

## Especializaciones

# Utilidad diagnóstica de la determinación de las cadenas livianas libres en suero en una población de pacientes con Discrasias de Células Plasmáticas del Hospital Provincial Neuquén

**Autores:** Piaggio, Mariana Andrea<sup>1</sup>, González Laura Analía<sup>2</sup>, Albornoz Sánchez, Norma<sup>3</sup>, Torres Haydee<sup>3</sup>, Ríos Sant Florencia<sup>4</sup>, Díaz Graciela<sup>5</sup>, Vázquez María Mercedes<sup>6</sup>.

1. Bioquímica. Laboratorio de Proteínas e Inmunología. Hospital Provincial Neuquén. (\*)

2. Bioquímica. Referente de red de Disproteinemias y Hemoglobinopatias. Laboratorio de Proteínas e Inmunología. Hospital Provincial Neuquén.

3. Técnica de Laboratorio. Laboratorio de Proteínas e Inmunología. Hospital Provincial Neuquén.

4. Médica Residente. Servicio de Hematología. Hospital Provincial Neuquén.

5. Médica Especialista en Hematología. Jefa de Servicio de Hematología. Hospital Provincial Neuquén.

6. Médica Especialista en Hematología. Servicio de Hematología. Hospital Provincial Neuquén.

(\*) [marianapiaggio@gmail.com](mailto:marianapiaggio@gmail.com)

## Resumen

Desde el año 2009, el International Myeloma Working Group (IMWG) recomienda el uso del ensayo cuantitativo de cadenas livianas libres en suero (CLLs) para el diagnóstico y monitoreo de la terapia en pacientes con Gammapatías Monoclonales (GM). En el año 2017, la Sociedad Argentina de Hematología incorporó esta determinación al algoritmo diagnóstico de las GM. Debido a esto, decidimos evaluar la utilidad de este ensayo para su incorporación al algoritmo diagnóstico de GM del Sector de Proteínas e Inmunología del Hospital Provincial Neuquén. Se realizó un estudio prospectivo en muestras de 29 pacientes con sospecha de Discrasias de Células Plasmáticas (DCP). El uso de CLLs permitió mejorar la sensibilidad diagnóstica en pacientes con DCP, atendidos en el Hospital Provincial Neuquén. De este modo fue posible la detección de un paciente con Mieloma Múltiple Oligosecretor, en cuya muestra no se observó banda monoclonal en la Electroforesis Capilar sérica ni el componente monoclonal (CM) por Inmunofijación en suero.

**Palabras clave:** Cadenas livianas libres; Mieloma Múltiple; Gammapatías monoclonales; Componente Monoclonal; Discrasias de células plasmáticas, IMWG.

## Abstract

Since 2009, the International Myeloma Working Group (IMWG) has recommended the use of quantitative serum free light chain assay (sFLC) for screening and response assessment in patients with monoclonal gammopathies (MG). In the year

2017, The Argentine Society of Hematology incorporates this assay in the screening algorithm of MG. Due to this, the protein and immunology laboratory area in Hospital Provincial Neuquen , decided to perform an evaluation of the utility of this assay to incorporate it in our screening algorithm through a prospective study of 29 patients with Plasmatic Cell Disorders (PCD) suspicion. The use of sFLC improved the diagnostic sensitivity of patients with PCD at Hospital Provincial Neuquen . This, allowed the detection of a patient with Oligosecretory Myeloma without monoclonal component (MC) in Serum Electrophoresis and Immunofixation.

**Keywords:** Free Light Chain assay; Multiple Myeloma, Monoclonal Gammopathies, Plasmatic cell disorders; Monoclonal component; IMWG.

### Introducción

Las Discrasias de Células Plasmáticas (DCP) son un grupo de desórdenes hematológicos que incluyen un amplio espectro evolutivo iniciando con una fase premaligna, denominada “gammapatía monoclonal de significado incierto” (MGUS o GMSI), caracterizada por la aparición de una población clonal de células plasmáticas (CP) con secreción de una gammaglobulina clonal, que puede evolucionar posteriormente a una fase denominada “mieloma múltiple indolente o asintomático (MMA)” y finalmente al “mieloma múltiple sintomático” (MM)<sup>1</sup>. En la tabla 1 se describe la clasificación y los criterios diagnósticos de las distintas GM<sup>2</sup>.

**Tabla 1. Clasificación de las Gammopatías Monoclonales y criterios diagnósticos**

<b>Entidad</b>	<b>Definición</b>
<i>GMSI No IgM</i>	<p>Componente monoclonal (no IgM) &lt; 3g/dl.</p> <p>Infiltración plasmocitaria en MO &lt; 10%.</p> <p>Ausencia de anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal, lesiones óseas o amiloidosis atribuibles a discrasia de células plasmáticas.</p>
<i>GMSI IgM</i>	<p>Componente monoclonal IgM &lt; 3g/dl.</p> <p>Infiltración plasmocitaria en MO &lt; 10%.</p> <p>Ausencia de anemia, síntomas constitucionales, hiperviscosidad, linfadenopatías, hepatoesplenomegalia u otro daño de órgano blanco atribuibles a síndrome linfoproliferativo subyacente.</p>

<p><i>GMSI CLL</i></p>	<p>Relación anormal de las CLL k/λ.</p> <p>Aumento de la concentración de la CL involucrada.</p> <p>Ausencia de Banda Monoclonal (Ig) por inmunofijación.</p>
<p><i>MM indolente o asintomático</i></p>	<p>Se deben cumplir los 2 criterios:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Componente monoclonal (IgA o IgG) &gt; 3 g/dl o componente monoclonal urinario &gt; 500 mg/24hs y/o infiltración plasmocitaria en MO 10%-60%.</li> <li>• Ausencia de eventos definidores de mieloma.</li> </ul>
<p><i>MM (MMII)</i></p>	<p>Componente monoclonal (IgA o IgG) &gt; 3 g/dl o componente monoclonal urinario &gt; 500 mg/24hs.</p> <p>Infiltración plasmocitaria en MO ≥ 10% o biopsia que pruebe plasmocitoma óseo o extramedular; y uno o más de los siguientes <b>eventos definidores de mieloma</b>:</p> <p><b>1. Daño de órgano blanco atribuible a discrasia de células plasmáticas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipercalcemia: calcio sérico &gt; 0.25 mmol/L (&gt; 1 mg/dl) por encima el valor máximo o &gt; 2.75 mmol/L (&gt; 11 mg/dl).</li> <li>• Insuficiencia renal: depuración de creatinina &lt; 40 ml/min o creatinina sérica &gt; 177 mmol/L (&gt; 2 mg/dl).</li> <li>• Anemia: hemoglobina &lt; 2 gr/dl por debajo del rango normal o hemoglobina menor a 10 gr/dl.</li> <li>• Lesiones óseas: una o más lesiones osteolíticas por radiografía, TC o PET/TC o RMN.</li> </ul> <p><b>2. Biomarcadores de malignidad:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• infiltración plasmocitaria en MO ≥ 60%</li> <li>• relación entre CLL involucrada y la no involucrada &gt; 100</li> <li>• &gt; 1 lesión focal en RMN (cada lesión debe tener 5 mm o más)</li> </ul>

*GMSI= gammapatía monoclonal de significado indeterminado. MO= médula ósea. MM= mieloma múltiple. MMII= mieloma múltiple inmunoglobulina intacta. CLL= cadenas livianas libres. RMN= resonancia nuclear magnética. TC= tomografía computada. PET/TC= tomografía por emisión de positrones.*

El MM corresponde al 2% de las neoplasias y al 13% de las hemopatías malignas. De este 2%, los Mielomas Múltiples a Cadena Liviana Libre y los Mielomas Oligosecretores/No Secretores, en los cuales sólo se observará la presencia de CLLs, constituyen un 15-20% y un 1-2% respectivamente. La incidencia aumenta progresivamente con la edad, alcanzando un pico entre los 50 y 70 años, siendo rara su presentación antes de los 35 años. Es una enfermedad heterogénea, ya que algunos pacientes fallecen a las pocas semanas del diagnóstico, mientras otros viven más de diez años.

El algoritmo diagnóstico y de monitoreo del tratamiento para las DCP, incluye una serie de ensayos que se realizan tanto en suero como en orina de 24 horas<sup>3</sup>. Dichos ensayos son: Proteinograma electroforético en suero (EPS), Inmunofijación en suero (IFE), Cuantificación de Cadenas livianas libres en suero (CLLs), Uroproteinograma (UPro) e Inmunofijación urinaria (Bence Jones). Se considera el Gold Standard<sup>4</sup> para la búsqueda de GM a la Inmunofijación (IF), útil para la tipificación del CM; el EPS realizado en gel de agarosa o por electroforesis capilar (EC), permite observar dicho CM. La sensibilidad diagnóstica de estos ensayos fue mejorada del 95%<sup>5</sup> al 100% con la incorporación al algoritmo de la determinación de las CLLs. El ensayo de CLLs permite la cuantificación sérica tanto de las cadenas Kappa como Lambda libres, a partir de la cual se puede establecer una relación Kappa/Lambda, que en el caso de los pacientes con DCP se encuentra alterada, definiendo así la

clonalidad del CM<sup>6</sup>. En un estudio realizado por Katzmann y col.<sup>7</sup>, se demostró que se puede mantener una sensibilidad diagnóstica del 99,5%, realizando un diagnóstico rápido en suero, sin necesidad de realizar la determinación del CM en orina.

El ensayo para la búsqueda de CLLs es una de las pruebas diagnósticas de más reciente aparición en el país y ha sido recomendado su uso en los pacientes con un diagnóstico reciente de DCP<sup>8</sup>. La medición de las CLLs es muy importante en pacientes con mieloma múltiple no secretor (ej: con IF negativa en suero y orina), en pacientes que secretan pequeñas cantidades de proteínas monoclonales en suero y en orina (mieloma oligosecretor) y en el mieloma a cadenas livianas<sup>9</sup>. Su uso no solo se limita a las patologías mencionadas, sino que se puede utilizar en todas las gammopatías monoclonales (GM).

Mediante la incorporación de la determinación de CLLs se llega a un diagnóstico más completo y rápido de estas patologías, sobre todo en las que su cuantificación es de importancia clínica para el diagnóstico.

El Objetivo General es evaluar la utilidad de la prueba de CLLs en el diagnóstico de los pacientes con sospecha de DCP y su consiguiente incorporación en el algoritmo diagnóstico del sector de Proteínas e Inmunología del Laboratorio del Hospital Provincial Neuquén.

### ***Pacientes y métodos***

Se analizaron 35 pacientes con sospecha clínica de DCP desde septiembre de 2017 a julio de 2018. Se incluyeron en este estudio, los pacientes con criterios diagnósticos

asociados a GM; de los 35 pacientes, 6 fueron eliminados del protocolo ya que se trataban de Síndromes Linfoproliferativos o Amiloidosis.

Se utilizó el algoritmo diagnóstico de EC en suero, Electroforesis en gel de agarosa de orina de 24 hs, IF tanto en suero y orina y la cuantificación de CLLs para cada uno de los pacientes analizados. A todos se les cuantificó la concentración de CLLs kappa y CLLs lambda.

La EC se realizó en MiniCap (Sebia, Fr), la Electroforesis en gel de agarosa de orina de 24 hs y la Inmunofijación (IF) tanto en suero y orina se realizaron en Hydrasys (Sebia, Fr). El test de medición de CLLs (Freelite®, The Binding Site Ltd, Birmingham, RU) es un ensayo que utiliza como reactivos anticuerpos policlonales que reaccionan solo con epítopes de las cadenas livianas que están expuestos cuando las cadenas livianas no están asociadas a las cadenas pesadas. Estos anticuerpos reconocen a las estructura monoméricas de la cadena liviana  $\kappa$  y a las estructuras diméricas de la cadena liviana  $\lambda$  sin reactividad cruzada  $\kappa/\lambda$ . El ensayo permite la cuantificación por separado de las  $\kappa$ CLLs y  $\lambda$ CLLs con alta sensibilidad, ya que detecta valores inferiores a 1 mg/L

de cadena ligera. Es una técnica inmunoturbidimétrica que se puede adaptar a autoanalizadores, en este caso el SPA plus y además, presenta la ventaja de utilizar suero como muestra de análisis, evitando la variabilidad observada en los resultados obtenidos en muestras de orina de 24 hs que requieren de una correcta recolección por parte del paciente. Las limitaciones de este test consisten en la variabilidad entre lote a lote (con coeficientes de variación de 19-20%) y en situaciones de alta concentración de antígeno se requieren diluciones manuales para evitar falsos negativos. En todos los pacientes se informó las  $\kappa$ CLLs y  $\lambda$ CLLs, además de su Relación  $\kappa/\lambda$ . Katzmán et al<sup>10</sup> estableció los valores de referencia para  $\kappa$ CLLs (3.3-19.4 mg/L) y  $\lambda$ CLLs (5.7-26.3 mg/L) y el rango diagnóstico para la Relación  $\kappa/\lambda$  (0.26-1.65). Hutchison y col.<sup>11</sup> estableció el rango diagnóstico en pacientes con Insuficiencia renal obteniendo la Relación  $\kappa/\lambda$  (0.37-3.1), ya que la relación esta alterada debido a la filtración glomerular disminuida. La producción policlonal de CLLs pueden incrementarse considerablemente durante inflamación o infección, resultando en un incremento de ambas CLLs pero manteniendo la Relación  $\kappa/\lambda$  dentro de los rangos normales. En contraste, las DCP producen un CM  $\kappa$ CLL o  $\lambda$ CLL con la supresión de la CLL no involucrada, alterando la relación  $\kappa/\lambda$ <sup>12</sup>.

### **Resultados**

De los 29 pacientes analizados, 11 fueron diagnosticados durante la realización de este estudio y 18 presentaban diagnósticos recientes. El 62.1% de los pacientes fueron diagnosticados con Mieloma Múltiple a inmunoglobulina intacta (MMII) (Fig.1).

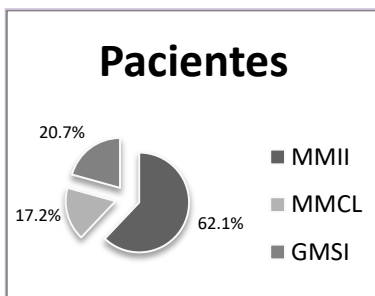


Figura 1. Distribución de las DCP encontradas en los pacientes analizados.

MMII: Mieloma Múltiple Inmunoglobulina Intacta.  
 MMCL: Mieloma Múltiple a Cadena Liviana.  
 GMSI: Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto.

Todos los datos recopilados en este estudio, referidos al diagnóstico y ensayos realizados en las muestras de cada paciente fueron detallados en la Tabla 2.

Tabla 2. Datos recopilados de los pacientes según algoritmo diagnóstico

Paciente			Diagnóstico	CLLs Freelite					
N	Edad	Sexo		EC	IF	K (mg/L)	$\lambda$ (mg/L)	Relación $\kappa/\lambda$	Orina 24 hs
1	62	M	GMSI	Banda homogénea en Gamma tenue	IgM Kappa	15.14	14.0	1.08	No
2	63	M	MM oligosecretor	Patente Oligoclonal	Negativo *	459.12	9.05	50.73	BJ(+)
3	58	M	MMII	Banda Homogénea en Beta2	IgG Kappa	7.77	8.09	0.96	No
4	54	F	GMSI	Banda Homogénea en Gamma	IgG Kappa	39.42	24.41	1.61	No
5	56	M	MMII	Banda Homogénea en Gamma	IgG Kappa	238.5	5.54	43.05	BJ (-)
6	73	M	MMII	Banda Homogénea en Gamma	IgM Kappa	100.04	27.23	3.67	No
7	56	M	MMII	Banda	IgG	7.77	8.09	0.96	No

				Homogénea en Gamma	Kappa				
8	59	M	GMSI	Banda Homogénea en Gamma	IgA Lambda	29.91	21.01	1.42	BJ (+)
9	65	M	MMII	Banda Homogénea en Gamma	IgA Kappa	33.74	12.21	2.76	No
10	72	M	MMCL	Banda Homogénea en Gamma	Kappa	91.95	11.51	7.99	BJ (-)
11	46	M	GMSI	Banda Homogénea en Gamma	IgG Kappa	57.96	6.11	9.49	No

MMII: Mieloma Múltiple de Inmunoglobulina Intacta, GMSI: Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto., MMCL: Mieloma Múltiple a Cadenas Livianas, BJ(+): Proteinuria de Bence Jones Positiva. BJ (-): Proteinuria de Bence Jones negativa; M: Masculino, F: Femenino. \*Se realizó InmunoFijación por las características clínicas del paciente ante la alta sospecha de GM.

De los 11 pacientes diagnosticados durante el estudio, sólo 4 trajeron la muestra de orina de 24 hs solicitada por el médico. Demostrando de esta manera lo que sugiere Katzmann y col<sup>3</sup> sobre la dificultad de realizar el análisis en muestras de orinas recolectadas cumplimentando las indicaciones médicas.

Los resultados obtenidos a partir de la determinación de CLLs, mostraron que 3 de los 4 pacientes con GMSI, tenían una relación  $\kappa/\lambda$  dentro del rango normal, al igual que 2 pacientes con MM IgG kappa. El resto presentó una relación  $\kappa/\lambda$  alterada según el componente monoclonal involucrado.

Por otro lado se realizó un análisis aplicando el algoritmo diagnóstico del sector, EC+IFEs, y se observó que sólo en 6 de los 7 pacientes con MM y en 3 de los 4 pacientes con GMSI, se detectó el CM con una sensibilidad diagnóstica de 86% y 75%, respectivamente. Para MMCL, la sensibilidad diagnóstica disminuyó al 50%. Los resultados obtenidos con el algoritmo del sector fueron comparados con el algoritmo aplicado en este estudio en la Tabla 3, a partir de la cual se puede observar el gran aporte que presenta la determinación de CLLs al diagnóstico de DCP.

Al incorporar la prueba de CLLs en el protocolo, un paciente pudo ser diagnosticado con Mieloma oligosecretor, mediante la técnica de EC se observó una banda oligoclonal en la fracción Gamma pero debido a las sospechas clínicas, se le realizó la prueba de CLLs, observándose una relación  $\kappa/\lambda$  alterada. De esta forma, la sensibilidad diagnóstica para MMCL aumento del 50% usando EC+IFEs al 100% usando

EC+IFEs+CLLs y en el caso de MM aumento del 86% al 100%. Para los MMII, no se observaron cambios (Tabla 3).

Tabla 3. **Sensibilidad diagnóstica para la detección de DCP en los sueros de los pacientes**

	N	EC	IFEs	CLLs	EC+IFEs	EC+IFEs+CLLs
GMSI	4	3 (75%)	4 (100%)	1 (25%)	3 (75%)	4 (100%)
MM	7	6 (86%)	6 (86%)	7 (100%)	6 (86%)	7 (100%)
MMII	5	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)
MMCL	2	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	1 (50%)	2 (100%)

### **Conclusión**

Debido al creciente aumento de pacientes con DCP que se ha observado en los últimos tiempos, sobre todo pacientes con diagnóstico de MM a cadenas livianas y algunos con MM oligosecretores, es de gran importancia disminuir el tiempo que transcurre hasta el diagnóstico definitivo, ya que el riesgo de complicaciones asociadas al daño orgánico aumenta a medida que pasa el tiempo, principalmente la aparición de lesiones renales y óseas.

La combinación de las pruebas diagnósticas EC+IFEs+CLLs, es el panel de screening más simple y eficiente para la identificación de DCP, como lo sugieren las guías nacionales e internacionales. En nuestra experiencia, el ensayo de CLLs permitió mejorar la sensibilidad diagnóstica del algoritmo de estudio de GM del Sector de Proteínas e Inmunología, con las ventajas de incorporar una técnica cuantitativa, de rápida resolución lo cual permite obtener un resultado que puede ser clave para el comienzo del tratamiento del paciente; haciendo de este una herramienta invaluable para el diagnóstico de los pacientes con estas patologías.

### **Agradecimientos**

The Binding Site Latinoamérica por habernos suministrado los reactivos y el equipo SPA Plus para poder realizar este trabajo.



## Bibliografía

---

<sup>1</sup> Sociedad Argentina de Hematología. *Guía de Diagnóstico y Tratamiento de Gammopatías monoclonales*. Año 2017.

<sup>2</sup> International Myeloma Working Group. *Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group*. *Br J Haematol*. 2003; 121(5):749-757.

<sup>3</sup> Katzmann J, Kyle R, Benson j., Larson D, Snyder M, Lust J, Rajkumar y Dispenziery A. *Screening panels for detection Monoclonal Gammopathies*. *Clinical Chemistry* 55: 8; 1517-1533.

<sup>4</sup> Dispenziery et al. *International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders*. *Leukemia* (2009) 23, 215–224.

<sup>5</sup> Pretorius C, Ungerer J, Wilgen U, Klingberg S. *Screening panels for detection Monoclonal Gammopathies: confidence intervals*. *Clinical Chemistry* 56:4 (2010).

<sup>6</sup> Bradwell AR. *Serum Free Light Chain Analysis (plus Hevylite)*. 7th ed. 2015. Capítulo 4, 30-40.

<sup>7</sup> Katzmann JA, Dispenziery A, Kyle RA, Snyder MR, Plevak MF, Larson DR, Abraham RS, Lust JA, Melton LJ 3rd, Rajkumar SV. *Elimination of the need for urine studies in the screening algorithm for monoclonal gammopathies by using serum immunofixation and free light chain assays*. *Mayo Clin Proc*. 2006 Dec; 81(12):1575-8.

<sup>8</sup> Dispenziery et al. *International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders*. *Leukemia* (2009) 23, 215–224.

<sup>9</sup> Drayson M, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith H, Bradwell AR. *Serum free light chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma*. *Blood*. 2001;97(9): 2900-2902.

<sup>10</sup> Katzmann, Jerry A, Clark, Raynell J, Abraham, Roshini S, Bryant, Sandra, Lymp, James F, Bradwell, Arthur R, Kyle, Robert A. *Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains*. *Clinical chemistry*. 2002. 1444(9): 1437-1444.

<sup>11</sup> Hutchison, Colin A., Basnayake, Kolitha, Cockwell, Paul. *Serum free light chain assessment in monoclonal gammopathy and kidney disease*. *Nature Reviews*

<sup>12</sup> Bhole, Malini V., Sadler, Ross, Ramasamy, Karthik. *Serum-free light-chain assay: Clinical utility and limitations*. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2014. 51(5): 528-542.