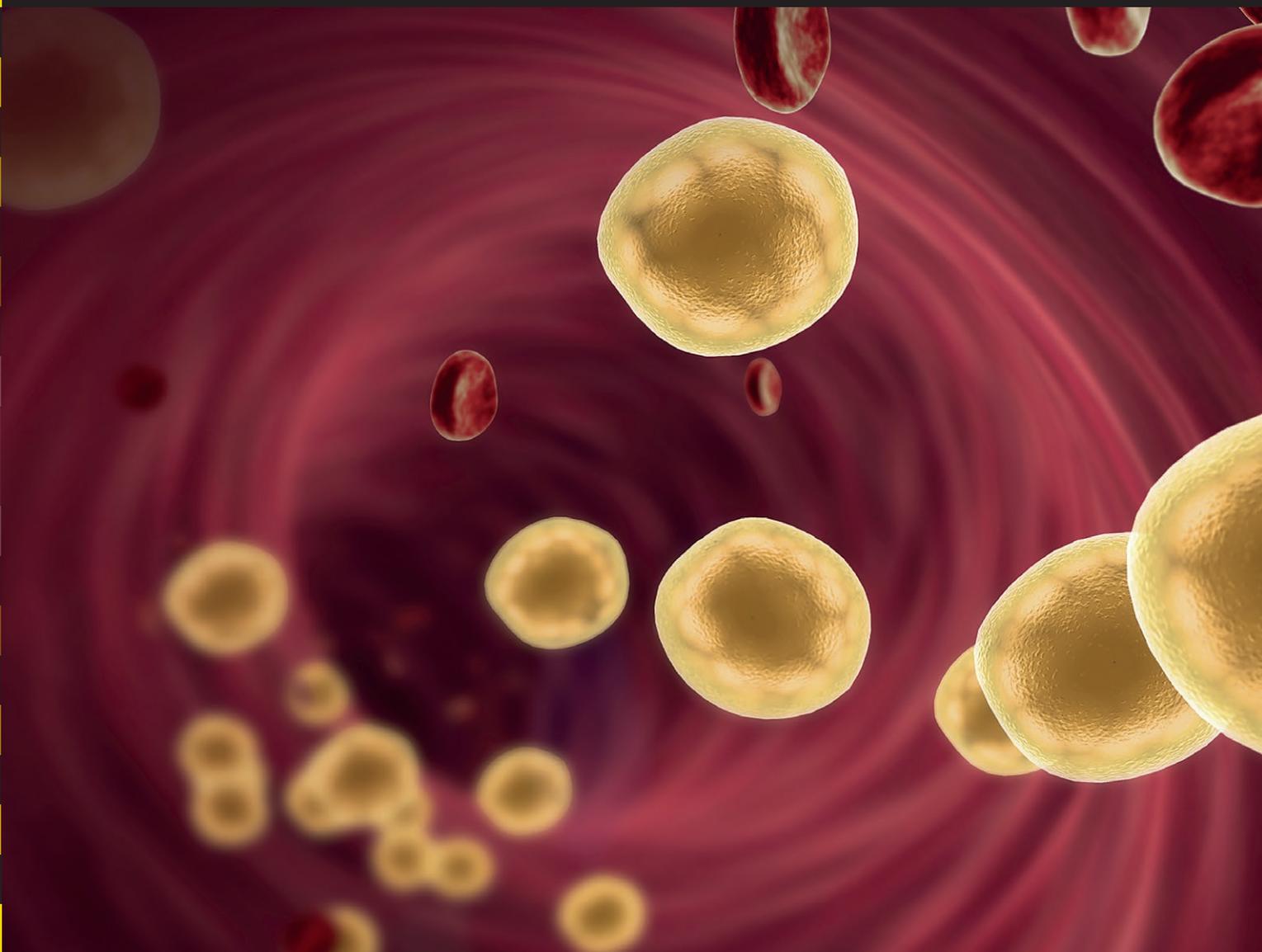


**Evidencia científica española  
con Freelite® y Hevylite®  
en las gammopatías monoclonales:  
de la premalignidad al mieloma múltiple activo**





Editado por :  
DRAFT EDITORES, S.L.  
María Tubau, 5 - 1º  
28050 Madrid

© 2017 Draft Editores, S.L.

© Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, guardada en un sistema de recuperación o transmitida en forma alguna ni por medio alguno, electrónico, mecánico, de fotocopia, de grabación o de otro tipo, sin el permiso previo del Copyright.

Coordinación editorial a cargo del Departamento Médico de Draft Editores.

Editor y Director Responsable: Juan I. Castejón

La editorial no asume responsabilidad alguna por los posibles perjuicios y/o daños a personas o propiedades como consecuencia de responsabilidades de productos, negligencias u otros motivos, ni por cualquier uso o aplicación de ninguno de los métodos, productos, instrucciones o ideas contenidos en la publicación. La editorial no asume ninguna responsabilidad del contenido resumido de este trabajo. Dados los rápidos avances que se producen en las ciencias médicas, el editor recomienda que se realice una verificación independiente de los diagnósticos y las dosis y formas de administración de los productos.

Esta información ha sido desarrollada por terceros independientes. Las opiniones expresadas no representan necesariamente las de Binding Site. Este material educativo puede contener recomendaciones de uso aún no aprobadas.

Depósito Legal: M-30789-2012

ISSN: 2254-8416

DOI: 10.3252/HMT.ES.2017.10.23

# Índice

<b>1. Introducción</b> .....	<b>4</b>
Freelite® .....	5
Hevylite® .....	6
Conclusión .....	6
<b>2. Utilidad de Freelite® y Hevylite® en las gammopatías monoclonales premalignas (GMSI/MMQ)</b> .....	<b>7</b>
<b>2.1 Valor pronóstico en el diagnóstico</b> .....	<b>7</b>
2.1.1 Estratificación inicial del riesgo .....	7
2.1.2 Identificación de pacientes MMQ de ultra alto riesgo de progresión .....	11
2.1.3 Identificación de pacientes GMSI con mayor riesgo de desarrollar insuficiencia renal .....	11
<b>2.2 Valor pronóstico en el seguimiento</b> .....	<b>11</b>
<b>2.3 Conclusiones</b> .....	<b>12</b>
<b>3. Utilidad de Freelite® y Hevylite® en las gammopatías monoclonales malignas</b> .....	<b>13</b>
<b>3.1 Ante la sospecha de GM maligna-diagnóstico diferencial</b> .....	<b>13</b>
<b>3.2 Ante un diagnóstico de MM/AL</b> .....	<b>14</b>
3.2.1 Estratificación inicial del riesgo .....	14
3.2.2 Detección y tratamiento precoz del riesgo de riñón de mieloma .....	15
<b>3.3 En la monitorización de MM/AL</b> .....	<b>16</b>
3.3.1 Beneficios del test de CLLs en suero frente a la electroforesis en orina (EEFo) en el MM de Bence Jones .....	16
3.3.2 Pacientes con paraproteínas difíciles de detectar y/o cuantificar por las técnicas tradicionales .....	17
3.3.3 Evaluación precisa de la respuesta al tratamiento .....	18
3.3.4 Identificación precoz de recaída .....	19
3.3.5 Identificación de cambios clonales en la recaída .....	22
3.3.6 Pacientes tratados con fármacos basados en anticuerpos monoclonales (AcM) .....	22
<b>3.4 En el estudio y seguimiento de la Macroglobulinemia de Waldenström</b> .....	<b>23</b>
<b>3.5 Algoritmo de uso de Freelite® y Hevylite® en pacientes con GM</b> .....	<b>25</b>
<b>4. Utilidad de Freelite® como marcador de actividad de células B en enfermedades con incrementos policlonales</b> .....	<b>26</b>
4.1 En pacientes con esclerosis múltiple (EM) .....	26
4.2 En pacientes con enfermedad celiaca (EC) .....	29
<b>5. Bibliografía</b> .....	<b>31</b>

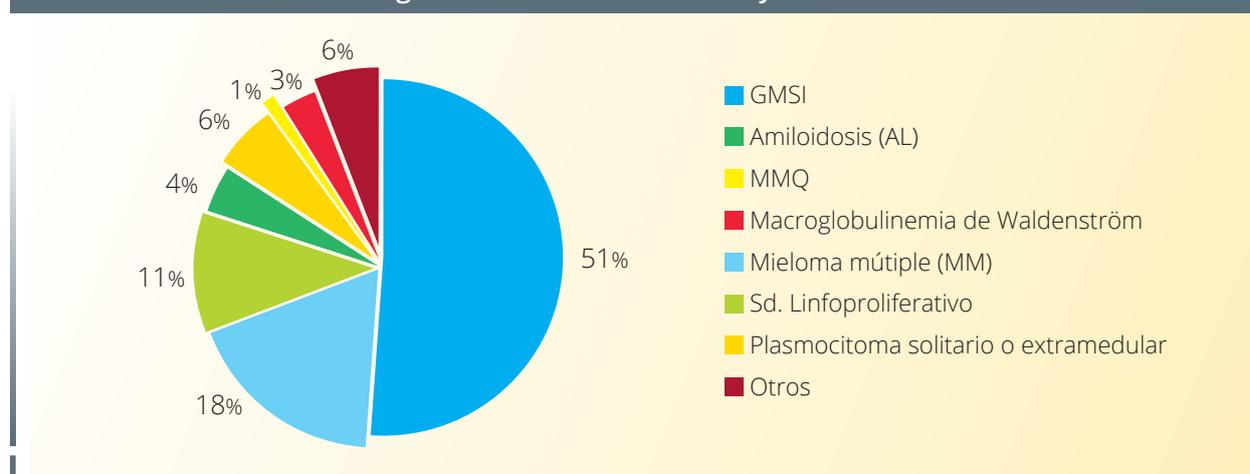
# 1. Introducción

Las Gammapatías Monoclonales (GM) incluyen un grupo de enfermedades caracterizadas por la proliferación clonal de células plasmáticas (células linfoides B en los estadios madurativos), que producen inmunoglobulinas (Ig) de un único tipo de cadena ligera y/o pesada en cantidades excesivas denominadas paraproteína o componente monoclonal (CM).

Dentro de las GM se diferencian dos grupos principales, las GM premalignas y/o asintomáticas, como la GM de significado incierto (GMSI) y el Mieloma Múltiple Quiescente (MMQ) y las GM malignas como el Mieloma Múltiple (MM), la Leucemia de células plasmáticas (LCP) o la Amiloidosis primaria (AL) (Figura 1). Los síntomas asociados a una GM pueden ser bastante inespecíficos y estar presentes también en otras entidades no malignas. Además, la evolución y el pronóstico de las distintas GM es muy variable y en ocasiones incierto. Sin embargo, las GM comparten el hecho de que la medición de la Ig monoclonal circulante es un parámetro común y clave para su diagnóstico, pronóstico y seguimiento.

FIGURA 1

GM diagnosticadas en la Clínica Mayo durante 2005



Adaptado de Kyle RA, et al. Br J Haematol 2006;134:573-89.  
Disponibile en: <https://www.wikilite.com/figure/index?page=7&per-page=12>

Las **pruebas de laboratorio** desempeñan un papel muy importante en las distintas etapas del manejo clínico de los pacientes con GM, tanto en el apoyo al diagnóstico diferencial o de sospecha, como en el pronóstico para predecir su evolución, y en la monitorización para evaluar la respuesta al tratamiento y posibles recidivas. Además, es importante utilizar múltiples técnicas complementarias dado que la complejidad de la enfermedad y su naturaleza intrínseca diseminada hacen que ninguna técnica por si sola sea 100% eficaz en el diagnóstico de la enfermedad.

En este documento se aborda la utilidad y los usos recomendados de dos inmunoensayos de alta sensibilidad que permiten estudiar dos biomarcadores cancerígenos con valor clínico independiente que son el Freelite® y el Hevylite®. **Las evidencias científicas que soportan este documento se centran principalmente en resultados de estudios realizados por grupos españoles, pero no exclusivamente.**

## Freelite®

Freelite® es un ensayo nefelométrico o turbidimétrico sensible que se compone de dos test de Inmuno-diagnóstico, específicos para la identificación de cadenas ligeras libres kappa (CLL  $\kappa$ ) y cadenas ligeras libres lambda (CLL  $\lambda$ ), permitiendo así establecer el cociente de CLL  $\kappa/\lambda$  y detectar posibles alteraciones monoclonales (Bradwell 2001) (Figura 2). En una población sin GM, es decir policlonal para las células B, la proporción de CLL  $\kappa$  frente a CLL  $\lambda$  se sitúa entre el 0,26 y el 1,65, siendo este el rango que se ha definido como el intervalo de normalidad y que sirve de base para la identificación de CLL monoclonales. El cociente de CLL  $\kappa/\lambda$  funciona por lo tanto como un marcador sensible de monoclonalidad.

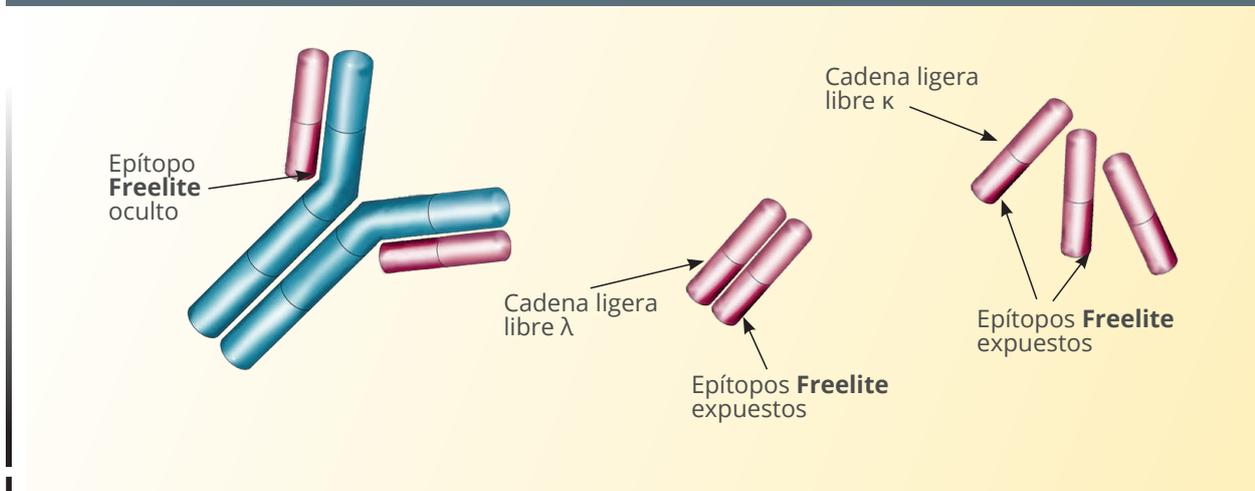
### Importancia de un ensayo de CLL basado en anticuerpos policlonales

Las cadenas ligeras libres, principalmente las del tipo lambda, son moléculas altamente polimórficas. Esta variabilidad es debida a distintos factores genéticos, que incluyen la recombinación genética, la variación alotípica y la variación isotípica. Freelite® utiliza anticuerpos policlonales como reactivos que permiten reconocer un amplio espectro de CLLs, garantizando así que pueda reconocer virtualmente el 100% de las CLLs que pueden ser producidas por las células plasmáticas, principalmente las producidas por las CP tumorales. Un ensayo de CLLs que, al contrario que Freelite®, utilice anticuerpos monoclonales, no garantiza la identificación de las múltiples formas de CLL que pueden presentarse en muestras patológicas de pacientes con GM (Drayson, 2012). Existen varios estudios que han demostrado justamente esta menor capacidad de reconocimiento de los ensayos de CLL basados en anticuerpos monoclonales. Además, se concluye que los valores absolutos obtenidos con los ensayos Freelite® y otros ensayos monoclonales no son equivalentes y por tanto tampoco son intercambiables (García de Veas, 2013) (Parra, 2014) (Sasson, 2015) (Rebollido, 2013).

**Freelite® es el único ensayo recomendado por las Guías nacionales e internacionales para la cuantificación de CLL en suero (Dispenzieri, 2009) (Katzman, 2013) (Rajkumar, 2014).**

FIGURA 2

### Freelite®. Análisis de cadenas ligeras libres en suero



Freelite®: Test sérico de cadenas ligeras libres (CLLs)

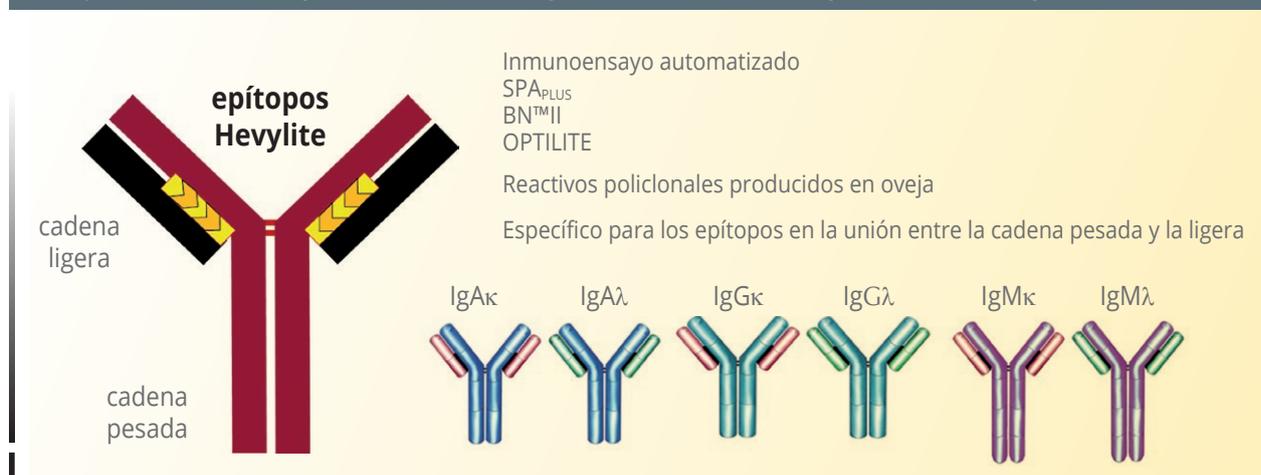


## Hevylite®

Hevylite® es un ensayo nefelométrico/turbidimétrico sérico que permite la determinación cuantitativa de pares específicos de cadenas pesadas de inmunoglobulinas de tipo G, A y M asociadas a las cadenas ligeras  $\kappa$  o  $\lambda$  (HLC) (Bradwell, 2009) (Figura 3). Hevylite® 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 cual permite la cuantificación en valores absolutos de IgG $\kappa$ , IgG $\lambda$ , IgA $\kappa$ , IgA $\lambda$ , IgM $\kappa$  e IgM $\lambda$  por separado, y también de sus cocientes (rHLC): IgG $\kappa$ /IgG $\lambda$ , IgA $\kappa$ /IgA $\lambda$ , IgM $\kappa$ /IgM $\lambda$  (Bradwell 2009). Al igual que ocurre en el ensayo Freelite®, la determinación del cociente entre los diferentes pares específicos con Hevylite® es un marcador sensible de monoclonalidad (Bradwell, 2009).

FIGURA 3

### Hevylite®. Análisis específico de cadena pesada más cadena ligera de inmunoglobulinas (HLC)



Asimismo, la cuantificación de pares específicos de cadenas pesadas más ligeras también puede facilitar una medición más precisa de las Igs monoclonales y no monoclonales del mismo isotipo, particularmente relevante cuando el componente monoclonal sea de difícil cuantificación en la electroforesis debido a problemas de co-migración con otras proteínas séricas normales o por presentar una baja concentración (García de Veas, 2016).

## Conclusión

La cuantificación de cadenas ligeras libres en suero por el ensayo Freelite® ofrece una elevada sensibilidad en la identificación del componente monoclonal, ayudando en la identificación temprana del mismo. Por otro lado, la cuantificación directa de los pares específicos de inmunoglobulinas (IgG $\kappa$ /IgG $\lambda$ , IgA $\kappa$ /IgA $\lambda$  y IgM $\kappa$ /IgM $\lambda$ ), a través del ensayo Hevylite® permite cuantificar y tipificar el componente monoclonal del tipo de inmunoglobulina intacta con una elevada sensibilidad y sin interferencia por parte de otras proteínas séricas normales (Guitarte, 2014).

**En ocasiones es complicado detectar la proteína monoclonal por las técnicas de análisis tradicionales: Electroforesis de proteínas en suero (EEF) e Inmunofijación (IFE).**

**Juntos, Freelite® y Hevylite® permiten mejorar la sensibilidad de la detección y la cuantificación de componentes monoclonales facilitando la gestión clínica de los pacientes diagnosticados con una GM.**

## 2. Utilidad de Freelite® y Hevylite® en las gammopatías monoclonales premalignas (GMSI/MMQ)

Los resultados de diferentes estudios indican que tanto en la Gammopatía Monoclonal de Significado Incierto (GMSI) como en el Mieloma Múltiple Quiescente (MMQ), Freelite® y Hevylite® tienen utilidad para mejorar la valoración del riesgo de progresión de estas discrasias a enfermedad maligna activa que requiera tratamiento. Además, en el seguimiento de estas entidades, los ensayos pueden ayudar en la identificación de los pacientes cuyo riesgo de progresión a condición maligna haya cambiado (Weiss, 2009) (Landgren, 2009) o que se encuentren en riesgo añadido de desarrollar afectación renal (Dispenzieri, 2010).

### 2.1 Valor pronóstico en el diagnóstico

#### 2.1.1 Estratificación inicial del riesgo

La estimación del grado de riesgo de progresión contribuye al mejor seguimiento de los pacientes con GM (Kyle, 2010) permitiendo por un lado tranquilizar al paciente de bajo riesgo y por otro dedicar más atención a los que presenten un riesgo de progresión más significativo.

**Para todos los pacientes con diagnóstico de GMSI, el IMWG (International Myeloma Working Group) recomienda realizar la estratificación del riesgo basada en los siguientes factores de riesgo independientes (Kyle, 2010) (Rajkumar, 2005):**

- 1) Cociente CLL  $\kappa/\lambda$  alterado – mediante Freelite® (FLC)
- 2) Proteína monoclonal en suero > 15 g/L
- 3) Ig tipo IgA o IgM

En concreto con Freelite®, se ha observado que cerca de dos tercios de las GMSI presentan un cociente CLL  $\kappa/\lambda$  normal indicando baja actividad clonal y por lo tanto bajo riesgo de progresión, en línea con lo que ocurre en la práctica con la mayoría de los casos de GMSI (Kyle, 2010).

El plan de seguimiento de los pacientes con GMSI puede ser ajustado en función del grado de riesgo. Según el IMWG, los pacientes GMSI de bajo riesgo, una vez confirmado el diagnóstico a los 6 meses, se pueden seguir con una menor frecuencia, cada 2 años, mientras que los demás deberán visitar al especialista a cada año (Kyle, 2010) (Tabla 1).

En 2012, la Clínica Mayo publica un estudio proponiendo un cuarto factor de riesgo basado en HLC (Katzmann, 2013):

- 4) Inmunosupresión del par Hevylite® no involucrado , uHLC, o sea el par policlonal no producido por el tumor (Figura 4).

Mirando la Figura 4 vemos como un 25% de los pacientes GMSI que presentaban los tres factores de riesgo del modelo clásico junto con una supresión del par específico uHLC desarrolló Mieloma Múltiple o trastorno maligno relacionado en el transcurso de 2 años (Katzmann, 2013). Por lo tanto, la supresión de la uHLC añadida al modelo de estratificación del riesgo del IMWG permite identificar un subgrupo de pacientes con un riesgo aumentado de progresión hacia enfermedad sintomática.

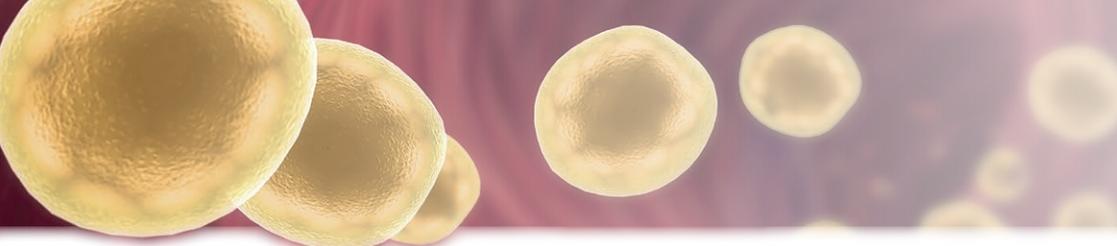


TABLA 1

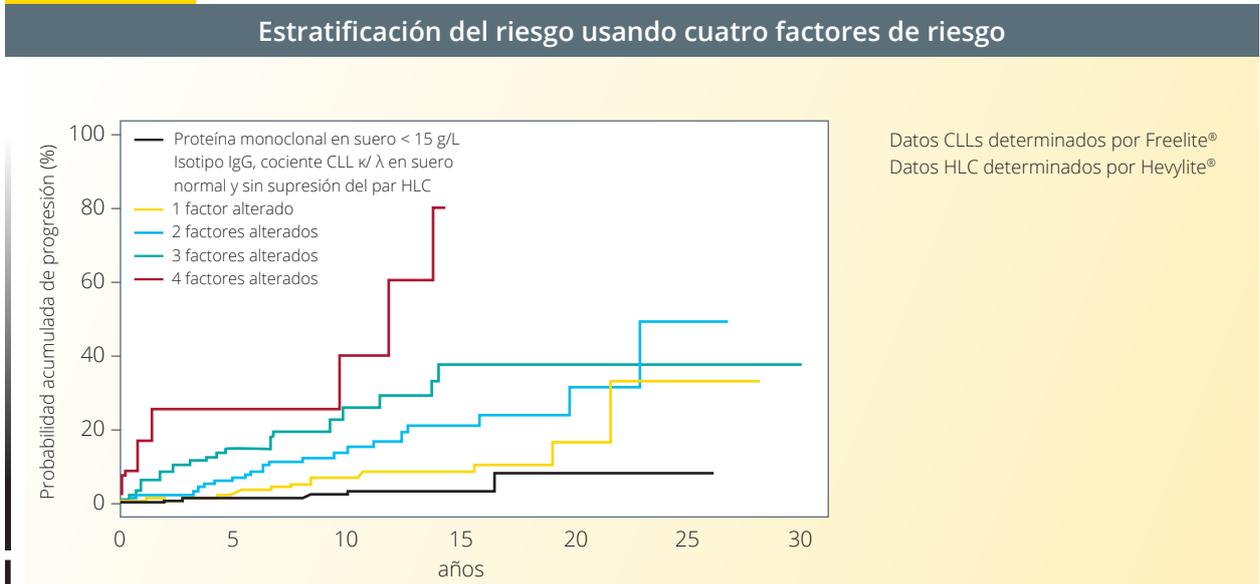
Modelo de estratificación del riesgo para pacientes diagnosticados con GMSI					
GRUPO DE RIESGO	DEFINICIÓN	Nº pacientes	Riesgo absoluto de progresión** en 20 años (%)	Riesgo absoluto de progresión en 20 años (%) teniendo en cuenta la muerte como riesgo competitivo	Seguimiento recomendado
Riesgo bajo	Proteína M <1,5g/dL, Subtipo IgG, Cociente CLL normal (0,26-1,65)	449	5%	2%	6 meses y después cada 2-3 años
Riesgo intermedio bajo	Al menos un factor alterado	420	21%	10%	6 meses y después 1 vez al año durante toda la vida
Riesgo intermedio alto	Al menos dos factores anormales	226	37%	18%	
Alto riesgo	Los tres factores anormales	53	58%	27%	

\*GMSI = Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto

\*\* progresión a Mieloma Múltiple o a síndromes relacionados

Adaptado de Kyle RA, et al. Leukemia, 2010 Jun;24(6):1121-7

FIGURA 4



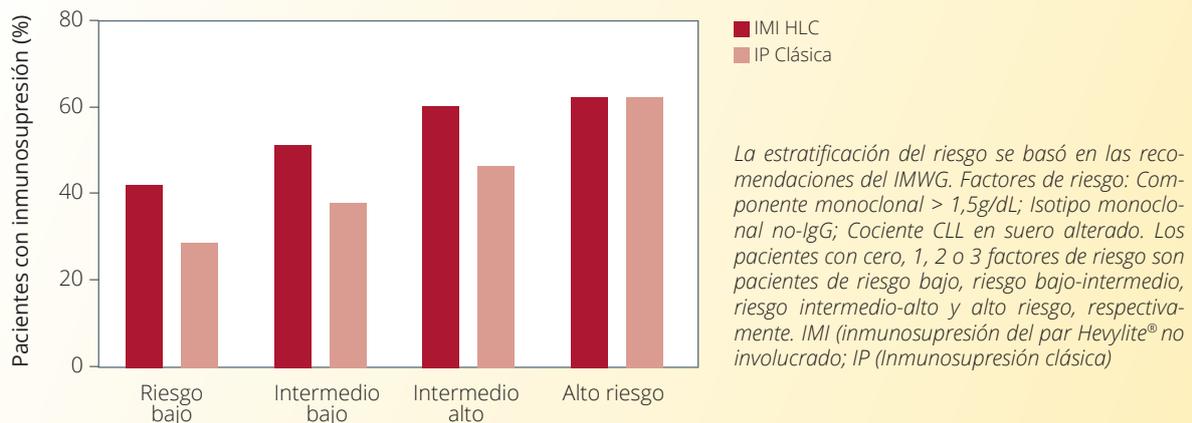
Adaptado de Katzmann JA, et al. Leukemia, 2013 Jan;27(1):208-12

En línea con los resultados de la Clínica Mayo, Jiménez y cols (2016) estudiaron el efecto pronóstico de la supresión del par uHLC sobre la progresión de la GMSI y, de forma específica, en la identificación de aquellos pacientes con riesgo inminente de desarrollar enfermedad sintomática. Se consideró como inmunosupresión del par Hevylite® no involucrado (IMI), una reducción de sus niveles por debajo del límite inferior de normalidad de la respectiva inmunoglobulina, siendo una IMI severa siempre que los niveles se encontrasen más de 50% por debajo de este límite. Los autores encontraron que la frecuencia de IMI

identificada por Hevylite® (Figura 5) presentaba una fuerte asociación con el grupo GMSI de mayor riesgo de progresión ( $p = 0.013$ ) y que una IMI severa identifica a pacientes con una probabilidad de progresión significativamente mayor ( $HR= 3,2$ ;  $IC\ 95\% = 1,1-9,5$ ;  $P=0,0024$ ) (Jiménez, 2018) (Figura 6).

**FIGURA 5**

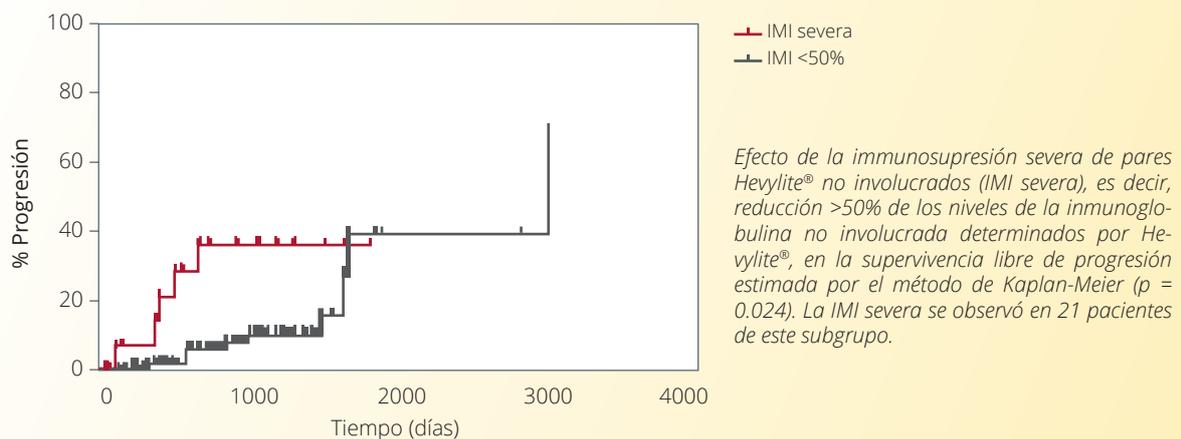
**Pacientes con niveles de inmunoglobulinas policlonales suprimidas divididos por estratificación del riesgo**



Adaptado de Jiménez J, et al. The Journal of Applied Laboratory Medicine 2018 (Accepted for publication)

**FIGURA 6**

**Supervivencia libre de progresión de pacientes GMSI (n=154) según la severidad de la IMI (inmunosupresión del par HLC no involucrado)**



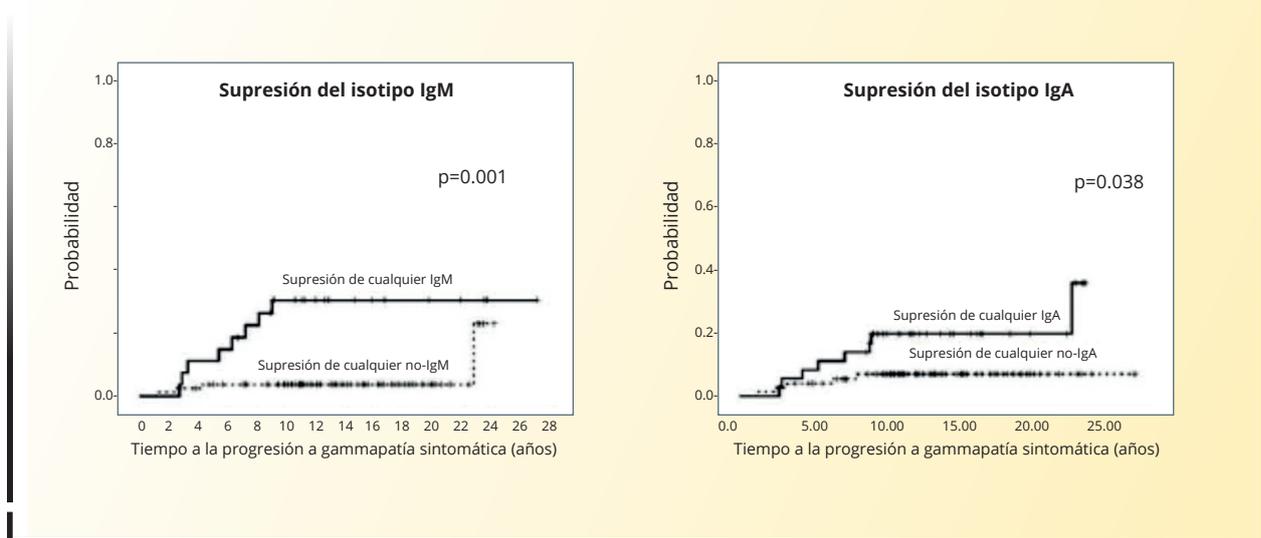
Adaptado de Jiménez J, et al. The Journal of Applied Laboratory Medicine 2018 (Accepted for publication)

De hecho, la inmunosupresión de las inmunoglobulinas policlonales parece estar vinculada a la transformación maligna del clon. Acumulando evidencias publicadas en este sentido, el grupo del Hospital Clínic de Barcelona (2016) observa que la inmunosupresión de cualquier inmunoglobulina determinada por Hevylite® viene asociada a un tiempo más corto de progresión hacia gammapatía sintomática (Magnano, 2014) (Magnano, 2016) (Figura 7).



FIGURA 7

Estratificación del riesgo según la supresión de algún isotipo en pacientes con GMSI y MMQ. La supresión de algún isotipo IgA o IgM se asoció a un tiempo de progresión a gammapatía sintomática más corto



Adaptado de Magnano, L, et al. Póster presentado en SEHH 2014.

Por último, importante destacar que se ha observado una correlación entre un ratio anormal de Hevylite® y una mayor porcentaje de células plasmáticas anormales en médula ósea.

**El ensayo Hevylite® podría ayudar a decidir en qué pacientes se justificaría un análisis de médula ósea y el momento más idóneo para hacerlo.**

**En relación a los pacientes con MMQ, el IMWG recomienda la estratificación del riesgo basada en los siguientes factores de riesgo (Dispenzieri, 2008) (Kyle, 2010):**

- 1- Proteína monoclonal en suero >30g/L**
- 2- Células plasmáticas en médula ósea >10%**
- 3- Cocientes CLL  $\kappa/\lambda$  por Freelite® >8 o <0,125**

En estos pacientes, hay que resaltar que los 5 primeros años tras el diagnóstico son los de más alta probabilidad de progresión y por lo tanto, el IMWG recomienda que tras confirmación del diagnóstico a los 3 meses, se haga un control a cada 4-6 meses durante el primer año y si sigue estable se podría alargar a cada 6-12 meses (Kyle, 2010).

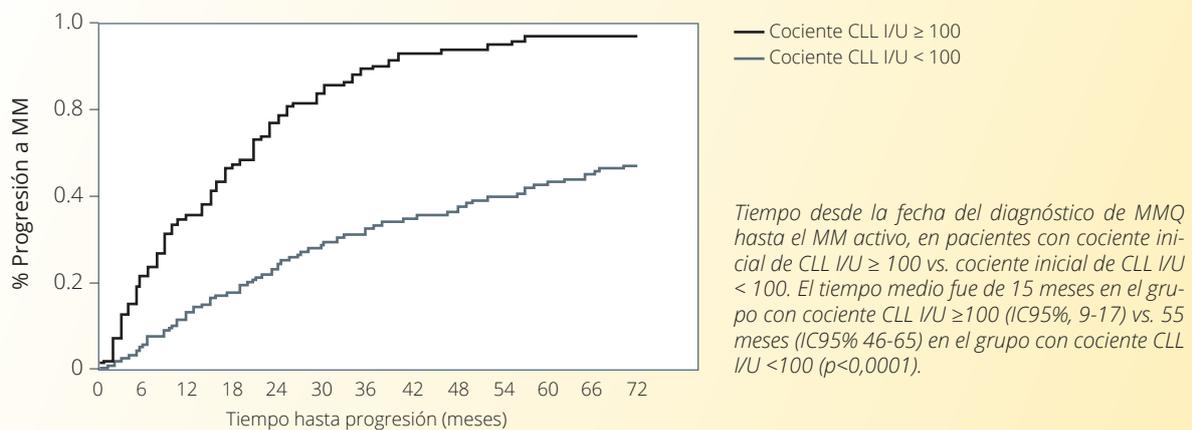
Resultados preliminares presentados en el Congreso Europeo de Hematología (EHA) de 2017 de un estudio realizado en el Hospital Clínic de Barcelona sugieren que, también en los pacientes MMQ el ensayo Hevylite® puede ser de utilidad a la hora de mejorar la estimación del riesgo de progresión de estos pacientes (Isola, 2017). Los autores concluyen que cocientes de Hevylite® muy patológicos (<0,02 o >45), supresión severa (>50%) del par Hevylite® no involucrado o de los demás pares policlonales por Hevylite® se correlacionan con factores de riesgo de progresión anteriormente validados, pudiendo convertir el ensayo en una útil herramienta para la estratificación del riesgo de estos pacientes (Isola, 2017).

### 2.1.2 Identificación de pacientes MMQ de ultra alto riesgo de progresión

En pacientes con MMQ se ha demostrado también que un ratio muy elevado de CLL en suero puede servir como biomarcador de ultra alto riesgo de transformación maligna a corto plazo y, por tanto para identificar a los pacientes en inminente riesgo de progresión sintomática (Larsen, 2012). Concretamente, se ha demostrado que un cociente inicial de CLL involucradas/no involucradas (CLL I/U) >100 indica un 72% de probabilidad de progresión de MMQ a MM en los 2 años posteriores al diagnóstico (Larsen, 2012) (Figura 8). Además, si se imponen un mínimo de 100mg/dL de componente monoclonal de CLL para estos pacientes, la probabilidad de progresión sube a 82%. Por tanto, y en función de otros estudios corroborativos, las guías del IMWG de 2014, recomiendan que pacientes con >10% CP y un ratio CLL I/U > 100 con la CLL involucrada >100mg/L sean considerados como teniendo MM activo y podrían beneficiarse de un tratamiento precoz (Rajkumar, 2014).

FIGURA 8

**MMQ en ultra-alto-riesgo de progresión a MM sintomático identificados por un ratio de CLL muy alterado (CLL I/U >100)**



Adaptado de Larsen JT, et al. Leukemia. 2012 Apr;27(4):94, 1-6. Disponible en: <https://www.wikilite.com/figure/index?page=8&per-page=12>

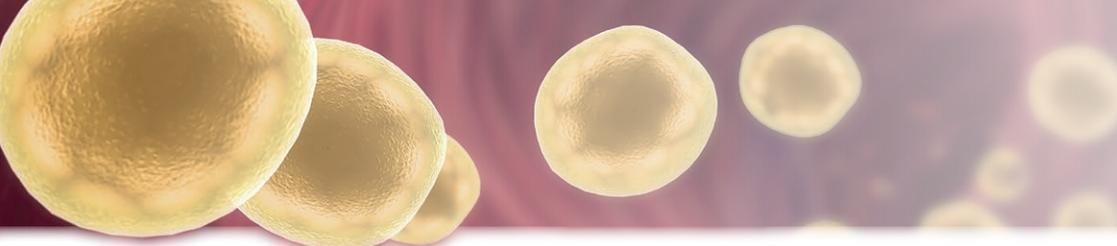
### 2.1.3 Identificación de pacientes GMSI con mayor riesgo de desarrollar insuficiencia renal

En pacientes con GMSI se debe valorar el riesgo de afectación renal en todos los pacientes (van de Donk, 2014). Se ha demostrado que el mayor riesgo de desarrollar insuficiencia renal en los pacientes con GMSI está relacionado con la presencia de un cociente CLL κ/λ alterado y una concentración elevada de CLLs involucradas (iCLL), principalmente si la iCLL >100mg/L (Johnson, 2013).

Freelite® permite identificar a los pacientes con GMSI de alto riesgo de insuficiencia renal. En estos pacientes se recomienda el seguimiento frecuente, a los seis meses y posteriormente anualmente (van de Donk, 2014).

## 2.2 Valor pronóstico en el seguimiento

Al investigar los factores predictivos de la GMSI se puede considerar, además de las características iniciales, el patrón de evolución de la proteína M durante los primeros años después del diagnóstico (progresivamente creciente vs. estable) dado que ha demostrado ser un factor de riesgo importante en la progre-

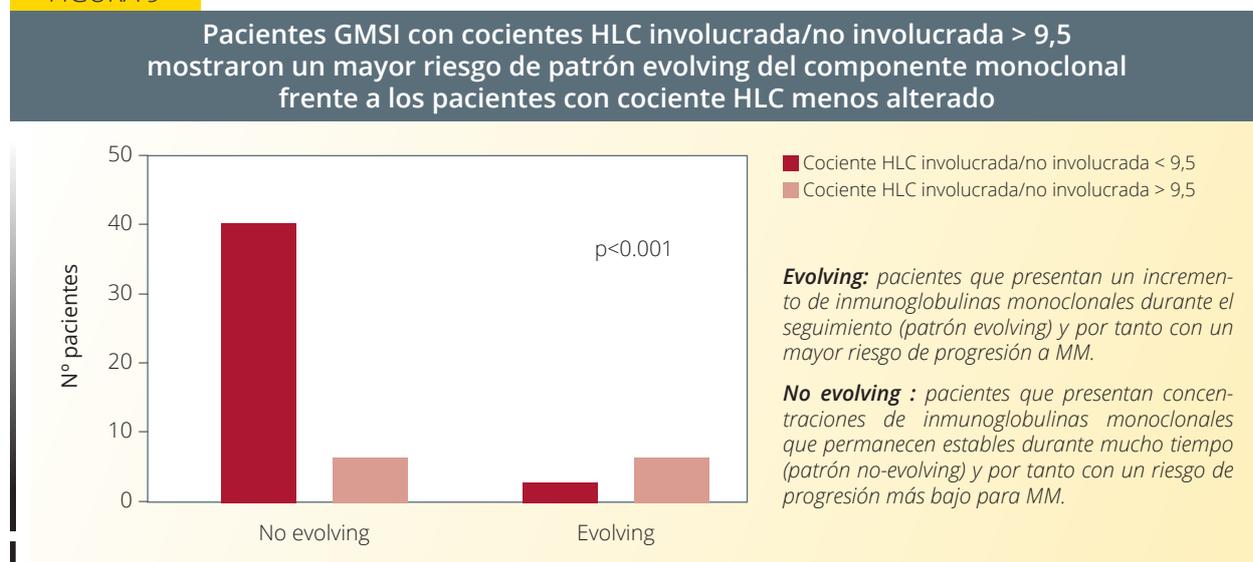


si3n de la enfermedad (Rosi3ol, 2007) (Weiss, 2014). Seg3n este concepto, se considera que existen las gammopat3as monoclonales asintom3ticas del tipo “evolving” o evolucionadas, con un pron3stico menos favorable y las del tipo “no evolving” o no evolucionadas, con una probabilidad de progresi3n bastante inferior (Rosi3ol, 2007) (Landgren, 2009).

Las GM asintom3ticas del tipo “evolving” se definen por un aumento progresivo en el tama3o de la prote3na M observada mediante la electroforesis en cada una de las mediciones anuales consecutivas durante un per3odo de 3 a3os despu3s del diagn3stico inicial. Todos los pacientes con un tama3o de prote3na M inalterado se consideran como GM “no evolving” (Rosi3ol, 2007).

M3s recientemente, Espi3o y cols (2013) observaron con respecto a los pares HLC, que las GMSI del tipo “evolving” muestran mayores valores de la cadena involucrada ( $P = 0,010$ ) y niveles m3s bajos de la no involucrada ( $P = 0,011$ ) (Espi3o 2013) (Figura 9).

FIGURA 9



Adaptado de Espi3o M, et al. Letter to British Journal of Haematology, 2013. doi:10.1111/bjh.12679  
Disponible en: <https://www.wikilite.com/site/search?keyword=evolving>

## 2.3 Conclusiones

- En el momento del diagn3stico de GMSI/MMQ, Freelite® y Hevylite® mejoran la estimaci3n del riesgo de progresi3n pues tienen valor pron3stico independiente (Katzmann, 2013).
- Durante el seguimiento, Freelite® y Hevylite® pueden ayudar a identificar a los pacientes que est3n en riesgo de progresi3n inminente a condici3n maligna (Larsen, 2012); y en los pacientes GMSI tambi3n permiten identificar a los pacientes con mayor riesgo de desarrollar insuficiencia renal (Johnson, 2013).
- Las gu3as cl3nicas recomiendan un seguimiento ajustado al riesgo de progresi3n (Van de Donk, 2015) (Kyle 2010), lo que puede conllevar menos complicaciones en el momento en el que se diagnostica la progresi3n sintom3tica y una mayor supervivencia global.
- La existencia de biomarcadores con elevado valor pron3stico como Freelite® y potencialmente Hevylite® pueden ayudar a identificar MMQ de ultra alto riesgo que puedan beneficiarse de un tratamiento precoz, retrasando la progresi3n a enfermedad activa y aumentando la supervivencia global (Mateos, 2013).

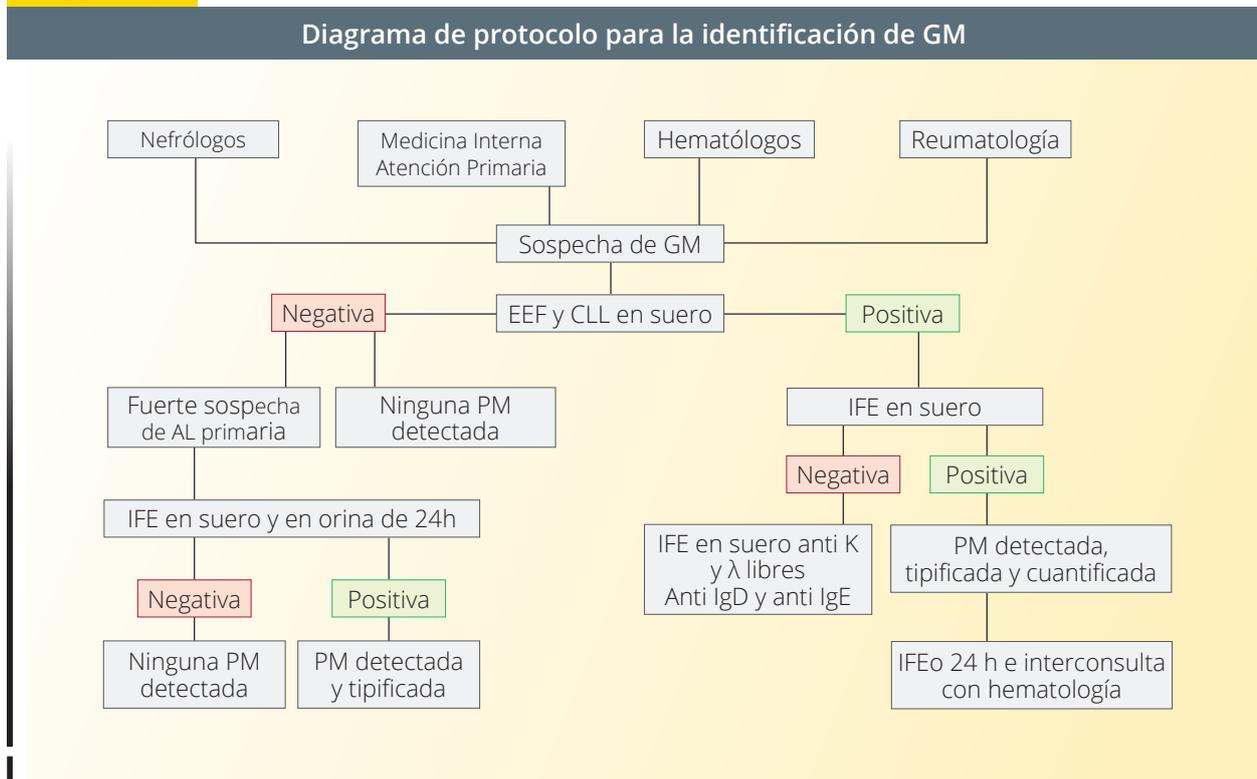
### 3. Utilidad de Freelite® y Hevylite® en las gammopatías monoclonales malignas

#### 3.1 Ante la sospecha de GM maligna–diagnóstico diferencial

Ante la sospecha de un MM se recomienda la determinación en suero de CLL (Freelite®) junto con la electroforesis de proteínas (EEF), permitiendo que los test de orina sean utilizados de manera más selectiva (Dispenzieri, 2009) (Katzmann, 2013) (Miralles, 2011) (Figura 10) como sea la situación de una posible AL (amiloidosis). Sin embargo, una vez confirmado el diagnóstico, el estudio en orina de 24 h sigue siendo recomendado (Miralles, 2011).

FIGURA 10

Diagrama de protocolo para la identificación de GM



Adaptado de Miralles A, et al. Póster presentado en el XXVII Congreso Nacional de SETH, Zaragoza 2011.

Diversos trabajos han demostrado la eficacia y utilidad del protocolo EEF+CLLs en la detección de CM. A nivel español, el grupo del Hospital de Donostia concluye que, el protocolo EEF + CLLs es el más simple y con mayor sensibilidad para la detección del CM. También García de Veas y cols (2015) encontraron una elevada Sensibilidad (100%), Especificidad (97%), Valor Predictivo Positivo (VPP) (94%) y Valor Predictivo Negativo (VPN) (100%) para este protocolo aplicado a pacientes de edad > 50 años que acuden a urgencias con dolores óseos intensos (García de Veas, 2015).



## 3.2 Ante un diagnóstico de MM/AL

### 3.2.1 Estratificación inicial del riesgo

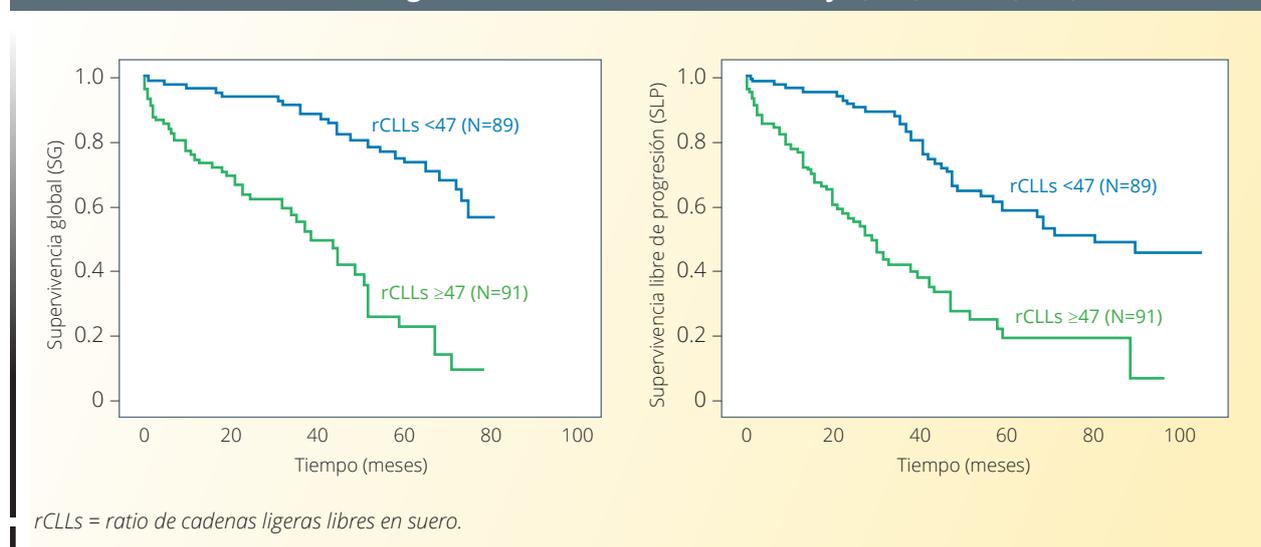
Las cifras basales del Cociente CCLs tiene un valor pronóstico para la supervivencia en el MM (Kyrtsolis, 2009) y por ello se recomienda el uso del test de CLLs al diagnóstico para todos los pacientes con Mieloma múltiple (MM), Plasmocitoma solitario y Amiloidosis (AL) (Dispenzieri, 2009).

Un cociente CLL  $\kappa/\lambda$  inferior a 0,03 o superior a 32 tiene un valor pronóstico negativo independiente para los pacientes de MM (Dispenzieri, 2008) (Katzmann, 2009) (López-Corral, 2010), mientras que en los pacientes con AL es la diferencia entre iCLL – uCLL (dCLL) >180mg/L la que se asocia con un peor pronóstico (Kumar, 2012).

En una población de 180 pacientes del sur de España con diagnóstico reciente de MM y un seguimiento medio de 35 meses (rango 18±61) (García de Veas, 2016) se observaron cuarenta y nueve muertes en el grupo de pacientes con Cociente CLLs > 47 y 23 muertes en el grupo con Cociente CLLs < 47, resultando en una Supervivencia global (SG) a los 5 años del 73% y del 23%, respectivamente (HR = 5,03, 95% CI: 2,99±8,50,  $p < 0.001$ ) (García de Veas, 2016) (Figura 11).

FIGURA 11

Valor pronóstico del cociente CLLs en pacientes con MM de reciente diagnóstico. Supervivencia global (SG) y Supervivencia libre de progresión (SLP) de todos los pacientes (n=180) estratificados según un Cociente CLL en suero bajo (<47) o alto ( $\geq 47$ )



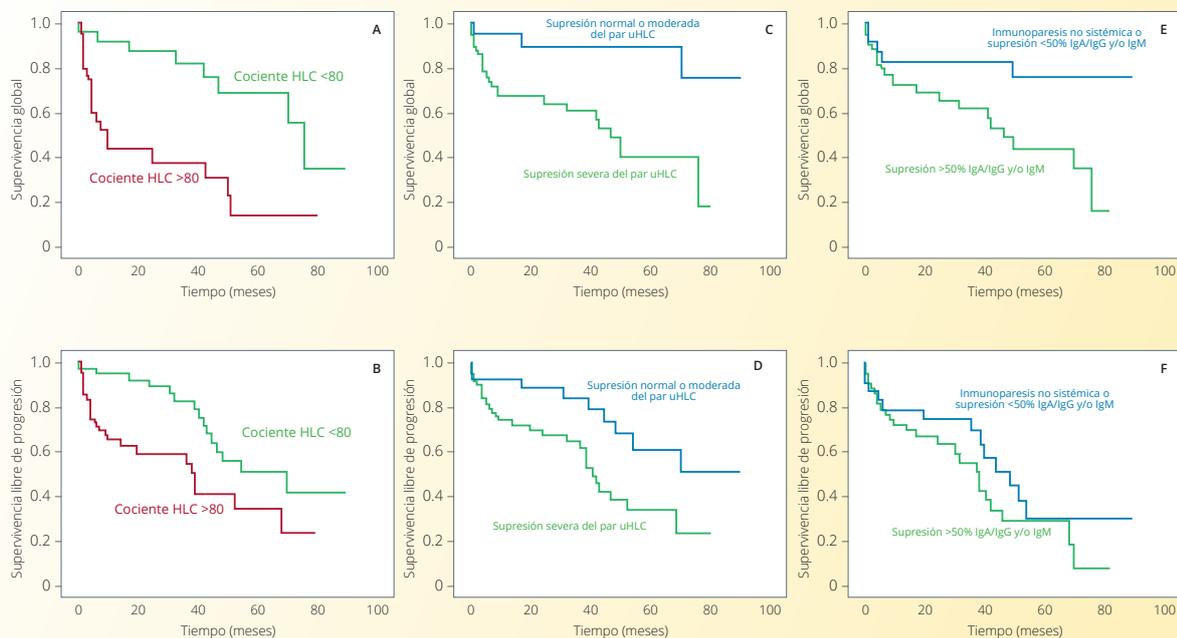
Adaptado de García de Veas, et al. PLoS ONE, 2016, 11(11): e0166841

El análisis multivariante identificó a las CLLs (HR = 4,42, IC del 95% 2,57±7,60,  $p < 0.001$ ) y a la beta-2-microglobulina (B2M) (HR = 3,04, IC 95% 1,75±5,31,  $p < 0.001$ ) como factores independientes de riesgo para resultados adversos. Los autores proponen un nuevo modelo de estratificación del riesgo basado en niveles de CLLs > 47 y B2M > 3,5 mg/L que proporcionaría un resultado estadísticamente más significativo de esta cohorte en comparación con el sistema convencional del International Staging System (ISS) (García de Veas, 2016).

García de Veas y cols, (2016) evaluaron en pacientes con MM recién diagnosticado el valor pronóstico de Hevylite®, en 85 pacientes seguidos durante una media de 19 meses. Los resultados indicaron que, la supresión severa del par uHLC junto con un Cociente HLC involucrado/HLC no involucrado >80 se asocia con una menor SG y SLP (Figura 12), lo que sugiere un potencial uso de esos parámetros como biomarcadores pronósticos en pacientes con MM de reciente diagnóstico (García de Veas, 2016).

**FIGURA 12**

**Impacto del Cociente HLC i/u en la estratificación del riesgo en pacientes con MM recién diagnosticados**



**(A)** Supervivencia global con un Cociente HLC i/u > 80; **(B)** Supervivencia libre de progresión con un Cociente HLC i/u > 80; **(C)** Supervivencia global con supresión severa del par uHLC (>50%); **(D)** Supervivencia libre de progresión con supresión severa del par uHLC (>50%); **(E)** Supervivencia global con supresión sistémica severa (>50%); **(F)** Supervivencia libre de progresión con supresión sistémica severa (>50%).

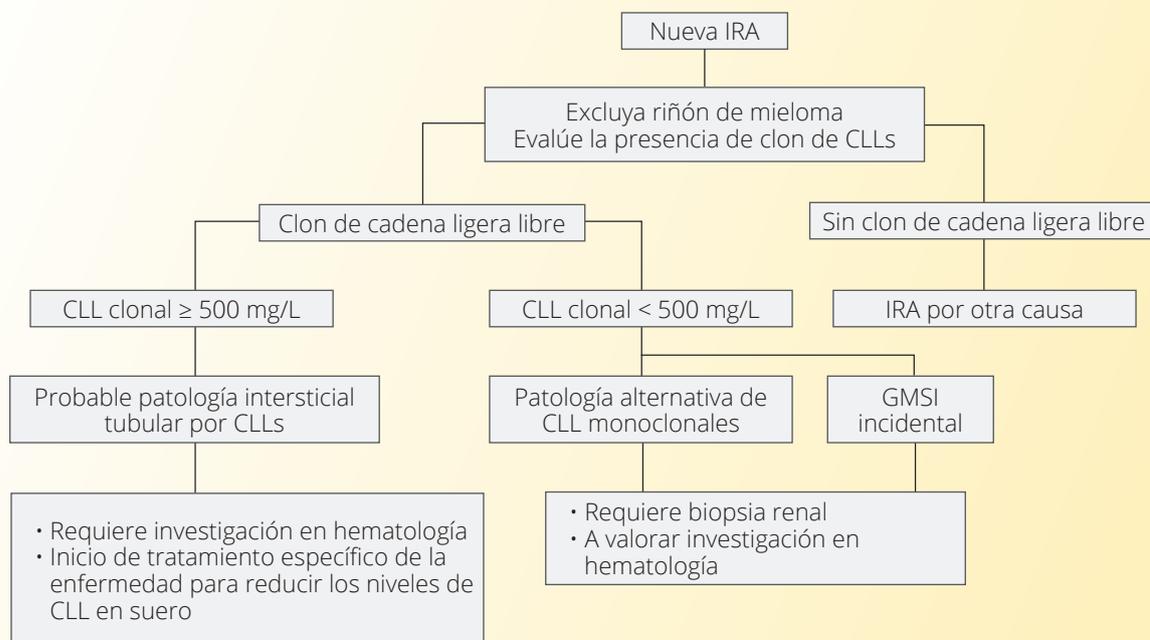
Adaptado de García de Veas, et al. ASH Annual Meeting, 2016. December 9-12.

### 3.2.2 Detección y tratamiento precoz del riesgo de riñón de mieloma

El Grupo International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research recomienda el análisis de CLLs (Freelite®) en el estudio de una Insuficiencia Renal Aguda de reciente e inexplicable aparición (Kyle 2010) y determina que en esos casos el hallazgo de CLLs clonales  $\geq 500\text{mg/L}$  es indicativo de nefropatía (Kyle 2010). Freelite® cuantifica el exceso de CLLs potencialmente nefrotóxicas permitiendo una rápida valoración inicial del riñón de mieloma (Hutchison, 2011) (Figura 13).

FIGURA 13

Algoritmo de cribado de GM en pacientes con Insuficiencia renal aguda no justificada



\*Para excluir la presencia de una inmunoglobulina monoclonal intacta, el análisis de CLL en suero se debe combinar con electroforesis de proteínas en suero.

Adaptado de Hutchison CA, et al. Nat Rev Neph 2011; 8(1):43-51.

### 3.3 En la monitorización de MM/AL

La evidencia ha demostrado que el análisis de las CLL en suero en el seguimiento de los pacientes es un marcador sensible e independiente de la evolución de la enfermedad y por ese motivo está recomendado por las guías internacionales para el seguimiento de los pacientes de MM y AL. Además, el ensayo Hevylite®, en conjunto con Freelite®, permite optimizar este seguimiento pues aporta mayor sensibilidad que las técnicas convencionales en la detección de componente monoclonal, no sufre interferencia por parte de otras proteínas séricas normales además de informar la inmunosupresión específica del par de inmunoglobulina no involucrado.

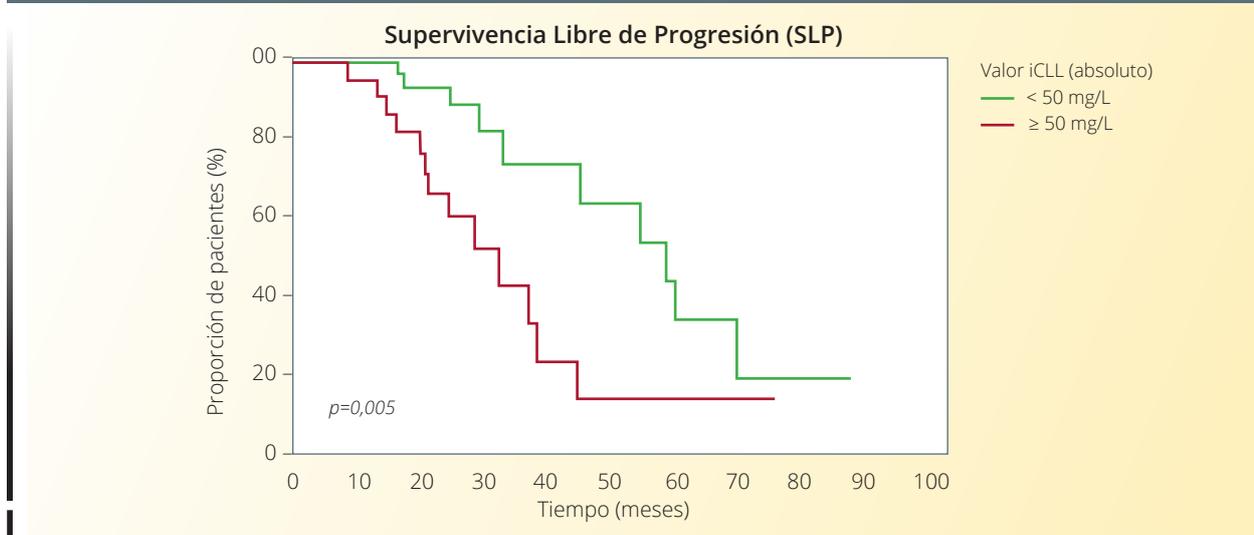
#### 3.3.1 Beneficios del test de CLLs en suero frente a la electroforesis en orina (EEFo) en el MM de Bence Jones

Los criterios de respuesta y seguimiento en el mieloma múltiple (MM) se fundamentan en la cuantificación/detección de la proteína monoclonal (PM) en suero (s) y/u orina (o). López Anglada y cols (2016) realizaron un estudio en 169 pacientes con MM de Bence Jones (MMBJ) reclutados en varios ensayos clínicos del GEM (Grupo Español de Mieloma) con una mediana de seguimiento de 75 meses, para evaluar la respuesta al tratamiento utilizando mediciones paralelas de CLL en suero (CLLs) y cuantificación del PM por EEF en suero y/u orina.

Los resultados mostraron que existe una moderada concordancia (Índice kappa=0,477) entre la EEFo y la CLLs para la evaluación de la respuesta en MM BJ, pero que la prueba de CLLs proporciona una mayor sensibilidad para el seguimiento de bajos niveles de enfermedad. Además se observó, que una concentración de iCLLs >50mg/L es suficiente para indicar un mayor riesgo de progresión, independientemente de la respuesta alcanzada (Figura 14) (Lopez Anglada, 2015) (Lopez Anglada, 2016).

FIGURA 14

**SLP según valor absoluto de CLL monoclonal en suero (iCLL). Pacientes de MM con unas CLLs monoclonales superiores a 50mg/L presentan una SLP inferior a los pacientes con concentraciones más bajas de CLLs monoclonales**



Disponible en. Lopez-Anglada, L, et al. Poster presentado en el Congreso de la SEHH, 2016

A nivel internacional, un estudio con pacientes del grupo IFM (Intergroupe Francophone du Myelome) confirma los mejores resultados aportados por la cuantificación de CLL en suero para predecir la evolución de los pacientes tras tratamiento frente a las determinaciones de proteína de Bence Jones en orina (Dejoie, 2016).

### 3.3.2 Pacientes con paraproteínas difíciles de detectar y/o cuantificar por las técnicas tradicionales

Hevylite® permite la monitorización cuantitativa de paraproteínas difíciles de medir como las que migran en la zona beta de la EEF o que están en bajas concentraciones (<1g/dL).

Las guías de manejo de pacientes con GM (Dimopoulos, 2011) recomiendan la cuantificación de componentes monoclonales (CM) por EEF en suero aunque se reconozca sus limitaciones en determinados tipos de CM. A pesar de su uso extenso en los laboratorios clínicos, el proceso de cuantificación del CM puede presentar elevados coeficientes de variabilidad, bien sea debido al método de integración del pico monoclonal (PM) o por el patrón de migración de la propia proteína (co-migración, bandas difusas, múltiples, etc). En el caso de componentes monoclonales del tipo IgD y principalmente IgA esta problemática es más frecuente (hasta un 44% de los pacientes IgA presenta un PM difícil de cuantificar) estando recomendado que su seguimiento se haga preferencialmente por métodos cuantitativos (Kumar, 2016).

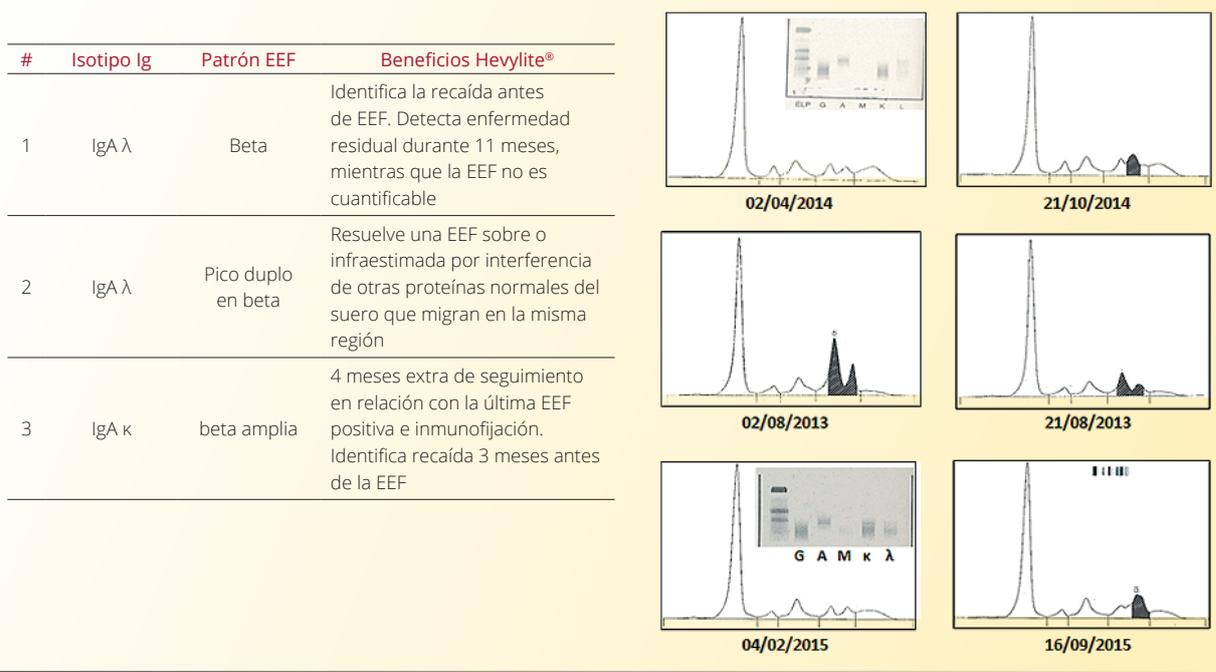


Jimenez y cols (2015) estudiaron el impacto de la variabilidad asociada a la cuantificación del pico monoclonal por EEF, así como la utilidad del ensayo Hevylite® como una alternativa cuantitativa y sensible más fácil de estandarizar. La buena correlación observada entre la cuantificación del componente involucrado por Hevylite® y la cuantificación del CM posiciona a este inmunoensayo como una alternativa viable a la EEF, permitiendo una cuantificación fiable del CM incluso cuando co-migre con otras proteínas séricas o sea de baja concentración (Figura 15). Asimismo, Hevylite® se presentó como una alternativa a la medición de las inmunoglobulinas totales para una mejor valoración del CM (Jiménez, 2015).

Basado en varios estudios que totalizan más de 430 pacientes, se concluye que el 44% de las proteínas monoclonales IgA no se podían cuantificar correctamente por EEF, mientras que con Hevylite® se pudo determinar con precisión la concentración del 99% de los casos (Boyle, 2014) (Elssner-Freund, 2015) (Ludwig, 2014) (Amolak, 2013) (Bengoufa, 2010) (Lock, 2013).

FIGURA 15

**Beneficios de la determinación por Hevylite® de IgA problemáticas por EEF**



Adaptado de Pérez R, Jiménez I, Meléndez AG, et al. Poster presentado en AACC 2016

### 3.3.3 Evaluación precisa de la respuesta al tratamiento

Las guías internacionales recomiendan realizar determinaciones seriadas de CLLs (Freelite®) de forma rutinaria en el seguimiento de pacientes con Amiloidosis (AL), MM oligosecretor y MM Bence Jones, para la detección de escape de cadenas ligeras y en todos los pacientes que hayan alcanzado una respuesta completa (RC) con el fin de determinar si han alcanzado una respuesta completa estricta (RCe) (Tabla 2) (Dispenzieri, 2008) (Ludwig, 2013). Además, desde 2016 el ensayo de Hevylite® se incluye en las guías del IMWG (Kumar, 2016) como alternativa posible a la electroforesis cuando su resultado genere dudas.

La RCe se asocia con una mayor SG y SLE (García de Veas, 2016) cuando se compara con niveles de respuesta inferiores.

TABLA 2

**Criterios de Respuesta completa y Respuesta completa estricta**

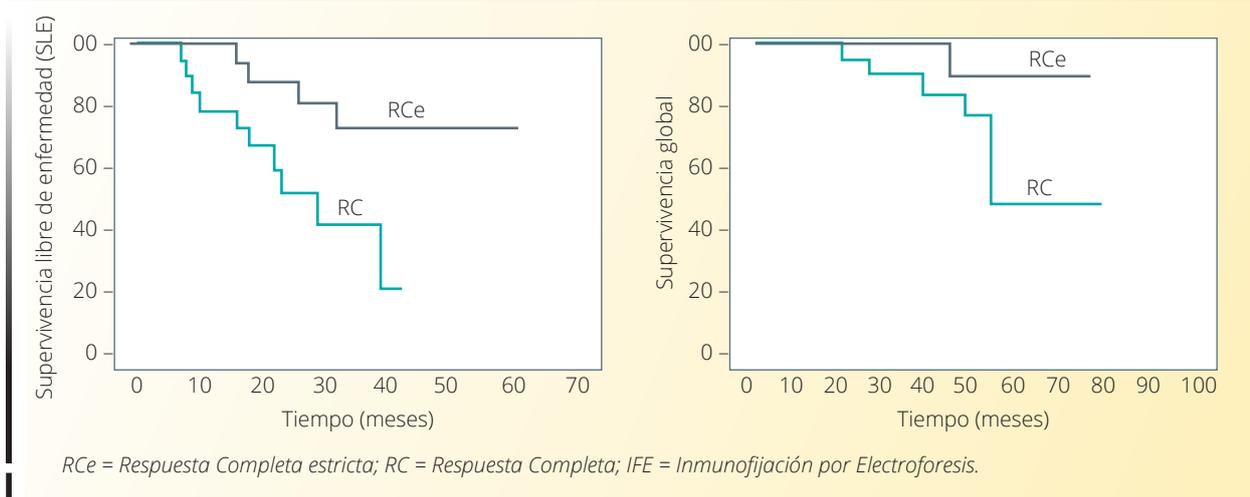
Criterios RESPUESTA COMPLETA (RC)
IFE negativa en suero/orina Células plasmáticas (CP) en MO <5%
Criterios RESPUESTA COMPLETA ESTRICTA (RCe)
IFE negativa en suero/orina Ausencia de células clonales en MO Cociente CLLs normal

Adaptado de Kumar S, et al. Lancet Oncol, 2016. 17(8):e328-46.

García de Veas y cols (2016), han evaluado el impacto de la SLE como factor pronóstico en 36 pacientes que alcanzaron RCe o RC tras el tratamiento con Bortezomib/Dexametasona. La mediana de SLE de los pacientes que lograron RC (N=17) fue de 29 meses (IC del 95%: 18±39 meses) vs No Alcanzada de los pacientes en RCe. Adicionalmente, la RCe se asoció con una SG superior comparada con la RC (mediana No alcanzada vs 52 meses, respectivamente) (García de Veas, 2016) (Figura 16).

FIGURA 16

**Supervivencia libre de enfermedad de los pacientes que lograron Respuesta completa (RC) (n = 19) y Respuesta completa estricta (RCe) (n = 17).  
Supervivencia global (SG) de los pacientes que lograron RC (n = 19) y RCe (n = 17)**



Adaptado de García de Veas, et al. PLoS ONE, 2016, 11(11): e0166841

**3.3.4 Identificación precoz de recaída**

La identificación precoz de una recaída puede jugar un papel importante en el pronóstico de los pacientes de MM en seguimiento, principalmente en aquellos casos cuya presentación inicial haya sido muy agresiva o con afectación orgánica severa.



Andrade Campos y cols (2015) analizaron la utilidad de la determinación de HLC y CLLs para detectar una posible Recaída biológica precoz (no sintomática) (RBP) en 84 pacientes que completaron al menos 4 ciclos de tratamiento con Bortezomib entre junio 2008 y junio 2014. El 65,7% de los pacientes que lograron al menos una respuesta parcial (RP) tuvo una recaída/progresión clínica. En el 86,9% de ellos se detectó una RBP que se anticipó, en media, unos 4,4 meses a la detección de la recaída clínica.

La SLP estimada por recaída clínica (es decir, por el resurgimiento de síntomas) presentó una mediana de 30 meses (IC del 95%: 24,05-35,94) frente a una mediana de 23 meses (IC del 95%: 26,94-19,05) para la RBP. Las RBP se detectaron: 1) solamente por CLLs en el 28,6% de los casos, 2) solamente por HLCs en el 14,3%, 3) conjuntamente por CLL+SPE en el 10,2%, 4) solamente por IFE en el 2,0%, conjuntamente por 5) CLL+IFE, o por CLL+HLC+EEF, o por CLL+HLC+EEF+EEFo, respectivamente, en el 7,1%, 30,6%, y 7,2% de los casos (Andrade-Campos, 2015).

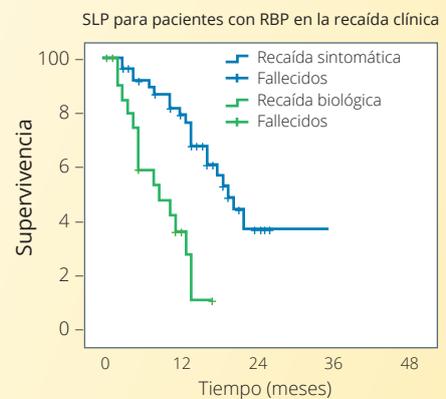
También en pacientes sujetos a trasplante autólogo se ha observado la utilidad de Freelite® y de Hevylite® para detectar RBP, incluso por delante de otras técnicas en más del 50% de los pacientes (Andrade-Campos, 2015) (Figura 17).

**FIGURA 17**

**Utilidad de la cuantificación de Hevylite® y Freelite® en pacientes diagnosticados de mieloma múltiple secretor después del trasplante autólogo de células madre para detectar Recaídas biológicas precoces (RBP)**

Pre-TAPH	3 meses TAPH Respuesta %	Recaída n=27(%)	Recaída precoz (%)
RCe: 4	RCe: 13	RBP: 19 (70.4)	rCLL
RC: 6	RC: 13	Sintomático: 21 (77)	rHLC
RPMB: 28	RPMB: 30.4	Después de RBP: 13	CLL+EEF
RP: 50	RP: 39.1		CLL+IFE
EE: 12	EE: 4.5		CLL+HLC+EEF
			CLL+HLC+EEF+EEFo

TAPH: Trasplante Autólogo de Progenitores Hematopoyéticos  
 RPMB: Respuesta Parcial muy buena  
 RP: Respuesta parcial  
 EE: Enfermedad estable  
 RBP: Recaída biológica precoz



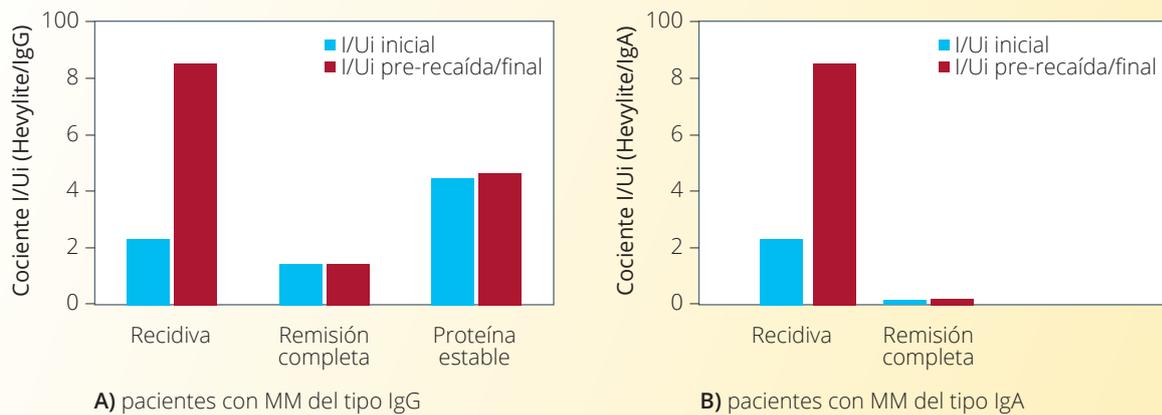
Adaptado de Andrade-Campos M, et al. Póster presentado en IMW Congress 2015.

Espiño y cols (año 2017) estudiaron una población de 44 pacientes de MM sujetos a un Trasplante Autólogo de Progenitores Hematopoyéticos (TAPH), seguidos prospectivamente durante 29±3,8 meses (media±DE). Tras el tratamiento, 18 pacientes recayeron, 5 mantuvieron un CM estable sin progresión clínica y 21 alcanzaron una RC.

La determinación por Hevylite® del ratio de inmunoglobulina implicada y no implicada del isotipo monoclonal fue el factor predictivo de recaída precoz más preciso, identificando la progresión clínica 4,6 meses antes de la recidiva sintomática (Espiño, 2017) (Figura 18).

FIGURA 18

Variación de los valores del cociente de inmunoglobulinas involucradas/no involucradas (I/U) determinados por Hevylite® durante el seguimiento

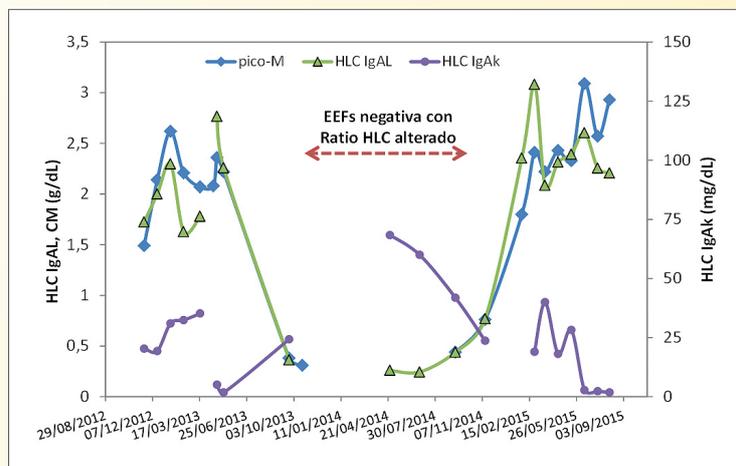


Adaptado de Espiño M, et al. Bone Marrow Transplantation, 2017; 52, 1206-1207.

Finalmente, destacar un caso clínico del Hospital de Cruces publicado en el Congreso internacional de la Asociación Americana de Química Clínica (2016) y posteriormente ampliado en el Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (2016) donde se observa claramente como el agravamiento de la inmunosupresión del par Hevylite® no involucrado es el primer factor indicativo de una recidiva de la enfermedad) (Figura 19) 3 meses antes que la EEF e incluso antes de que cualquiera de las demás inmunoglobulinas policlonales demostrasen una disminución de sus niveles (Pérez, 2016).

FIGURA 19

El seguimiento del cociente Hevylite® (rHLC) no se llega nunca a normalizar aunque la EEFs fuera negativa. En abril de 2015 el rHLC se agrava debido a la disminución del par no involucrado de Hevylite®, la IgAk, adelantando en 3 meses la positividad de la EEF en suero



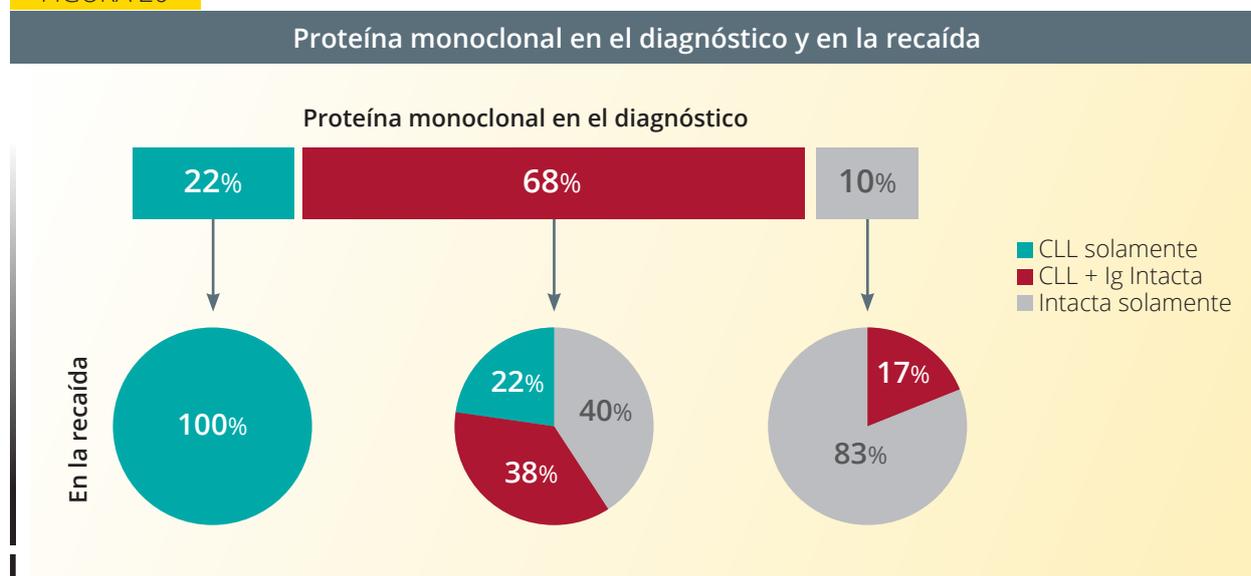


### 3.3.5 Identificación de cambios clonales en la recaída

Los tipos de proteínas monoclonales detectados en la recaída /progresión pueden no ser exactamente los mismos que los observados al diagnóstico (Zamarín, 2013) (Brioli, 2014) (Figura 20). En algunos pacientes puede que la recaída se produzca solamente con cadenas ligeras libres cuando al diagnóstico se podía detectar también inmunoglobulinas completas – fenómeno conocido como escape de cadenas ligeras. La incidencia de este fenómeno depende del isotipo original. Zamarín y cols (2013) observaron que:

1. Los pacientes con solamente CLL al diagnóstico no mostraron cambios
2. El 68% de los pacientes con simultáneamente Igs intactas y CLL al diagnóstico cambiaron su tipo de CM tras la recaída
3. El 17% de los pacientes con solamente Igs intactas al diagnóstico cambió su tipo de CM
4. En el total de la población, el 44% de los pacientes cambió su tipo de CM en la recaída

FIGURA 20



Adaptado de Zamarín D, et al. Bone Marrow Transplant, 2013. 48(3): 419-424.

Estos cambios clonales destacan la importancia de utilizar técnicas complementarias como Freelite® y Heylyte® con el fin de garantizar que el seguimiento del paciente sea el más idóneo minimizando el riesgo de que pueda pasar desapercibido un posible aumento de CM, sea de CLL únicamente, o de Ig completa.

### 3.3.6 Pacientes tratados con fármacos basados en anticuerpos monoclonales (AcM)

El uso de anticuerpos monoclonales IgGκ humanos en un paciente con MM IgGκ puede resultar en una proteína M detectable en sangre periférica que puede malinterpretarse como enfermedad residual en la evaluación de la respuesta (es decir, dar falsos positivos de enfermedad residual).

Murata y cols en 2016, han evaluado el efecto del tratamiento del MM con varios AcM, y el dilema de los picos M falsos positivos a partir de la interpretación de los resultados generados por EEF, Inmunofijación (IFE) y por la determinación de CLL o de HLC en el suero (Murata, 2016). Los AcM se añadieron directamente a muestras de sueros normales (no mielomas) y también en dos muestras de pacientes con MM IgGκ (uno en RC y el otro con pico M visible).

Se observó que tanto la EEF como la IFE pasaron a ser “positivas”, presentando bandas monoclonales visibles y cuantificables, mientras que con Freelite® se mantuvo la interpretación clínica de los resultados. Con Hevylite®, aunque se observó un aumento de la concentración de la IgGκ, se mantuvo la información clínica aportada por el cociente HLC (IgGκ/IgGλ) (Murata, 2016). También se estudiaron *in vivo* las muestras de suero de tres pacientes con MM (2 IgAλ y 1 de CLL κ) tratados con AcM y se evaluaron con EEF y IFEs. Todos los pacientes tuvieron una banda IgGκ presente en la IFE una semana después del tratamiento y de los tres, dos tuvieron un pico M cuantificable mediante EEF que se incrementó con el número de dosis (Murata, 2016).

El estudio concluyó que el tratamiento de pacientes con MM y AcM resulta en una proteína M visible y cuantificable que tiene el potencial de falsear la valoración de la respuesta al tratamiento. Sin embargo con Freelite® o Hevylite® no se observó ningún efecto clínicamente significativo.

La interferencia de los fármacos basados en AcM observada en la EEF y la IFE se ha confirmado también en otros estudios (Cicliana, 2016) (Rosenberg, 2016), fenómeno este que no se observa con Freelite® (Rosenberg, 2016). En 30 muestras de suero de pacientes con proteínas M IgGκ, se añadió daratumumab a una concentración final de 1,0 mg/mL (la máxima concentración clínicamente relevante) y se realizó Freelite® en las muestras. Los resultados permiten concluir que no hubo efectos significativo sobre los valores de CLLκ, CLLλ ni del cociente CLL κ/λ. Daratumumab también se evaluó solo, (sin suero) en una concentración supratrapéutica de 2000 mg/L a través de cinco repeticiones de Freelite®. El rango de resultados de CLLκ se distribuyó entre 0,4 mg/L y 1,4 mg/L, que es el límite inferior de cuantificación del ensayo, siendo por eso poco probable que el AcM interactúe con el ensayo Freelite®.

**Estos estudios ofrecen pruebas de que Freelite® es un ensayo práctico y complementario a la EEF y a la IFs en pacientes tratados con daratumumab.**

### 3.4 En el estudio y seguimiento de la Macroglobulinemia de Waldenström

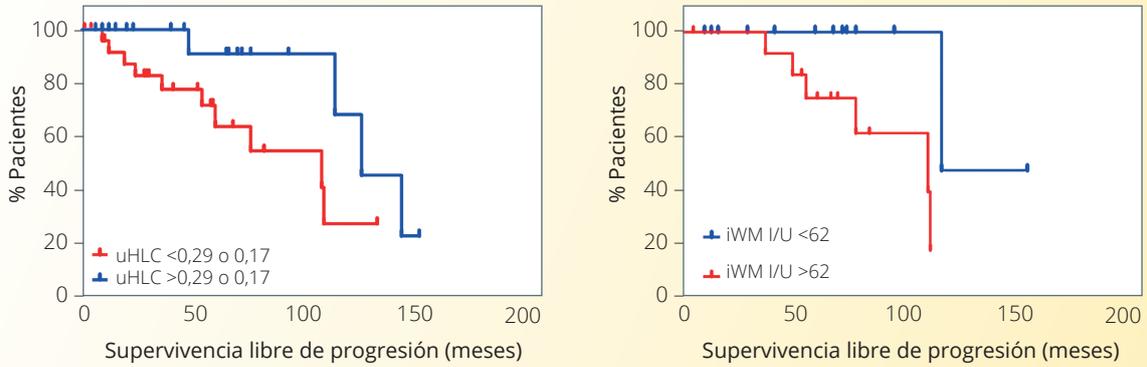
La Macroglobulinemia de Waldenström (MW) se caracteriza por una proliferación anormal monoclonal de linfocitos B que infiltran la médula ósea y los órganos linfoides, con producción de cantidades elevadas de IgM monoclonal. Aunque con menor número de evidencias acumuladas, se ha observado valor pronóstico también en la MW para CLL monoclonales superiores a 80 mg/l, encontrándose una asociación con la necesidad de requerir tratamiento con una mediana de un año desde el diagnóstico (Itzykson, 2008). Además, valores de CLL en suero superiores a 60mg/l se han asociado con valores de hemoglobina más bajos y de Beta 2-microglobulina más altos y son más frecuentes en MW sintomática que en los MW indolentes o en las GMSI IgM (Andrade-Campos, 2017).

Relativo a la utilidad de Hevylite® en las MW, Andrade-Campos y cols estudiaron el valor pronóstico del ensayo en un grupo de 90 pacientes consecutivos de MW del Hospital Miguel Servet (Andrade-Campos 2017). Los autores observaron que un ratio HLC IgM involucrada/no involucrada >62 permitía identificar un grupo de pacientes con MW indolente, o sea, asintomáticos, con un tiempo más corto hasta la aparición de síntomas (p=0,03) (Figura 21). Además, cuando se analizaron separadamente el par HLC involucrado y el par HLC no involucrado se observó que solamente la inmunosupresión del par no involucrado era predictiva de un tiempo más corto hasta progresión o hasta recaída (Figura 21).



FIGURA 21

### Valor pronóstico de Hevylite® en pacientes con Macroglobulinemia de Waldenström



Hevylite® identifica a pacientes con MW indolente (WMI) en mayor riesgo de progresión. uHLC: par Hevylite® no involucrado inmunosuprimido (<0,29 o 0,17 g/L si el par es IgMκ o IgMλ, respectivamente); I/U: cociente Hevylite® del par involucrado/par no involucrado.

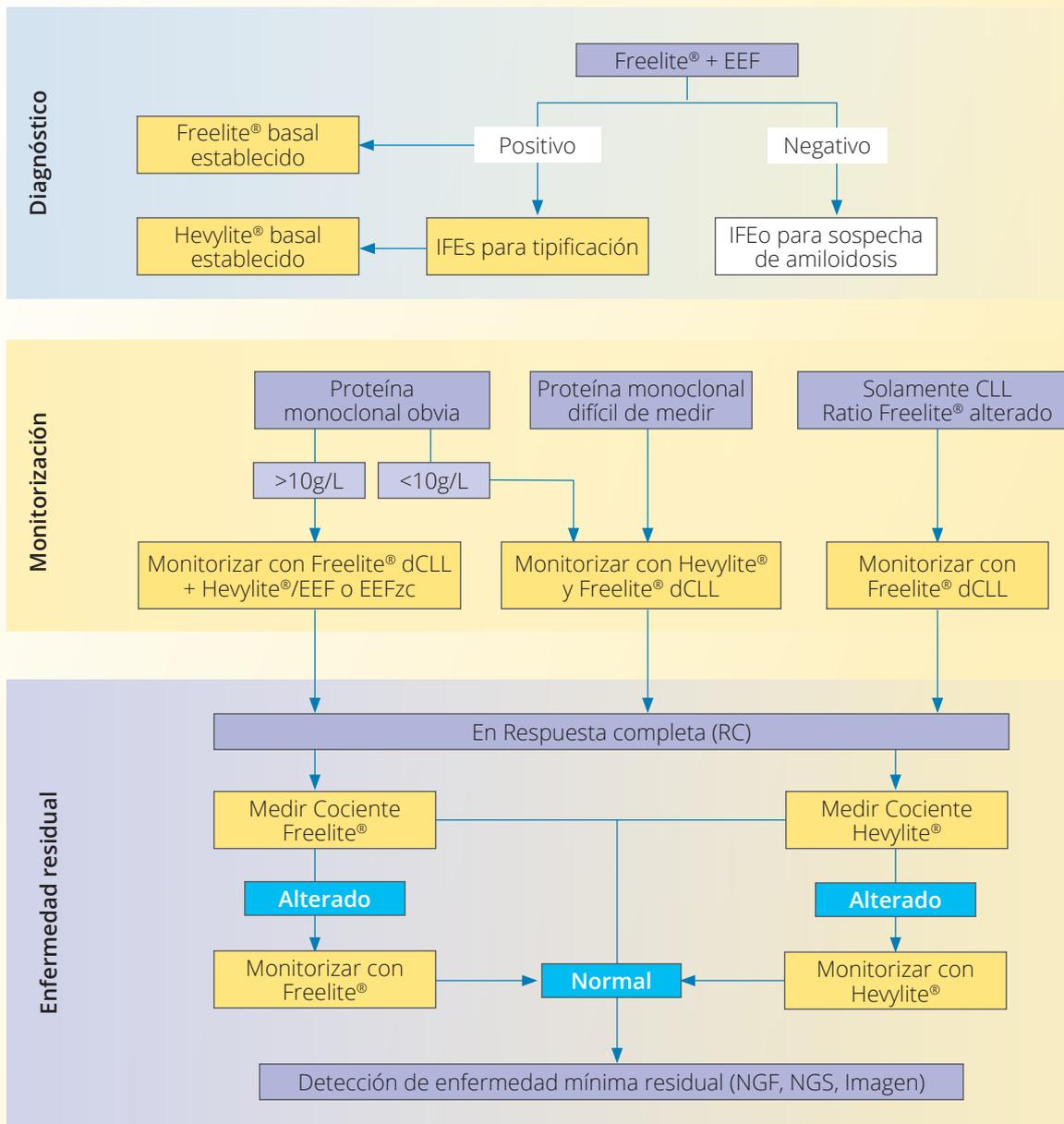
Adaptado de Andrade-Campos, et al. Clin Chem Lab Med. 2017; 28;55(10):1598-1604

**En un contexto de una enfermedad donde la cuantificación del componente monoclonal es un desafío debido a la propensión de la IgM a formar grandes agregados, puede ser de gran utilidad el uso de Hevylite® para el seguimiento de los pacientes diagnosticados con MW.**

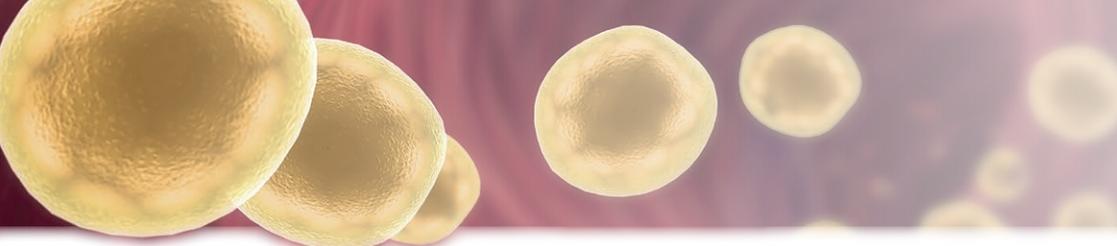
### 3.5 Algoritmo de uso de Freelite® y Hevlyte® en pacientes con GM

FIGURA 22

Propuesta de algoritmo para el diagnóstico, seguimiento y monitorización de GM



EEF: Electroforesis de proteínas; EEFzc: Electroforesis en zona capilar; IFEs: Inmunofijación en suero; IFEo: Inmunofijación en orina; dCLL: Cadena ligera libre monoclonal menos cadena ligera libre policlonal; NGF: citometría de flujo de nueva generación; NGS: secuenciación de nueva generación.



## 4. Utilidad de Freelite® como marcador de actividad de células B en enfermedades con incrementos policlonales

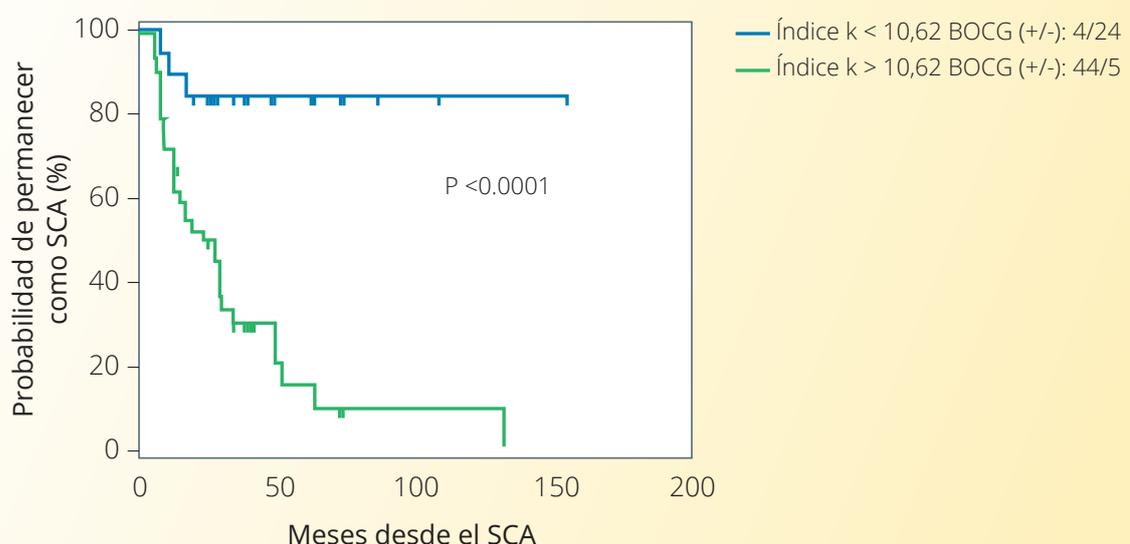
### 4.1. En pacientes con esclerosis múltiple (EM)

Tomado como referencia el estudio realizado por May Villar y cols (2011) con gran impacto a nivel de la comunidad científica española, Menéndez-Valladares y cols (2015) han querido ampliar las evidencias de la utilidad de la determinación de CLL $\kappa$  en líquido cefalorraquídeo (LCR), para predecir la conversión de los pacientes con Síndrome clínico aislado (SCA) a EM clínicamente definida y compararla con otros parámetros habitualmente utilizados. En el estudio participaron 176 pacientes divididos en 3 grupos: grupo control (n=70), grupo SCA (n=77) y grupo EM con recaídas-remitente (n=29).

Los pacientes con SCA con un índice  $\kappa > 10,62$  presentaron 7,34 veces más riesgo de conversión a EM que los pacientes SCA con un índice  $\kappa$  por debajo de este valor (Menéndez-Valladares, 2015) (Figura 23 y 24).

FIGURA 23

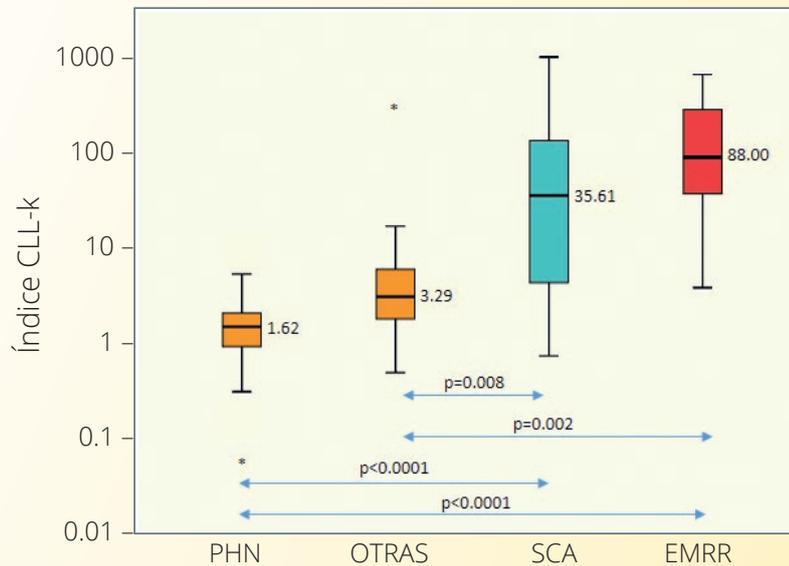
Análisis Kaplan-Meier para los pacientes con Síndrome clínico aislado (SCA). Se muestra la probabilidad de permanecer como SCA según presente un índice CLL- $\kappa$  mayor o menor que el punto de corte de 10,62



Adaptado de Menéndez-Valladares, et al. Multiple Sclerosis Journal – Experimental, Translational and Clinical. First Published December 16, 2015

FIGURA 24

Índice CLL-k para los diferentes grupos del estudio



Representación del Índice k en cajas y barras: se indican la mediana y los percentiles 25 y 75 del índice k (cajas coloreadas) y máximos y mínimos (barras de errores) y valores extremos (\*). Los pacientes se dividieron en cuatro grupos: Subgrupo con presión hidrocefálica normal (PHN), mediana 1,62, Subgrupo de enfermedades neurológicas diferentes a PHN (OTRAS PATOLOGÍAS), mediana 3,29; Subgrupo con Síndrome clínico aislado (SCA), mediana 35,61 y Subgrupo con Esclerosis múltiple con recaída remitente (EMRR), mediana 88,00 (se muestran valores de p significativos entre los grupos (flechas de dos puntas)).

Adaptado de Menéndez-Valladares, et al. Multiple Sclerosis Journal – Experimental, Translational and Clinical. First Published December 16, 2015

Además, el índice CLLk se correlacionó con las BOC IgG, un índice IgG > 0,56 y con los criterios de Imagen por Resonancia Magnética (IRM) (Menéndez-Valladares, 2015).

**En la Tabla 3 se presentan los datos más relevantes de los estudios que evalúan el uso de la determinación de CLLk en líquido cefalorraquídeo en pacientes con EM realizados en España.**

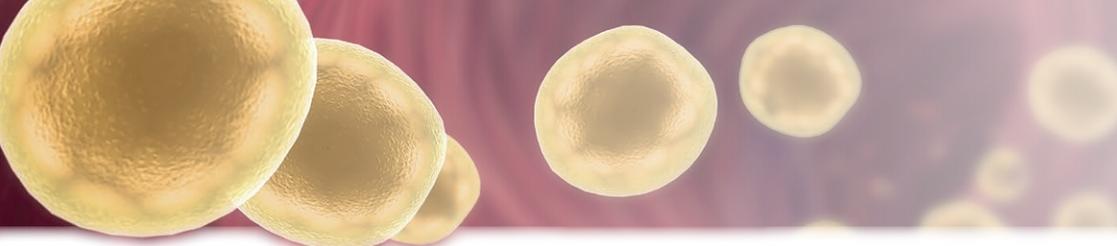


TABLA 3

**Evidencia española de las determinaciones de CLLk por Freelite® en LCR, como marcador de evaluación del riesgo de EM**

Publicación	Objetivo	Métodos	Resultados
Menéndez-Valladares et al. Multiple Sclerosis Journal, 2015	Valor predictivo del índice CLLk, para la conversión de pacientes SCA a EM	176 pacientes: 70 como grupo control, 77 SCA y 29 recaída intermitente de EM	Los pacientes SCA con índice CLLk por encima del punto de corte de 10,62 presentaron 7,34 más riesgo de conversión a EM que los de SCA por debajo de este valor. El índice CLLk se correlacionó con BOCs positiva, índice IgG por encima de 0,56 y criterios de IRM
García de Veas JL, et al. EUROMEDLAB 2015	Relacionar el índice Tibbling, el índice Tourtellote y el índice CLLk, con la presencia o ausencia de BOCs y la edad	66 pacientes de diferentes hospitales en España entre noviembre de 2011 y febrero de 2012	El índice CLLk (111,02 vs 17,37), el índice Tibbling (0,69 vs 0,52) y el índice Tourtellotte (4,41 vs -1,73) estaban significativamente elevados en la EM respecto a los pacientes con otras enfermedades inflamatorias del SNC ( $p < 0,001$ ). El área bajo curva (AUC) fue mayor para el índice Tibbling (0,892) seguido por los índices de Tourtellotte (0,805) y el índice CLLk (0,778).
Díaz TS, Carvalho NMB, AACC 2013	Valor de la CLLk-LCR en la diferenciación de pacientes SNC vs pacientes con EM	204 pacientes consecutivos no seleccionados sometidos a una punción lumbar	Los niveles de CLLk en LCR presentan una sensibilidad y especificidad ligeramente superior en comparación con el índice IgG tradicional -Dentro de la población con BOC positivas, los niveles de CLLk- en LCR permitieron la diferenciación de los pacientes EM positivos y EM negativos
Cámara Hijón C, et al. Hematology Reports 2015	Análisis de CLL en LCR como biomarcador de la EM	192 pacientes con LCR disponible	La elevación de CLL-k en LCR por encima de 0,053 mg/dL ha demostrado ser un fuerte indicador de desmielinización en enfermedades del SNC, tanto en EM como en SCA

## 4.2. En pacientes con enfermedad celiaca (EC)

### *Determinación de CLL ( $\kappa + \lambda$ ) en suero (Freelite®) como marcador de normalización de la mucosa intestinal*

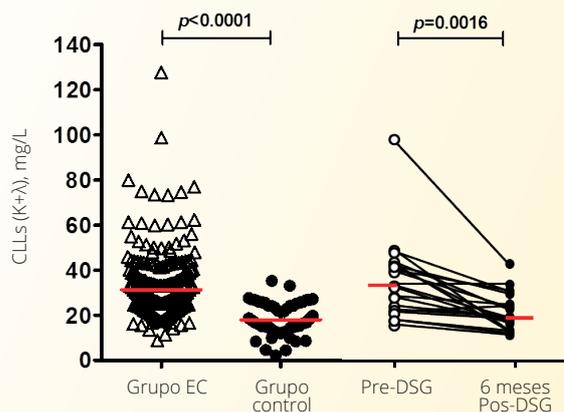
Jiménez J y cols (2015) evaluaron la utilidad de los niveles de CLLs como marcadores de alteraciones de la mucosa intestinal en un estudio con 165 pacientes con EC (con muestras al diagnóstico y a los 6 meses tras el inicio de una dieta sin gluten) vs grupo control (52 pacientes). Se realizaron determinaciones de CLL en suero mediante el test Freelite®, así como de Ac IgA, de TG2 (Ac antitransglutaminasa) y de EMA (Ac antiendomisial) (Jiménez, 2015).

Las diferencias encontradas en los niveles de CLL ( $\kappa + \lambda$ ) en suero entre el grupo de pacientes con EC y sin EC podrían estar relacionadas con la alteración de la mucosa intestinal característica de la enfermedad (Figura 25) (Jiménez, 2015).

Aunque se traten de resultados preliminares, los niveles de CLL ( $\kappa + \lambda$ ) en suero podrían revelarse de utilidad en el diagnóstico de la EC y contribuir para evitar la biopsia duodenal (Jiménez, 2015). Además, la disminución significativa de los niveles de CLL ( $\kappa + \lambda$ ) en suero a los 6 meses del inicio de la dieta sin gluten (conforme a la normalización de los otros marcadores serológicos tradicionales de EC) anticipan un rol potencial de las CLL como marcador de la respuesta (Jiménez, 2015). Sin embargo se necesitan más estudios que corroboren estos datos.

FIGURA 25

Valores de CLL en suero en pacientes con Enfermedad Celiaca (n=165) y en controles (n=52)



Valores de cadenas ligeras libres  $\kappa + \lambda$  en suero (CLLs) para 165 pacientes Celiacos y 52 controles. EC: Enfermedad Celiaca; DSG: Dieta sin Gluten. Las líneas horizontales representan los valores medianos en cada grupo. Mann-Whitney test para la determinación de significancia.

Adaptado de Jiménez J, et al. American Association of Clinical Chemistry, 2015.



### **4.3. En pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), determinación de cll ( $\kappa + \lambda$ ) en suero (Freelite®) en el seguimiento de los pacientes**

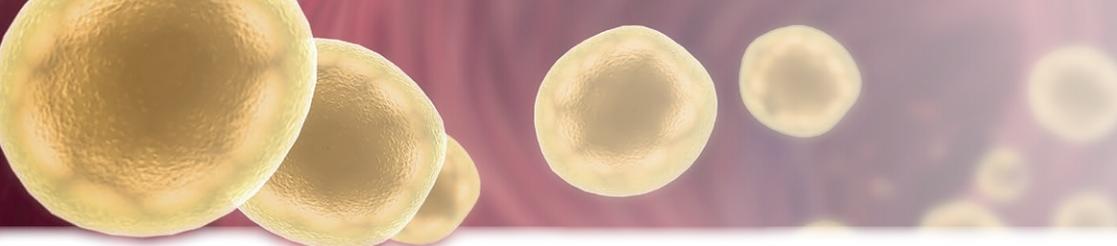
La facilidad de uso de Freelite® y el relativamente corto tiempo de semivida de las CLL en suero hacen que sea un potencial marcador de rápida respuesta complementario a las técnicas de estudio del LES (Jiménez, 2015).

Juana Jiménez y cols (2015) presentaron los resultados de un caso con LES que demuestra la utilidad de la determinación de CLLs durante la monitorización del paciente. Se trataba de una mujer de 34 años con diagnóstico de LES que comienza tratamiento estándar, pero desde 2003 se cambió el tratamiento debido a recaídas con alteración renal. Más tarde tuvo nuevas recaídas en 2005, 2010 y 2011, con Insuficiencia renal, proteinuria y leucocitopenia. La paciente fue monitorizada con marcadores habituales (VGS, PCR, anti-dsDNA and factores C3 y C4 del complemento) y después de 2010 también con CLLs (Jiménez, 2015).

Los resultados indicaron que los niveles de la suma de CLL $\kappa + \lambda$  reflejaron con precisión los cambios en el estado clínico de la paciente durante las últimas recaídas. Tras la recaída final, los niveles de CLL parecieron normalizarse más rápidamente que los del C3 y C4, posiblemente debido a la corta vida media de las moléculas de CLL (Jiménez, 2015).

## 5. Bibliografía

- Amolak B**, Dale P, Simon S, Judith B, Pinika P, Lauren H. Assessment of IgA Heavy/Light chain immunoassays utility in multiple myeloma patients. *Biochimica Clinica* 2013;37:W233a
- Andrade-Campos M**, Colorado-Ledesma E, Murillo-Florez I, Giraldo P. Response and Early Relapse Assessment in Multiple Myeloma Treated With Bortezomib: Role of Heavy/Light-Chain Immuneassay. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, 2015;15:e101-e102.
- Andrade-Campos M**, Murillo-Flores I, Colorado E, Giraldo P. Detecting early relapse in multiple mieloma after autologous stem cell transplantation (ASCT). Usefulness of immuneassays. Abstract release date: May 21, 2015. EHA Learning Center. Andrade Campos M. Jun 12, 2015; 100279.
- Andrade-Campos M**, Rupay-Rojas R, Murillo-Flores I, et al. Myeloma Multiple (MM) IgA subtype. Usefulness of heavy/light IgAk/IgAL quantification for diagnosis and follow-up. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, 2015 (3): e108-e109.
- Andrade-Campos M**, Murillo-Flórez I, García-Sanz R, Giraldo P. Immunoparesis in IgM gammopathies as a useful biomarker to predict disease progression. *Clin Chem Lab Med*, 2017 Aug 28;55(10):1598-1604. doi: 10.1515/cclm-2016-0748.
- Bengoufa D**, Arnulf B, Bugnot L, Charron D, Femand JP. Usefulness of a Hevlyte immunoassay in serum for the diagnosis and the follow up of IgA monoclonal gammopathy. *Hematology Reports*, 2010;2:G68a
- Barbosa-de-Carvalho NM**, et al. Identificación de cadenas ligeras libres en suero y su aplicación en las gammopatías monoclonales. *Rev Hematol Mex*, 2010;11(4):194-202.
- Bermudo C**, et al. Specific immunoglobulin heavy/light chain pairs: IgM normal ranges in two different platforms. AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo. 2012. July 15-19. Los Angeles, CA. USA.
- Bermudo C**, García de Veas JL, Martín JA, y cola. Importancia en la detección precoz del componente monoclonal mediante el uso combinado de Freelite® y Hevlyte®. 8º Congreso Nacional del Laboratorio Clínico. 15 - 17 de octubre de 2014. Sevilla. España.
- Boyle EM**, Fouquet G, Guidez S, et al. IgA kappa/IgA lambda heavy/light chain assessment in the management of patients with IgA myeloma. *Cancer*. 2014 Dec 15;120(24):3952-7.
- Bradwell AR**, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT, Drew R. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001;47:673-80. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11274017>
- Bradwell AR**, Harding SJ, Fourrier NJ, Wallis GL, Drayson MT, Carr-Smith HD, Mead GP. Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clin Chem* 2009;55:1646-55. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=19617289>
- Brioli A**, Giles H, Pawlyn C, Campbell JP. Serum free immunoglobulin light chain evaluation as a marker of impact from intracranial heterogeneity on myeloma outcome. *Blood*. 2014 May 29;123(22):3414-9.
- Cámara C**, Pais T, Romero R, Romero S, García J, Magriz I, et al. Is there a role for free light chain analysis in the diagnosis of patients with multiple sclerosis?. *Hematology Reports* 2015;7:1143a.
- Cárdenas MC**, Benavente C, Ana I, et al. Serum heavy/light chain analysis and specific isotype pair suppression in the monitoring of multiple myeloma. AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo. 2016. July 31-August 4. Philadelphia, PA. USA.
- Cigliana G**, Illuminati G, De Santis E, Conti L, Pisani F, La Malfa A, et al. Interference by biological anti-cancer drugs in electrophoretic and immunofixation techniques. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:e297-9.
- Dejoie T**, et al. Serum free light chains, not urine specimens, should be used to evaluate response in light-chain multiple myeloma. *Blood*, 2016;128(25):2941-2948.
- Diaz TS**, Carvalho NMB, Campos LM, et al. Immunoglobulin's Kappa Light Chain Proteins in Cerebrospinal Fluid in Patients with Multiple Sclerosis. AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo. 2013. July 28-August 1. Houston, TX. USA.
- Dimopoulos M**, et al. Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. *BLOOD*, 5 MAY 2011 Volume 117, Number 18(4701-4706).
- Dispenzieri A**, et al. Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood* 2008;111(2):785-9.
- Dispenzieri A**, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*, 2009;23:215-24.
- Dispenzieri A**, Katzmann JA, Kyle RA, et al. Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *Lancet*. 2010 May 15;375(9727):1721-8.
- Drayson M**, et al. Clinical comparison of new monoclonal antibody-based nephelometric assays for free light chain  $\kappa$  and  $\lambda$  to polyclonal antibody-based assays and immunofixation electrophoresis. Letter to the Editor. *Clin Chem Lab Med*, 2012;50(3):587-8.



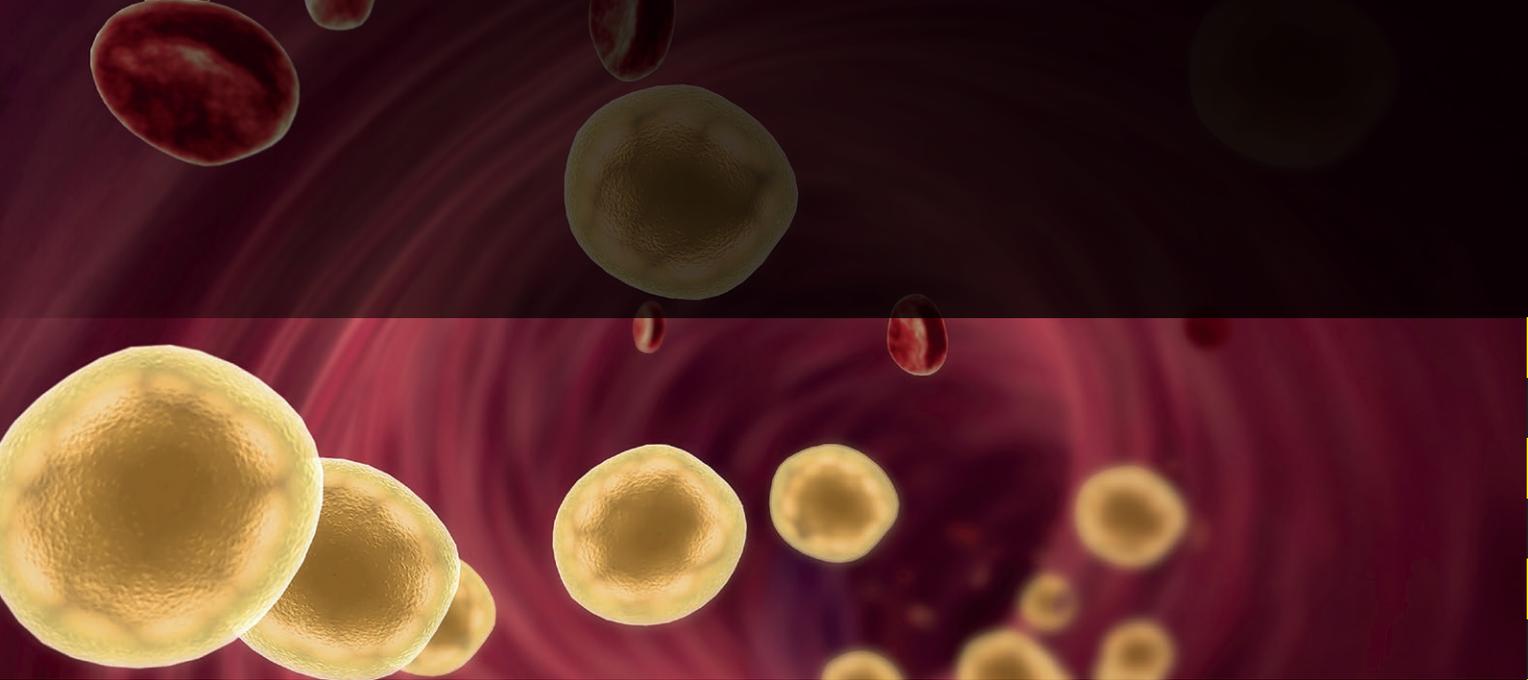
- Ellsner-Freund J**, et al. IgA subtypes: a supplement to M-protein quantification by electrophoretic methods in monitoring patients with multiple myeloma. *Hematology reports* 2015;7(1): 47:F102.
- Espiño M**, et al. Involved/uninvolved immunoglobulin ratio identifies monoclonal gammopathy of undetermined significance patients at high risk of progression to multiple myeloma. Letter to the editor. *Br J Haematology*, 2013. doi:10.1111/bjh.12679.
- Espino M**, Medina S, Blanchard MJ, Villar LM. Involved/uninvolved immunoglobulin ratio identifies monoclonal gammopathy of undetermined significance patients at high risk of progression to multiple myeloma. *Br J Haematol* 2014;164:752-5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24261626>
- Espiño M**, Artech-López A, Medina S, Involved/uninvolved heavy/light chain index can predict progression in transplanted multiple myeloma patients. Letter to the editor. *Bone Marrow Transplantation*, 2017; 52, 1206-1207.
- García de Veas JL**, et al. Comparison of polyclonal antibody assay for the quantification of serum free light chain (Freelite™) with a new monoclonal antibody based test (N Latex FLC). AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo. 2013. July 28-August 1, Houston, TX. USA.
- García de Veas JL**, Bermudo C, Sánchez V, et al. Best practices in incidental clinical findings associated with multiple myeloma in patients attending the Emergency Services. AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo. 2014. July 27-31, Chicago, IL. USA.
- García de Veas JL**, Ríos R, García JV. Protocol for the identification of Multiple Myeloma in patients attending Emergency Services with severe bone pain. *Euromed Labs*, 2015. 21-25 June. Paris. France.
- García De Veas JL**, De Haro T, Ríos R, et al. A quick protocol for the identification of multiple myeloma in patients attending emergency services with severe bone pain. AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo. 2015. July 26-30. Atlanta, GA. USA.
- García De Veas JL**, Ríos R, García C, y cols. Algoritmo de identificación del mieloma múltiple en pacientes que acuden a urgencias traumatológicas con dolores óseos intensos recurrentes. IX Congreso Nacional del Laboratorio Clínicos, 2015. 7-9 octubre. Madrid. España.
- García De Veas JL**, Rodríguez T, López MDS, y cols. Algoritmo de identificación del mieloma múltiple en pacientes que acuden a urgencias con dolores óseos recurrentes. Congreso de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH), 2016. 20-22 octubre. Santiago de Compostela. España.
- García de Veas JL**, Barbosa N, Ríos R, y cols. Immunoglobulin Heavy/Light Chain Ratio and Suppression of the Myeloma NonInvolved Heavy/Light Chain Pair Isotype Correlate with Poor Survival in Multiple Myeloma at Diagnosis and after Autologous Stem Cell Transplant. ASH Annual Meeting, 2016. December 9-12, Atlanta, GA. USA.
- García de Veas JL**, Bermudo C, Menendez P, et al. Prognostic Value of Serum Free Light Chains Measurements in Multiple Myeloma Patients. *PLoS ONE* 11(11): e0166841. doi:10.1371/journal.pone.0166841. November 2016.
- García de Veas JL**, Bermudo C, Perna MV, et al. Concordance between determination of oligoclonal bands in cerebrospinal fluid, free kappa index and the intrathecal synthesis in patients with inflammation of the central nervous system. *EUROMEDLAB* 2015. May 19-23, Milan. Italy.
- GLOBOCAN** database 2008 – Internacional Agency for Research on Cancer- World Health Organization. <http://globocan.iarc.fr/>
- Go RS**, Gundrum JD, Neuner JM. Determining the clinical significance of monoclonal gammopathy of undetermined significance: a SEER-Medicare population analysis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2015 Mar;15(3):177-186.
- Guitarte B** y cols. Importancia en la detección precoz del componente monoclonal mediante el uso combinado de Freelite® y Hevylite®. VIII Congreso Nacional del Laboratorio Clínico, 2015. 15-17 octubre. Sevilla. España.
- Hernández JM**, et al. Normal ranges and reference intervals of serum free light chains values are higher in elderly people: study in a Spanish urban population. *Haematologica*, 2011;96[s2]:0863a.
- Hernando A**, et al. Determinación de valores esperados de referencia de kappa libre en suero, lambda libre en suero y kappa libre suero/lambda libre suero en nuestro departamento de salud. *Rev Lab Clin*, 2008;(s1):s1-s452.
- Hutchison CA**, et al. The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. *Nat Rev Neph* 2011; 8(1):43-51.
- Isola I**, Sanz MT, Cibeira MT, et al. Association of serum heavy/light chain pair suppression with risk factors for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering myeloma. *European Hematology Association Congress (EHA)*, 2017. June 22-25. Madrid. Spain.
- Itzykson R**, Le Garff-Tavernier M, Katsahian S, Diemert MC, Musset L, Leblond V. Serum-free light chain elevation is associated with a shorter time to treatment in Waldenström's macroglobulinemia. *Haematologica*. 2008;93: 793-4.
- Jiménez J**, et al. Utilidad de la determinación de cadenas ligeras libres en suero para el diagnóstico y monitorización de gammopatías monoclonales. *Rev Lab Clin*, 2008;(s1):83.
- Jiménez J**, et al. Determinación de rangos de normalidad para pares específicos de cadenas pesadas/cadenas ligeras de inmunoglobulina (HEVYLITE®). *Rev Lab Clin*, 2011;4 (Esp Congr):528 - abstract 1135.
- Jiménez J**, Asensio J, Pais T, et al. Use of Hewylite® in the diagnosis and follow-up of monoclonal proteins difficult to detect by SPEP. *International Hematology Club (IHC)* 2015. November 6-7. Paris. France.

- Jiménez J**, Pais TM, Fernández S, Larramendi CH. Normalization of free light chains levels as potential marker of intestinal mucosa recovery in celiac disease patients under gluten free diet. Annual Meeting & Clinical Lab Expo, 2015. July 26-30. Atlanta, GA. USA.
- Jiménez J**, Pais TM, Barbosa NM. Utility of free light chain determinations for monitoring lupic patients: a case study. Presented at 7th International Symposium: Clinical Applications of Free Light Chain and Heavy/Light Chain Analysis, 2015. April 16-17. Edinburgh, UK.
- Jiménez J**, Tiago M, Barbosa N, Campos ML, et al. Severe Isotype-Matched Immunosuppression (IMI) as a Potential Risk Factor for Progression of MGUS Patients. *Journal of American Society of Laboratory Medicine*, 2018 (Accepted for publication).
- Johnson L**, et al. Serum free light chains identify patients with monoclonal gammopathy at increased risk of developing renal disease. *Blood*, 2013;122-1876a.
- Kapoor P**, et al. Importance of achieving stringent complete response after autologous stem-cell transplantation in multiple myeloma. *J Clin Oncol*, 2013. 31(36): p. 4529-4535.
- Katzmann JA**, 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*, 2002;48(9):1437-44.
- Katzmann JA**. Screening Panels for Monoclonal Gammopathies: Time to Change. *Clin Biochem Rev*, 2009 Aug; 30(3): 105-111.
- Katzmann JA**, Rajkumar SV. A window into immunoglobulin quantitation and plasma cell disease: antigen epitopes defined by the junction of immunoglobulin heavy and light chains. *Leukemia*, 2013 Jan;27(1):1-2. doi: 10.1038/leu.2012.201.
- Katzmann JA**, Clark R, Kyle RA, Larson DR, et al. Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS. *Leukemia*, 2013 Jan;27(1):208-12.
- Koulieris E**, et al. Ratio of involved/uninvolved immunoglobulin quantification by Hevlyte® assay: Clinical and prognostic impact in Multiple Myeloma. *Experimental Hematology and Oncology*, 2012;(1):9. doi:10.1186/2162-3619-1-9.
- Kyle RA**, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol* 2006;134:573-89.
- Kyle RA**, Durie BG, Rajkumar SV, Landgren O. 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*, 2010 Jun;24(6):1121-7.
- Kyrtsonis MC**, et al. Staging systems and prognostic factors as a guide to therapeutic decisions in multiple myeloma. *Semin Hematol*, 2009 Apr;46(2):110-7.
- Kumar S**, Dispenzieri A, Lacy MQ, Revised prognostic staging system for light chain amyloidosis incorporating cardiac biomarkers and serum free light chain measurements. *J Clin Oncol*, 2012 Mar 20;30(9):989-95.
- Kumar S**, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol*, 2016. 17(8): p. e328-46.
- Landgren O**, Kyle RA, Pfeiffer RM, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood*, 2009 May 28;113(22):5412-7.
- Larsen JT**, Kumar SK, Dispenzieri A, et al. Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma. *Leukemia*, 2012 Apr;27(4):94, 1-6.
- Leleu AS**, Weller E, Roccaro AM, Coiteux V, Manning R, Nelson M, et al. Serum free light chains correlate with tumor burden markers in Waldenström Macroglobulinemia. *Leuk Lymphoma*, 2008;49:1104-7.
- Lock RJ**, Saleem R, Roberts EG, et al. A multicentre study comparing two methods for serum free light chain analysis. *Ann Clin Biochem*. 2013 May;50(Pt 3):255-61.
- López-Anglada L**, Cueto-Felgueroso, Mateos MV, et al. Prognostic value of serum heavy-light-chains-ratio (sHLCr) in symptomatic multiple myeloma. 7th International Symposium: Clinical Applications of Free Light Chain and Heavy/Light Chain Analysis (EHA) 2015. Abstract\_ref- 841-100537-105922-140772-2). April 16-17. Edinburgh, UK.
- Lopez-Anglada L**, Cueto-Felgueroso C, Mateos MV et al. Usefulness of Serum-Free-Light-Chains-Ratio (SFLCR) and Serum Heavy-Light-Chains-Ratio (SHLCR) in Multiple Myeloma in the Context of Three GEM/Pethema Clinical Trials. *Blood*, 2015,126:2962. <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/2962>.
- López-Anglada L**, Cueto-Felgueroso C, Mateos MV, et al. El test de cadenas ligeras libres en suero (flcs) puede ser superior a la electroforesis en orina (EEFo) para definir respuesta en MMBJ. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) 2016. Octubre 20-22. Santiago de Compostela. España. DOI: 10.3252/pso.es.58SEHH.
- López Anglada L**, et al. Serum-free light-chains (SFLC) instead of urine protein electrophoresis (u pep) for monitoring light-chain multiple myeloma (LCMM). EHA Congress, 2017. June 22-25. Madrid, Spain.
- López-Corral L**, García-Sanz R, San Miguel JF. Aplicaciones del test sérico de cadenas libres en las gammopatías monoclonales. *Med Clin*, 2010; 135 (8):368-374.
- Ludwig H**, et al. International Myeloma Working Group recommendations for global myeloma care. *Leukemia*, 2014 May;28(5):981-92.



- Magnano L**, Fernández de Larrea C, Elena M, 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*, 2016;16(6):e71-7.
- Magnano L, et al.** Impacto pronóstico de los pares de cadena pesada/ligera en suero en pacientes con gammopatías monoclonales asintomáticas. Congreso SEHH, 2014. Noviembre 6-8. Madrid. España.
- Mateos MV**, Hernández MT, Giraldo P, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med*, 2013; 1;369(5):438-47.
- Menéndez-Valladares P**, García-Sánchez MI, Cuadri P, et al. Free kappa light chains in cerebrospinal fluid as a biomarker to assess risk conversion to multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal – Experimental, Translational and Clinical*. First Published December 16, 2015. Available at: <http://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/2055217315620935>.
- Miralles A**, et al. Determinación de las cadenas ligeras libres (CLL) en suero en el diagnóstico diferencial de las gammopatías monoclonales (GPM). XXVII Congreso Nacional de la SETH, 2011. Octubre 27-29. Zaragoza. España.
- Murata K**, McCash SI, Carroll B, Lesokhin AM, Hassoun H, Lendvai N, et al. Treatment of multiple myeloma with monoclonal antibodies and the dilemma of false positive M-spikes in peripheral blood. *Clin Biochem*. 2016 Sep 21. pii: S0009-9120(16)30312-5. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.09.015. [Epub ahead of print]
- Myeloma:** diagnosis and management. NICE Guidelines, 2016.
- Parra M**, et al. Comparació de la determinació de cadenes lleugeres lliures en sèrum en pacients amb gammopatia monoclonal utilitzant anticossos policlonals (Binding Site) versus monoclonal (Siemens Diagnostics). Parra et al: IX Congrés Català de Ciències de Laboratori Clínic, 2014;Figueres, 13-15 de Marzo.
- Pérez R**, Jiménez I, Meléndez AG, et al. Using Hevlyte overcomes problems with the monitoring of monoclonal proteins difficult to measure by conventional techniques. AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo. 2016. July 31–August 4. Philadelphia, PA. USA.
- Pérez R**, Jiménez I, Landeta E, et al. Disminución del par no involucrado del mismo isotipo que el clon tumoral como predictor precoz de la recidiva en mieloma múltiple. Congreso de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH), 2016. Octubre 20-22. Santiago de Compostela. España.
- Rajkumar SV**. MGUS and smoldering multiple myeloma: update on pathogenesis, natural history, and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2005:340-5.
- Rajkumar SV**, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncology*, 2014. 15:e538-e548.
- Rebollido MM**, et al. Comparison of Two Different Immunoassays for the Detection of Immunoglobulins' Free Light Chains. *EuroMedLab*, 2013. May 19-23. Miláno. Italy.
- Rosenberg AS**, Bainbridge S, Pahwa R, Jialal I. Investigation into the interference of the monoclonal antibody daratumumab on the free light chain assay. *Clin Biochem*, 2016 Oct;49(15):1202-1204.
- Rosiñol L**, Cibeira T, Montoto S, 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*, 2007;82(4):428-434.
- San Miguel JF**, Sánchez-Guijo FM. *Cuestiones en Hematología* (2ªEd). Elsevier, 2002. Madrid. ISBN: 978848174608.
- Blade J**, Kyle RA. (1998) Multiple myeloma in young patients: Clinical presentation and treatment approach. *Leukemia Lymphoma*, 1998; 30: 493-501.
- Sasson SC**, McGill K, Wienholt L, et al. Comparison of the Freelite serum free light chain (SFLC) assay with serum and urine electrophoresis/immunofixation and the N Latex FLC assay. *Pathology*, 2015 Oct;47(6):564-9.
- van de Donk NW**, Palumbo A, Johnsen HE. The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European Myeloma Network. *Haematologica*, 2014 Jun;99(6):984-96.
- Weiss BM**, et al. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood*, 2009; 113:5418-5422.
- Weiss BM**, Kuehl WM. Advances in understanding monoclonal gammopathy of undetermined significance as a precursor of multiple myeloma. *Expert Rev Hematol*, 2010;3:165-74.
- Weiss BM**, Hebreo J, Cordaro DV, Roschewski MJ, Baker TP, Abbott KC, Olson SW. Increased serum free light chains precede the presentation of immunoglobulin light chain amyloidosis. *J Clin Oncol*, 2014;32:2699-2704.
- Zamarín D**, Giral S, Landau H, et al., Patterns of relapse and progression in multiple myeloma patients after auto-SCT: implications for patients' monitoring after transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2013. 48(3): p. 419-424.





**Hevylite<sup>®</sup>      Freelite<sup>®</sup>**