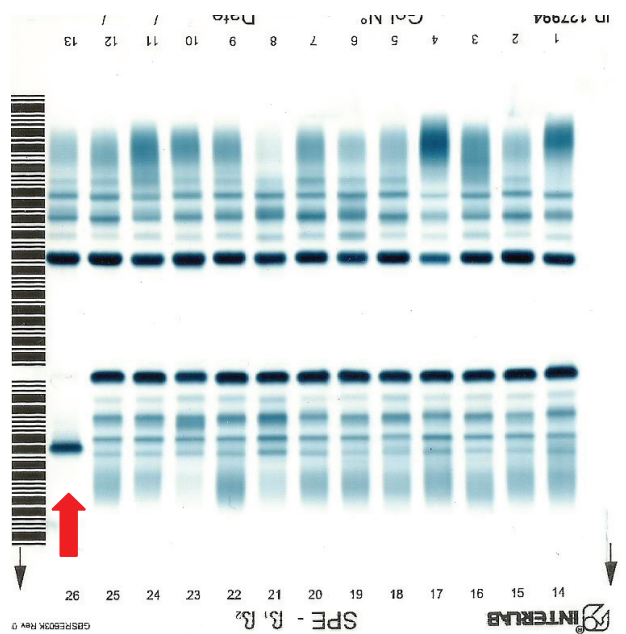
El proteinograma señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 2

**Figura 4.** Inmunofijación en orina concentrada efectuada en agarosa.



Inmunofijación correspondiente a la orina concentrada del paciente 1

**Figura 6.** Electroforesis en orina concentrada efectuada en agarosa.



El uroproteinograma señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 2

tico se observan dos BH: una de movilidad gamma rápida, que representa el 16% de las proteínas totales [por densitometría] equivalente a 10 g/l, y la otra de aproximadamente 6% de las proteínas totales equivalente a 4 g/l con movilidad solapada con la fracción Beta-2. El resultado del dosaje de inmunoglobulinas por nefelometría es: IgG 1290 mg/dl, IgA 17 mg/dl, IgM 37 mg/dl. Figura 5.

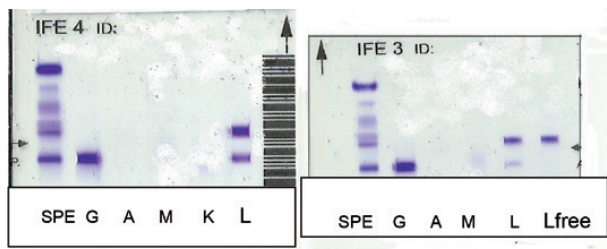
La orina de este paciente posee trazas de proteínas (0.1g/l) en la tira reactiva de orina [no se dosó la proteinuria total por métodos cuantitativos]. La cuantificación de cadenas livianas en la misma resuta: Kappa inferior a 1.85 mg/dl y Lambda 891 mg/dl.

Con la orina de 24 horas concentrada se realiza un Uroproteinograma en agarosa, cuyo resultado es: Proteinuria de tipo mielomatosa. Figura 6.

Se realiza IF en el suero confirmando la presencia de CM IgG Lambda y cadenas livianas Lambda libre [correspondiendo a las dos BH observadas en el proteinograma electroforético] Figura 7.

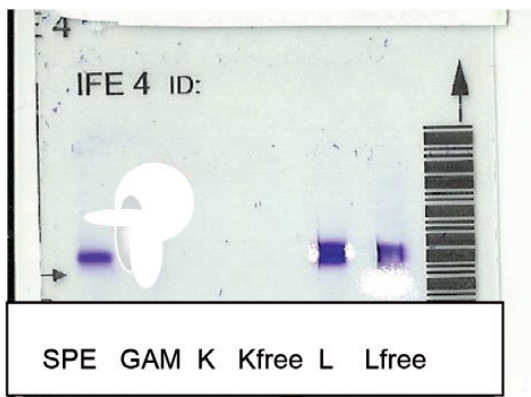
Se realiza también IF de la muestra de orina, evidenciándose cadenas livianas Lambda "libres" monoclonal [Bence Jones positiva]. Figura 8.

**Figura 7.** Inmunofijación en suero efectuada en agarosa.



Inmunofijación correspondiente al suero del paciente 2

**Figura 8.** Inmunofijación en orina concentrada efectuada en agarosa.

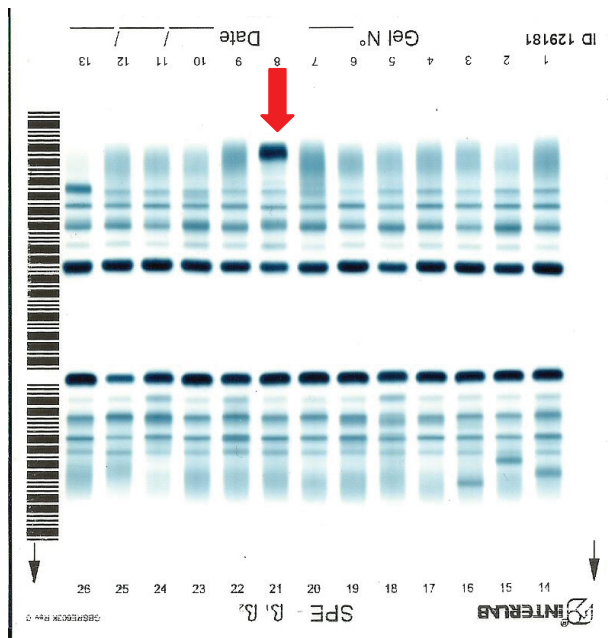


Inmunofijación correspondiente a la orina concentrada del paciente 2

**Paciente 3:**

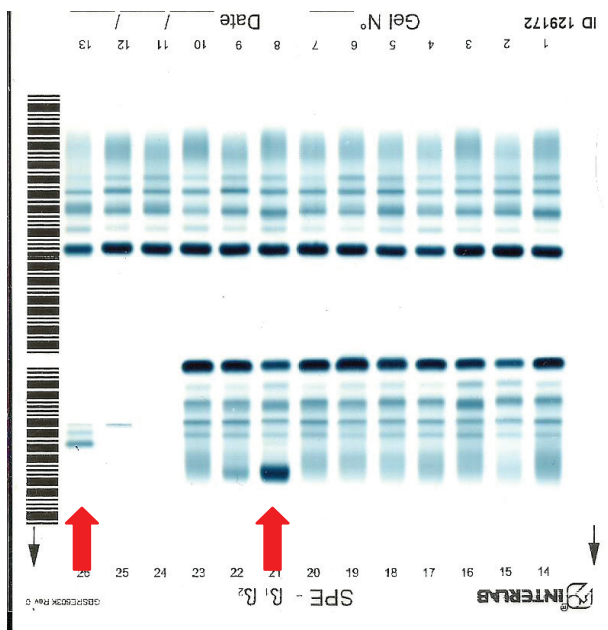
Paciente que presenta en suero proteínas totales de 104 g/l y albúmina de 26 g/l. En el proteinograma electroforético se observa una BH de movilidad lenta que representa el

**Figura 9.** Electroforesis en suero efectuado en agarosa.



El proteinograma señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 3

**Figura 10.** Electroforesis en suero y orina concentrada efectuada en agarosa.



El proteinograma [pos.21] señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 3

El uroproteinograma [pos.26] señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 3

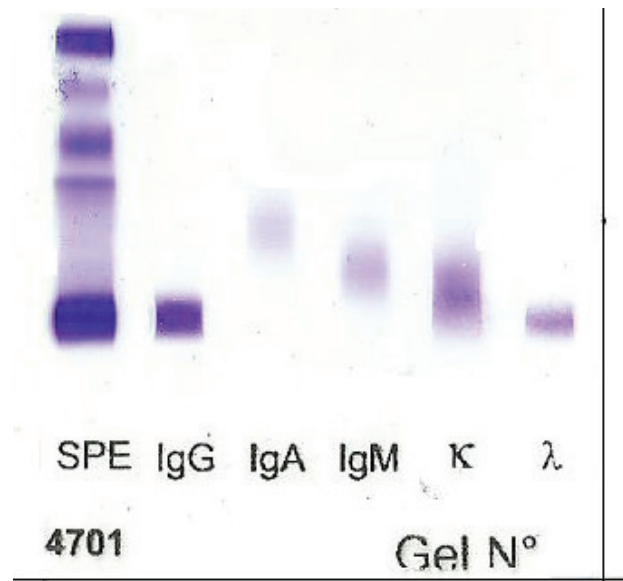
48 % de las proteínas totales [por densitometría] equivalente a 50 g/l. El resultado del dosaje de inmunoglobulinas por nefelometría es: IgG 4360 mg/dl, IgA 61 mg/dl, IgM 112 mg/dl. Y de cadenas livianas: Kappa 420 mg/dl y Lambda 669 mg/dl. Figura 9.

La orina de este paciente tiene una proteinuria total por métodos cuantitativos de 0,27 g/l.

Con la orina de 24 horas concentrada se realiza un Uroproteinograma en agarosa, cuyo resultado es: Proteinuria de tipo mielomatosa [con presencia de dos BH]. Figura 10.

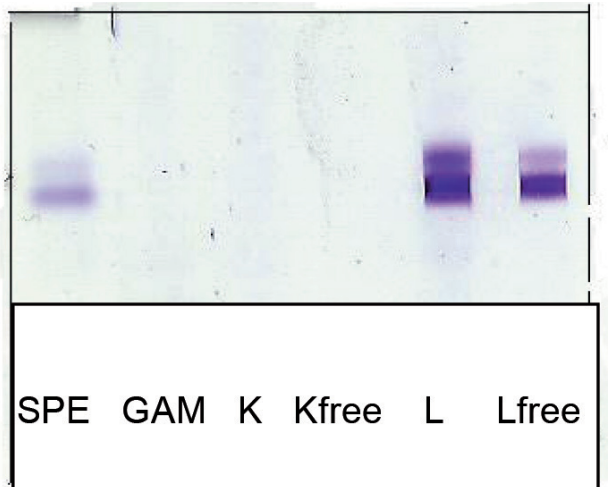
Se realiza IF en el suero confirmando la presencia de CM IgG Lambda. Figura 11.

**Figura 11.** Inmunofijación en suero efectuada en agarosa.



Immunofijación correspondiente al suero del paciente 3

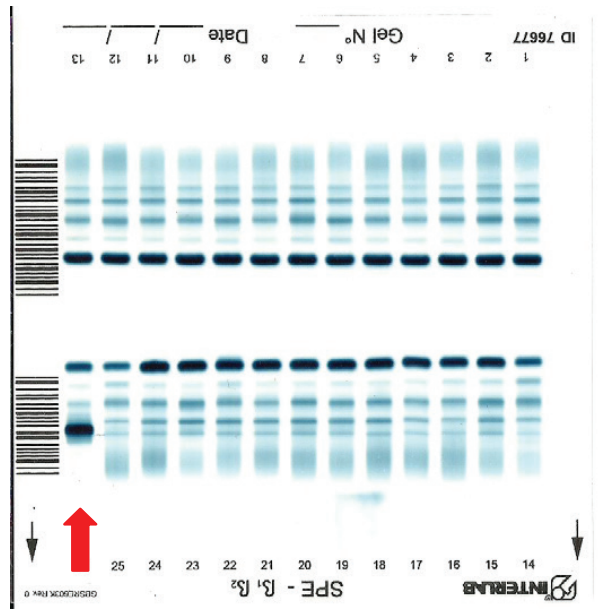
**Figura 12.** Inmunofijación en orina concentrada efectuada en agarosa.



Immunofijación correspondiente a la orina concentrada del paciente 3

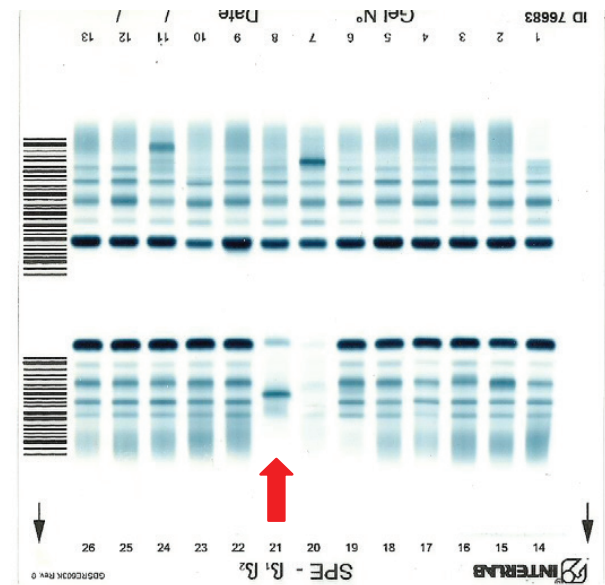
Se realiza también IF de la muestra de orina concentrada, observándose identidad inmunológica tanto con el antisuero antiLambda total y libre, con presencia de 2 bandas en Lambda libres [posiblemente monómero y dímero] [Bence Jones positiva]. Figura 12.

**Figura 13.** Electroforesis en suero efectuada en agarosa.



El proteinograma señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 4

**Figura 14.** Electroforesis en orina concentrada efectuada en agarosa.



El uroproteinograma señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 4

**Paciente 4:**

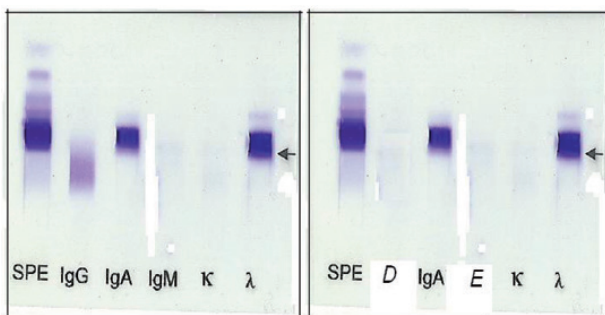
Paciente que presenta en suero proteínas totales de 160 g/l y albúmina de 20 g/l. En el proteinograma electroforético se observa una BH de movilidad rápida que representa el 62 % de las proteínas totales [por densitometría] equivalente a 100 g/l. El resultado del dosaje de inmunoglobulinas por nefelometría es: IgG 193 mg/dl, IgA 11600 mg/dl, IgM 11 mg/dl. Figura 13.

La orina de este paciente tiene una proteinuria total por métodos cuantitativos de 0,87 g/l. La cuantificación de cadenas livianas en la misma resulta: Kappa inferior a 1,85 mg/dl y Lambda 60.3 mg/dl.

Con la orina de 24 horas concentrada se realiza un Uroproteinograma en agarosa, cuyo resultado es: Proteinuria de tipo mielomatosa [con presencia de dos BH]. Figura 14.

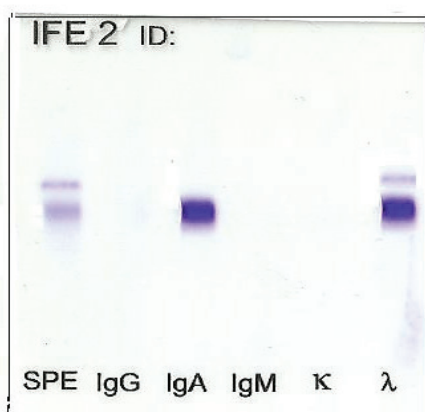
Se realiza IF en el suero confirmando la presencia de CM IgA Lambda correspondiente a la BH observada en el proteinograma y se detectan además cadenas livianas Lambda de movilidad postBeta-2. Para caracterizar estas últimas

**Figura 15.** Inmunofijación en suero efectuada en agarosa.



Inmunofijación correspondiente al suero del paciente 4

**Figura 16.** Inmunofijación en orina concentrada efectuada en agarosa.



Inmunofijación correspondiente a la orina concentrada del paciente 4

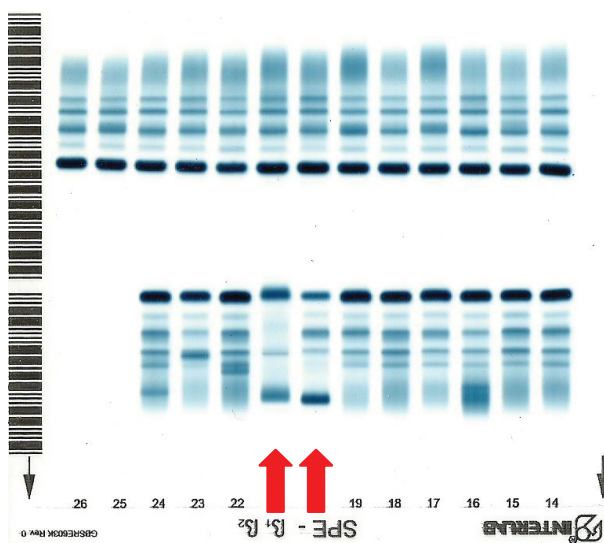
como cadenas livianas "libres", se prueban antisueros anti-D y E [no antisueros K y L free disponibles]. Figura 15.

Se realiza también IF de la muestra de orina concentrada, observándose Inmunoglobulina completa [IgA Lambda] + cadena liviana Lambda "libre" monoclonal. [Bence Jones positiva] Figura 16.

**Paciente 5:**

Paciente que presenta en suero proteínas totales de 51 g/l y albúmina de 17 g/l. En el proteinograma electroforético se observa una BH de movilidad lenta que representa el 40 % de las proteínas totales [por densitometría] equivalente

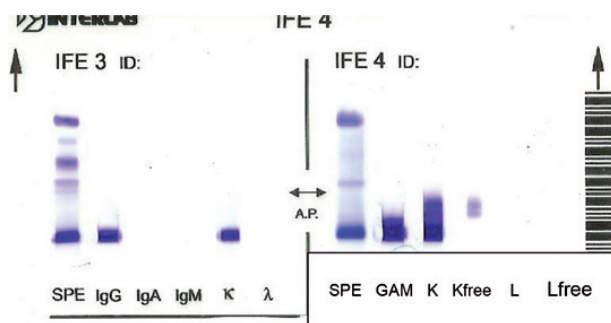
**Figura 17.** Electroforesis en suero y orina efectuada en agarosa.



El proteinograma [pos.20] señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 5

El uroproteinograma [pos.21] señalado con la flecha roja es el perteneciente al paciente 5

**Figura 18.** Inmunofijación en suero y orina efectuada en agarosa.



Izquierda::Inmunofijación correspondiente al suero del paciente 5

Derecha: Inmunofijación correspondiente a la orina concentrada del paciente 5

a 20 g/l. El resultado del dosaje de inmunoglobulinas por nefelometría es: IgG 2600 mg/dl, IgA 26 mg/dl, IgM 27 mg/dl. Y de cadenas livianas: Kappa 3190 mg/dl y Lambda 112 mg/dl. Figura 17.

La orina de este paciente tiene una proteinuria total por métodos cuantitativos de 5,17 g/l. La cuantificación de cadenas livianas en la misma resuta: Kappa 463 mg/dl y Lambda 15 mg/dl.

Con la orina de 24 horas se realiza un Uroproteinograma en agarosa, cuyo resultado es: Proteinuria de tipo glomerular con presencia de BH en región gamma. Figura 17.

Se realiza IF en suero confirmando la presencia de CM IgG Kappa. Figura 18.

Se realiza también IF de la muestra de orina, observándose Inmunoglobulina completa [IgG Kappa] + cadena liviana Kappa "libre" monoclonal. (Bence Jones positiva). Figura 18.

En este trabajo se presentaron estudios realizados en muestras de suero y orina de cinco pacientes con "Discrasia de células plasmáticas".

El primer caso se trata de una BH IgG Kappa en suero con presencia de cadenas livianas monoclonales Kappa en orina.

En el proteinograma electroforético del paciente 2, se observan dos BH: una de movilidad gamma rápida y la otra con movilidad solapada con la fracción Beta-2. En la IF de suero se confirma la presencia de CM IgG Lambda y cadenas livianas Lambda libre. Y en orina presencia de cadenas livianas Lambda libre monoclonal.

En el Uroproteinograma, del paciente 3 se observan dos BH. Al realizar la IF de la orina concentrada, se observa identidad inmunológica tanto con el antisuero anti Lambda total y libre, con presencia de 2 bandas en Lambda libres (posiblemente monómero y dímero).

Se realiza IF en el suero del paciente 4, confirmando la presencia de CM IgA Lambda correspondiente a la BH observada en el proteinograma y se detectan además cadenas livianas Lambda de movilidad postBeta-2. Para caracterizar estas últimas como cadenas livianas "libres", se prueban antisueros anti-D y E (no antisueros K y L free disponibles).

En la IF de la muestra de orina concentrada, se observa Inmunoglobulina completa [IgA Lambda] + cadena liviana Lambda "libre" monoclonal. (Bence Jones positiva)

El resultado del Uroproteinograma del paciente 5 es proteinuria de tipo glomerular con presencia de BH en región gamma. Al realizar la IF se observa Inmunoglobulina completa [IgG Kappa] + cadena liviana Kappa "libre" monoclonal.

En todos los casos se observó que la técnica de I.F. permite confirmar, tipificar y caracterizar la/las BH observadas en la EF de suero (proteinograma) y orina (uroproteinograma).

2- Gonzalez Brito G., Hernández Nieto L. Mieloma Múltiple. MEDICINE. Hematología (II): 600-612.

### Referencias bibliográficas

1- López Corral L, García Sanz R., San Miguel J.F. Aplicaciones del test sérico de cadenas ligeras libres en las gammopatías monoclonales. Med Clín (Barc) 2010; 135(8):368-374.