

1 **RECOMENDACIONES PARA LA APLICACIÓN DE LA MEDIDA DE LA CONCENTRACIÓN**  
2 **DE LAS CADENAS LIGERAS LIBRES DE INMUNOGLOBULINAS EN SUERO EN EL**  
3 **ESTUDIO DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES.**

4 Recomendación (2012)

6 Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular (SEQC).

7 Comité Científico

8 Comisión de Proteínas

10 Rodríguez González T, Cárdenas Fernández MC.

11 [trodgonn@gobiernodecanarias.org](mailto:trodgonn@gobiernodecanarias.org)

13 **ÍNDICE**

- 14 1. Introducción.
- 15 2. Objeto y campo de aplicación.
- 16 3. Metodología.
- 17 3.1 Preanalítica, estabilidad, tipo de muestra.
- 18 3.2 Especificidad.
- 19 3.3 Estandarización.
- 20 3.4 Influencia del analizador.
- 21 3.5 Imprecisión.
- 22 3.6 Exceso de antígeno.
- 23 3.7 Pérdida de linealidad.
- 24 3.8 Sobreestimación.
- 25 4. Valores discriminantes y valores de referencia.
- 26 5. Aplicaciones.
- 27 5.1 Diagnóstico.
- 28 5.2 Pronóstico.
- 29 5.2.1 Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto.
- 30 5.2.2 Mieloma Múltiple Asintomático.
- 31 5.2.3 Mieloma Múltiple.
- 32 5.2.4 Amiloidosis Primaria.
- 33 5.2.5 Otras Discrasias de Células Plasmáticas.
- 34 5.3 Monitorización. Respuesta al tratamiento.
- 35 5.3.1 Amiloidosis Primaria.
- 36 5.3.2 Mieloma Múltiple no Secretor u Oligosecretor.
- 37 5.3.3 Mieloma Múltiple en tratamiento sustitutivo.
- 38 5.3.4 Respuesta Completa Estricta.
- 39 6. Recomendaciones.
- 40 6.1 Sobre las aplicaciones de la medida de la concentración de las cadenas ligeras
- 41 libres de inmunoglobulinas en suero en el estudio de las gammapatías
- 42 monoclonales.
- 43 6.1.1 Diagnóstico.

44	6.1.2 Pronóstico.
45	6.1.3 Monitorización.
46	6.1.4 Respuesta Completa Estricta.
47	6.2 Sobre la utilización de la medida de la concentración de las cadenas ligeras
48	libres de inmunoglobulinas en suero ó del Cociente kappa/lambda libre.
49	6.2.1 Diagnóstico.
50	6.2.2 Pronóstico.
51	6.2.3 Monitorización.
52	6.2.4 Respuesta Completa Estricta.
53	7. Bibliografía.

54  
55

## 56 1. INTRODUCCION.

57 Las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas kappa ( $\kappa$ ) y lambda ( $\lambda$ ), se expresan inicialmente  
58 en la superficie de las células pre- B, y su producción tiene lugar durante el resto del desarrollo  
59 de las células B y en las células plasmáticas, donde su secreción es más elevada (1).

60 Cada célula plasmática produce una de las cinco cadenas pesadas ( $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$ ) de  
61 inmunoglobulina junto con uno de los dos tipos de cadenas ligeras, pero nunca ambos tipos de  
62 cadenas ligeras. Las cadenas pesadas y ligeras se sintetizan de forma separada en el interior  
63 de la célula plasmática y posteriormente se unen, antes de ser secretadas en una forma que se  
64 ha denominado "inmunoglobulina intacta". Para mantener la conformación normal de esta  
65 proteína, las células plasmáticas producen un exceso de cadenas ligeras en relación a las  
66 cadenas pesadas de aproximadamente un 40 %, y este exceso es secretado después con la  
67 inmunoglobulina intacta en forma de cadenas ligeras libres de inmunoglobulinas (CLL) (2)  
68 (Figura). Las CLL son polipéptidos, que pueden existir como monómeros con un peso  
69 molecular entre 22- 25 kDa y como dímeros con un peso molecular entre 44-50 kDa (1,3).

70 La concentración de las cadenas ligeras libres de inmunoglobulinas en suero (CLLs) depende  
71 del equilibrio entre su producción por las células plasmáticas, que en un individuo sano es de  
72 500 mg/día aproximadamente, y su aclaramiento renal. En condiciones normales, las CLL  
73 kappa y lambda son filtradas a través del glomérulo renal, para luego ser reabsorbidas en los  
74 túbulos proximales de las nefronas. Su semivida en suero es de 2 a 6 horas. La cadena ligera  
75 libre kappa es secretada generalmente en forma de monómero, mientras que la lambda lo es  
76 en forma dimérica (4). El mayor tamaño de la cadena lambda ralentiza su aclaramiento renal,  
77 por lo que su concentración en suero suele ser superior a la de la kappa y el cociente  $\kappa/\lambda$  libre  
78 es usualmente inferior a 1 (2).

79 Las CLL son potencialmente nefrotóxicas por lo que si su concentración aumenta, como  
80 sucede en la progresión de las discrasias de células plasmáticas, producen lesiones en las  
81 células tubulares a dos niveles: en el túbulo proximal (en el momento de la reabsorción de las  
82 CLL, éstas estimulan la producción de citocinas que promueven una reacción inflamatoria y

83 fibrosis) y en el túbulo distal (con la formación de cilindros céreos por la unión de las CLL a la  
84 proteína de Tamm-Horsfall) (2).

85 En determinadas situaciones clínicas se pueden encontrar alteraciones de las concentraciones  
86 de las CLLs kappa y lambda. Entre éstas se incluyen: inmunosupresión, estimulación inmune,  
87 reducción del aclaramiento renal y enfermedades proliferativas monoclonales de células  
88 plasmáticas. Los pacientes con enfermedad renal o que presentan una  
89 hipergammaglobulinemia policlonal, a menudo tienen aumentadas en suero las  
90 concentraciones de las CLL kappa y lambda, debido a la disminución de su aclaramiento renal  
91 o a un aumento de su síntesis, pero el cociente entre ambas CLL suele ser normal (5). Sin  
92 embargo, un cociente  $\kappa/\lambda$  libre claramente fuera del valor de referencia puede ser debido a una  
93 alteración plasmoproliferativa (o linfoproliferativa), que secreta un exceso de CLL y de  
94 inmunoglobulinas y modifica el normal equilibrio de la relación entre kappa y lambda (6).

95 La incorporación de la medida de la concentración de las CLLs, se ha convertido en una  
96 importante herramienta en el diagnóstico, pronóstico y monitorización de las diferentes  
97 condiciones clínicas que se asocian a gammapatías monoclonales (GM) (7) (Tabla I,  
98 modificada de Merlini, Aguzzi y Whicher).

99

## 100 **2. OBJETO Y CAMPO DE APLICACION.**

101 El objeto de este documento es establecer las recomendaciones para la aplicación de la  
102 medida de la concentración de las cadenas ligeras libres de inmunoglobulinas en suero en el  
103 estudio de las gammapatías monoclonales. El documento también describe las características  
104 metrológicas de sus procedimientos de medida, las limitaciones que presentan y sus valores  
105 de referencia. Así mismo, detalla las aplicaciones que puede tener su determinación en el  
106 diagnóstico, pronóstico, seguimiento y respuesta al tratamiento en las discrasias de células  
107 plasmáticas.

108

## 109 **3. METODOLOGIA PARA LA MEDICIÓN DE CLLs.**

110 La medida de la concentración de las CLLs, se basa en métodos inmunoquímicos en los que  
111 se utilizan anticuerpos que reconocen epitopos de las cadenas ligeras, ocultos en las  
112 inmunoglobulinas intactas pero que quedan expuestos cuando no están asociadas a las  
113 cadenas pesadas. Estos epitopos se encuentran en las regiones constantes de las cadenas  
114 ligeras, que tienen poca variación estructural.

115 En la actualidad, existen dos métodos de medida comercializados con una adaptación  
116 automatizada. El primer método que se automatizó (Freelite, The Binding Site, Birmingham,  
117 Reino Unido), utilizado en la práctica totalidad de los estudios clínicos publicados hasta ahora,  
118 es un método inmunoquímico (con aplicación nefelométrica y turbidimétrica) que ha sido  
119 adaptado a diferentes analizadores. Utiliza anticuerpos policlonales de oveja, que reconocen  
120 las estructuras monoméricas y diméricas de las cadenas ligeras y presentan una reactividad  
121 cruzada mínima entre ambas (4).

122 El otro método automatizado disponible (N Látex FLC, Siemens Healthcare Diagnostic,  
123 Marburg, Alemania), recientemente comercializado, es un método inmunonefelométrico (8) que  
124 utiliza anticuerpos monoclonales de ratón.

125 Un estudio comparativo entre ambos métodos (9), halló una concordancia del 91 %, del 85 % y  
126 del 95 % para las CLLs kappa, lambda y para el cociente  $\kappa/\lambda$  libre respectivamente, en la  
127 interpretación de los resultados obtenidos en las muestras de suero procedentes de los  
128 pacientes incluidos en el estudio (pacientes con y sin GM, incluyendo en este último grupo  
129 pacientes con enfermedad renal o con una hipergammaglobulinemia policlonal). Se observaron  
130 diferencias entre los métodos en aquellos pacientes que presentaban concentraciones  
131 cercanas al límite superior del rango de concentraciones.

132 Se han desarrollado también métodos basados en el enzimoimmunoanálisis (ELISA) (10, 11)  
133 que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón, con alta especificidad para diferenciar CLL. No  
134 disponen, sin embargo, de una adaptación comercial automatizada.

135 Actualmente no existen especificaciones de calidad establecidas por las sociedades científicas  
136 en cuanto al procedimiento de medida de la concentración de las CLLs. Tampoco hay datos de  
137 variación biológica que permitan obtener especificaciones de calidad analítica (mínimas,  
138 deseables y óptimas) para la imprecisión, el error sistemático y el error total.

139 A continuación se describen las principales características y limitaciones de los métodos de  
140 medida de las CLLs. Hay que tener en cuenta, no obstante, que la mayoría han sido descritas  
141 para el método Freelite, debido a que los datos publicados sobre el nuevo método N Látex FLC  
142 de reciente comercialización son escasos.

### 143 **3.1 Preanalítica, estabilidad, tipo de muestra.**

144 Las CLL de inmunoglobulinas permanecen estables en suero durante periodos  
145 prolongados de tiempo (6 semanas a 4° C y 12 semanas a -20° C) (12). El tipo de  
146 muestra no influye en la concentración, se obtienen resultados comparables en suero y  
147 en plasma con heparina de litio (13).

### 148 **3.2 Especificidad.**

149 La especificidad de los antisueros policlonales ha sido evaluada mediante diferentes  
150 métodos como inmunoelectroforesis, hemaglutinación, western blot y nefelometría (4). La  
151 reactividad cruzada con las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas intactas y otros  
152 posibles interferentes es del 0,2-0,01 % (12). Para el método N Látex FLC, la reactividad  
153 cruzada encontrada es inferior al 0,16 % (8).

### 154 **3.3 Estandarización.**

155 Actualmente no existe un material de referencia certificado ni un patrón internacional  
156 para las CLLs. Su estandarización conlleva dificultades dada la heterogeneidad de las  
157 moléculas de CLL, el diferente grado de polimerización y la diferente expresión  
158 antigénica (11). Los anticuerpos van dirigidos frente a la región constante de la cadena  
159 ligera lo que minimiza la variabilidad estructural, sin embargo se han descrito diferencias  
160 de reactividad entre el calibrador comercial y las diferentes CLL monoclonales (14).

161 El material de calibración suministrado en el método de Freelite está formado por CLL  
162 policlonales altamente purificadas, procedentes de una mezcla de sueros de pacientes  
163 con lupus eritematoso diseminado (con elevada concentración de CLL policlonales) (4).  
164 Este material está valorado frente a un calibrador primario preparado por The Binding  
165 Site a partir de CLL monoméricas policlonales, altamente purificadas, obtenidas de  
166 inmunoglobulinas G completas de una mezcla de sueros.

167 El método N Látex FLC (8) utiliza como material de calibración una solución de CLL  
168 policlonales, purificadas en un buffer fosfato salino (PBS) con 10 g/L de albúmina.

### 169 **3.4 Influencia del analizador.**

170 Varios estudios comparativos (13, 15) entre distintos analizadores (Image, AU400  
171 Beckman Coulter, Brea, Estados Unidos de América; BN Prospec, BN II, Siemens  
172 Healthcare Diagnostic) realizados con el reactivo Freelite, han descrito que existen  
173 diferencias en los resultados obtenidos, que pueden ser atribuibles al método  
174 (nefelometría vs turbidimetría) o al instrumento.

### 175 **3.5 Imprecisión.**

176 La mayor contribución a la imprecisión analítica es la variabilidad entre lotes de reactivo,  
177 debido a la distinta inmunoreactividad de los anticuerpos policlonales con las diferentes  
178 CLL monoclonales séricas. Esto puede dar lugar a que ocasionalmente se puedan  
179 obtener resultados discordantes, se ha descrito incluso algún caso de no reactividad  
180 para la CLLs kappa para varios lotes de reactivo (14). Otra fuente de variación es la  
181 naturaleza del reactivo, ya que las partículas de látex producen opacidad en las cubetas  
182 de reacción con un efecto directo adverso en la imprecisión, siendo necesario una  
183 limpieza rigurosa de las mismas o el uso de cubetas desechables.

184 Para el método Freelite, la imprecisión media descrita en un estudio realizado en el  
185 analizador Image (Beckman Coulter), empleando muestras de suero de pacientes sin  
186 GM y muestras de pacientes con cadenas ligeras monoclonales, utilizando diferentes  
187 lotes de reactivos, es del 20 % (8-45 %) para las CLLs y del 25 % (3-47 %) para el  
188 cociente  $\kappa/\lambda$  libre, para un intervalo de concentraciones entre 8-542 mg/L (14).

189 La imprecisión interensayo para el método Freelite varía dependiendo del analizador y es  
190 inferior al 15 % (16).

191 La imprecisión para el método N Latex FLC, utilizando muestras de donantes sanos y  
192 para un rango de concentraciones de 4-106 mg/L es inferior al 6 % (8).

193 Los datos obtenidos en el año 2011 para las magnitudes cadenas ligeras libres de  
194 inmunoglobulinas en suero Kappa y Lambda, del VI Programa de Garantía Externa de la  
195 Calidad de Bioquímica (componentes monoclonales) de la Sociedad Española de  
196 Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC), muestran que la imprecisión total de  
197 todos los métodos para las CLLs kappa y lambda, varía entre el 12,4 % y el 50,6 % para  
198 concentraciones comprendidas entre 3,5-1492,9 mg/L en el caso de las CLLs kappa y  
199 entre el 12 % y el 87,5 % para concentraciones comprendidas entre 2,5-2523,1 mg/L en  
200 el de las CLLs lambda. Los valores más altos de imprecisión se han obtenido para

201 muestras de muy baja concentración: 3,9 mg/L (50,6 %) para la CLLs kappa y 2,5 mg/L  
202 (87,5 %) para la CLLs lambda.

### 203 **3.6 Exceso de antígeno.**

204 Tal como sucede en otros inmunoensayos, la existencia de una concentración muy  
205 elevada de CLL en una muestra de suero, puede dar lugar a un resultado falso negativo  
206 en el procedimiento (efecto prozona debido a un exceso de antígeno). La frecuencia  
207 descrita en el método Freelite es del 0,12-2,2 % y se produce usualmente con la cadena  
208 ligera libre kappa (17, 18). La mayoría de los analizadores automáticos tienen  
209 mecanismos para detectar el exceso de antígeno, no obstante existen muestras que  
210 escapan a este control y es necesario ante su sospecha, realizar diluciones de la misma  
211 para su correcta cuantificación.

### 212 **3.7 Pérdida de linealidad.**

213 En el método Freelite, se ha descrito una respuesta no lineal en muestras con CLL  
214 monoclonales al realizar diluciones superiores a las inicialmente definidas en el ensayo.  
215 La pérdida de linealidad se atribuye a un efecto matriz con el suero y a que la proteína  
216 monoclonal no reconozca todos los anticuerpos policlonales del reactivo, y se produzca  
217 un exceso de antígeno, lo que puede dar lugar a una infraestimación de la concentración  
218 de las CLLs. En las muestras donde se observe una pérdida de linealidad, se deben  
219 llevar a cabo diluciones seriadas hasta conseguir resultados concordantes entre ellas  
220 (19, 20, 21).

### 221 **3.8. Sobreestimación.**

222 La polimerización de las CLLs puede llevar a una sobreestimación de su concentración,  
223 debido a la presencia de múltiples epitopos antigénicos que provocan un aumento de la  
224 reacción de inmunoprecipitación (22, 23). La formación de complejos de las CLL con  
225 otras proteínas también puede producir una sobreestimación (24), así como la diferente  
226 inmunoreactividad entre la proteína monoclonal y el calibrador policlonal.

227

## 228 **4. VALORES DISCRIMINANTES Y VALORES DE REFERENCIA.**

229 Para estimar los valores discriminantes y de referencia (5), la medida de la concentración de  
230 las CLLs se realizó en un analizador BN II (Siemens Healthcare Diagnostic) con el método  
231 Freelite (The Binding Site) y se utilizaron sueros frescos y congelados de 282 donantes de  
232 sangre sanos, con edades comprendidas entre 21- 90 años. El intervalo de referencia,  
233 estimado como el intervalo de resultados que comprenden el 95 % de la probabilidad total,  
234 para el cociente  $\kappa/\lambda$  libre fue de 0,3-1,2, para la CLLs kappa fue de 3,3-19,4 mg/L y para la  
235 CLLs lambda de 5,7-26,3 mg/L. Sin embargo, para el cociente  $\kappa/\lambda$  libre se prefirió utilizar un  
236 intervalo que incluyera el 100 % de los valores hallados para incrementar la especificidad del  
237 método de las CLLs, y este intervalo fue de 0,26-1,65. Con estos valores discriminantes de  
238 0,26-1,65 se considera que los pacientes con un cociente  $>1,65$  tienen un exceso de CLLs  
239 kappa, y sugiere monoclonalidad kappa, mientras que para valores  $<0,26$ , las CLLs en exceso  
240 son lambda e indican monoclonalidad lambda (3, 5).

241 La estimación de los valores de referencia del nuevo método N Látex FLC (Siemens  
242 Healthcare Diagnostic) se realizó en los analizadores BN (Siemens Healthcare Diagnostic), y  
243 se utilizaron 369 muestras de suero y de plasma con EDTA procedentes de donantes de  
244 sangre y de personal de salud laboral sanos, con un rango de edad entre 18-70 años. El  
245 intervalo de referencia que incluye el 95 % de los valores de la distribución de referencia,  
246 siendo los límites de referencia inferior y superior del 2,5 y del 97,5 % respectivamente, para la  
247 CLLs kappa fue de 6,7-22,4 mg/L, para la CLLs lambda fue de 8,3-27,0 mg/L, y para el  
248 cociente  $\kappa/\lambda$  libre de 0,31-1,56 (8).

249 En procesos infecciosos e inflamatorios, o cuando el aclaramiento renal está reducido, las  
250 concentraciones de las CLLs kappa y lambda pueden estar aumentadas. Aunque el cociente  
251  $\kappa/\lambda$  libre suele encontrarse dentro de los valores discriminantes establecidos (0,26-1,65) en el  
252 método Freelite, puede ocurrir una ligera alteración del mismo y dar lugar a falsos positivos (25,  
253 26). Se ha descrito hasta un 5 % de resultados falsos positivos para el cociente  $\kappa/\lambda$  libre en  
254 pacientes con enfermedad renal (27). Además, se ha demostrado un incremento de falsos  
255 positivos correlacionado con la disminución del filtrado glomerular (28).

256 Para obviar este problema, se ha estimado un intervalo de referencia para el cociente  $\kappa/\lambda$  libre  
257 en pacientes con enfermedad renal, y éste fue de 0,37-3,1 (26). La estimación se realizó en  
258 688 pacientes con enfermedad renal crónica, y para la medida de la concentración de las CLLs  
259 se utilizó una adaptación del método Freelite (The Binding Site) a un analizador BN II  
260 (Siemens Healthcare Diagnostic). Este rango en pacientes renales (0,37-3,1), se ha validado  
261 también en una población de pacientes con gammapatía monoclonal e insuficiencia renal  
262 aguda (diálisis-dependientes) (29).

263 Otro aspecto a tener en cuenta, son los diferentes intervalos de referencia descritos según el  
264 tipo de analizador utilizado para la medida de la concentración de las CLLs, por lo que cada  
265 laboratorio debería establecer sus propios valores de referencia (15).

266

## 267 **5. APLICACIONES**

268 El desarrollo en la última década del ensayo de las CLLs ha modificado el abordaje del estudio  
269 de las discrasias de células plasmáticas, incidiendo de diferente manera en el diagnóstico,  
270 pronóstico y monitorización de las GM.

### 271 **5.1 Diagnóstico.**

272 Varios trabajos retrospectivos han puesto de manifiesto que la medida de la concentración  
273 de las CLLs, es útil principalmente en el estudio de aquellas GM en las que la proteína  
274 monoclonal sintetizada y secretada en sangre periférica, está en concentraciones no  
275 detectables por los métodos convencionales. Así sucede en determinadas situaciones  
276 clínicas como en la amiloidosis primaria (AL) (30, 31), en la enfermedad por depósito de  
277 cadenas ligeras (5), así como en el mieloma múltiple de cadenas ligeras (MMCL) (32, 33) y  
278 en el mieloma múltiple no secretor (MMNS) u oligosecretor (34). Estas GM, a menudo no  
279 presentan concentraciones suficientemente elevadas de proteína monoclonal como para

280 ser detectadas por la electroforesis de proteínas séricas (EPS), o identificadas por un  
281 método inmunoquímico como la inmunofijación (IFE).

282 La incorporación del ensayo de las CLLs al estudio de las GM, junto con los métodos de  
283 detección e identificación como la EPS y la IFE, permite alcanzar mayor sensibilidad en el  
284 diagnóstico, fundamentalmente en la detección de la AL y el MMNS u oligosecretor.  
285 Además, combinar la medida de la concentración de las CLLs con la EPS y la IFE, evita la  
286 necesidad de estudios iniciales en orina, si se exceptúa en la AL. Posteriormente, una vez  
287 confirmado el diagnóstico de GM, se debe solicitar el estudio en orina de 24 h en todos los  
288 pacientes (6, 27, 30, 33, 35, 36, 37).

289 En la AL, entre un 1.0 % y un 4.3 % de pacientes con clones amiloidogénicos pueden  
290 presentar resultados negativos en suero por todos los métodos, por lo que se debe realizar  
291 también el estudio simultáneo en orina para poder establecer el diagnóstico correcto (37,  
292 38).

## 293 - **5.2 Pronóstico**

294 Numerosos estudios han demostrado el valor pronóstico de las CLLs, en el momento del  
295 diagnóstico, en la mayoría de las GM incluyendo las gammopatías monoclonales de  
296 significado incierto (GMSI), el mieloma múltiple asintomático (MMA), el mieloma múltiple  
297 (MM), el plasmocitoma solitario y la AL. Las concentraciones elevadas de CLLs o un  
298 cociente  $\kappa/\lambda$  libre alterado, se relacionan con un mayor grado de agresividad de la  
299 enfermedad.

300 Se ha encontrado una asociación entre concentraciones elevadas de CLLs y la presencia  
301 de translocaciones en el locus de la cadena pesada de inmunoglobulina (IgH) (39, 40), si  
302 bien esta asociación explica solo parcialmente el valor pronóstico de las CLLs.

### 303 *5.2.1 Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto.*

304 - La GMSI es la GM más común, con una prevalencia del 3,2% en individuos con más de 50  
305 años (41). La probabilidad de progresión a MM, macroglobulinemia de Waldenström, AL o  
306 a una enfermedad linfoproliferativa es del 1% al año, siendo la evolución a MM la más  
307 frecuente. Un tercio de los pacientes presentan un cociente  $\kappa/\lambda$  alterado ( $< 0,26$  ó  $> 1,65$ )  
308 en el momento del diagnóstico, y su riesgo de progresión es significativamente más alto  
309 (hazard ratio 3,5; IC 95 %, 2,3 – 5,5;  $p < 0.001$ ) (42). El cociente  $\kappa/\lambda$  libre es un factor de  
310 riesgo de progresión, independiente de la concentración y tipo de la proteína monoclonal.

311 - Se ha desarrollado un modelo de estratificación del riesgo que incluye tres factores de  
312 progresión: la concentración del componente monoclonal (CM) ( $CM > 15$  g/L), el tipo de  
313 cadena pesada de inmunoglobulina (distinta de la G), y el cociente  $\kappa/\lambda$  libre alterado ( $< 0,26$   
314 ó  $> 1,65$ ) (42). El riesgo de progresión hacia una proliferación celular clonal neoplásica en  
315 20 años, para pacientes que presentan 0, 1, 2 ó 3 factores, es del 5, 21, 37 y 58 %  
316 respectivamente. De esta forma se identifican grupos de pacientes con bajo, intermedio y  
317 alto riesgo de progresión.

318 - El Grupo de Trabajo Internacional del Mieloma (IMWG) (43), siguiendo este modelo, ha  
319 publicado recientemente unas directrices de seguimiento de las GMSI en función del riesgo



320 de progresión: en los pacientes de bajo riesgo, recomienda que sean seguidos a los 6  
321 meses después del diagnóstico. Posteriormente, si continúan estables cada dos o tres  
322 años o cuando aparezca alguna sintomatología relacionada; los pacientes de riesgo  
323 intermedio o alto, deberán ser seguidos a los 6 meses y de forma anual a lo largo de su  
324 vida.

325 - *5.2.2 Mieloma Múltiple Asintomático.*

326 - El MMA tiene un riesgo de progresión a MM 10 veces superior al de los pacientes con  
327 GMSI, y varía en función del tiempo transcurrido desde el momento del diagnóstico, con  
328 una mayor probabilidad de progresión en los cinco primeros años (10 %/ año), 3 %/ año en  
329 los siguientes 5 años y de un 1 %/ año para los siguientes 10 años (44, 45). Un alto  
330 porcentaje (90 %) de pacientes con MMA, pueden presentar un cociente  $\kappa/\lambda$  libre fuera de  
331 los valores discriminantes (0,26-1,65) (46).

332 - Un cociente  $\kappa/\lambda$  libre alterado definido como  $< 0,125$  ó  $> 8$  es un factor independiente de  
333 riesgo de progresión, que incorporado al modelo de estratificación de riesgo basado en los  
334 principales factores pronósticos (CM  $> 30$  g/L y % de células plasmáticas en médula ósea  $\geq$   
335 10 %) (45), identificó grupos de bajo, medio y alto riesgo, con una probabilidad de  
336 progresión a los 5 años del 25 %, 51 % y 76 % respectivamente (46).

337 - Para esta entidad, las directrices del IMWG (43) también señalan las CLLs como un factor  
338 de riesgo adicional de progresión, y recomiendan el seguimiento de los pacientes a los 2-3  
339 meses de su diagnóstico inicial. Si continúan estables, el seguimiento se debe realizar cada  
340 4-6 meses durante un año, y posteriormente se puede alargar a intervalos de 6 a 12  
341 meses. Los pacientes con un cociente  $< 0,125$  ó  $> 8$  y un % de células plasmáticas en  
342 médula ósea  $\geq 10\%$ , son los de mayor riesgo de progresión a los dos años y se podría  
343 considerar su inclusión en ensayos de quimioprevención.

344 - *5.2.3 Mieloma Múltiple.*

345 - En pacientes con MM, varios estudios han demostrado que las concentraciones basales de  
346 las CLLs en el momento del diagnóstico son un factor pronóstico de supervivencia (43, 47,  
347 48). La mayor parte de los pacientes con MM (95-97 %) tienen un cociente alterado en el  
348 momento del diagnóstico, y si el cociente  $\kappa/\lambda$  libre es inferior a 0,03 o superior a 32 tiene  
349 un valor pronóstico independiente (48).

350 - Si a algunos de los factores de riesgo incluidos en el sistema de clasificación "International  
351 Staging System" (ISS) (49), como la albúmina y la  $\beta 2$  microglobulina (albúmina  $< 35$  g/L,  $\beta 2$   
352 microglobulina  $\geq 3,5$  mg/L), se les incorpora este cociente ( $< 0,03$  ó  $> 32$ ), se obtiene un  
353 modelo de estratificación que mejora la capacidad pronóstica para la supervivencia. En  
354 pacientes con 0, 1, 2 ó 3 factores de riesgo, se ha descrito una supervivencia de 51, 39, 30  
355 y 22 meses respectivamente (48).

356 - El IMWG en sus últimas recomendaciones para estratificar el riesgo en pacientes con MM  
357 (50), señala que las concentraciones elevadas de CLLs y el cociente  $\kappa/\lambda$  libre, al igual que  
358 otros factores de riesgo individuales (LDH, Inmunoglobulina tipo A, enfermedad

- 359 extramedular, etc.) pueden considerarse útiles bajo ciertas circunstancias, pero no tienen  
360 una aplicación definida.
- 361 - *5.2.4 Amiloidosis Primaria.*
- 362 - En la AL, se ha descrito una asociación entre una concentración basal elevada de las CLLs  
363 y una mayor afectación orgánica y riesgo de muerte (51). Además, los pacientes con AL  
364 que tienen una marcada diferencia entre la concentración de la CLLs involucrada  
365 monoclonal y la de la no involucrada (diferencia > 294 mg/L para kappa y > 182 mg/L para  
366 lambda), presentan un mayor compromiso orgánico (cardíaco, renal e intestinal) y una  
367 supervivencia global más corta (10,9 y 37,1 meses respectivamente;  $p < 0,001$ ). En un  
368 análisis multivariante, la diferencia entre ambas cadenas fue un factor pronóstico  
369 independiente (52).
- 370 - *5.2.5 Otras Discrasias de Células Plasmáticas.*
- 371 - En otras discrasias como el plasmocitoma solitario óseo, el cociente  $\kappa/\lambda$  libre alterado es un  
372 factor de riesgo de progresión a MM. Los pacientes con un cociente  $\kappa/\lambda$  libre < 0,26 ó > 1,65  
373 presentan un mayor riesgo de progresión a mieloma, con un 44 % de progresión a los 5  
374 años frente al 26 % en los pacientes con un cociente dentro de la normalidad (53).
- 375 - En la Macroglobulinemia de Waldenström, concentraciones elevadas de CLLs se asocian  
376 con un peor pronóstico y un menor tiempo transcurrido desde el diagnóstico hasta el inicio  
377 del tratamiento (54, 55).
- 378 - **5.3 Monitorización. Respuesta al tratamiento.**
- 379 - La utilidad de las CLLs en la monitorización se recomienda únicamente en pacientes con  
380 AL, en el MMNS u oligosecretor, en los pacientes con MM en insuficiencia renal aguda en  
381 tratamiento sustitutivo y en todos los pacientes en el momento de evaluar la respuesta  
382 completa estricta, categoría que ha sido añadida a los criterios de respuesta en el MM (6,  
383 56).
- 384 - *5.3.1 Amiloidosis Primaria.*
- 385 - En la AL, las concentraciones de las CLLs se correlacionan con supervivencia libre de  
386 progresión, supervivencia global y con la respuesta orgánica y hematológica (38, 57),  
387 estando incorporada la medida de la concentración de las CLLs a los criterios de respuesta  
388 para esta enfermedad (58).
- 389 - En los pacientes con AL se ha demostrado que una reducción del 50% en la CLL  
390 involucrada, produce una mejora en la tasa de respuesta tanto hematológica como  
391 orgánica (51), y si esta reducción alcanza el 90 % se ha correlacionado con una  
392 supervivencia más prolongada (59).
- 393 - En la evaluación de la respuesta al tratamiento en los pacientes con AL, la medida de la  
394 concentración de las CLLs es de mayor utilidad que la IFE, ya que en aquellos pacientes  
395 que tienen un cociente  $\kappa/\lambda$  normal e IFE positiva se ha descrito una mejor evolución que los  
396 que tienen una IFE negativa y un cociente  $\kappa/\lambda$  alterado (51).
- 397 - *5.3.2 Mieloma Múltiple no Secretor u Oligosecretor.*

- 398 - La medida de la concentración de las CLLs permite monitorizar a los pacientes con MMNS  
399 u oligosecretor ya que hasta un 70 % de estos pacientes presentan un cociente  $\kappa/\lambda$  libre  
400 alterado en el momento del diagnóstico, y este valor permite reclasificarlos como Mieloma  
401 Múltiple Oligosecretor (56). Además, las medidas seriadas de la concentración de las CLLs  
402 facilita que se pueda hacer un seguimiento riguroso de la respuesta al tratamiento, sin  
403 recurrir a aspirados de médula ósea frecuentes (34).
- 404 - *5.3.3 Mieloma Múltiple en tratamiento sustitutivo.*
- 405 - Aproximadamente un 8 % de todos los pacientes con mieloma múltiple, presentan una  
406 insuficiencia renal aguda que requiere tratamiento sustitutivo (diálisis-dependientes), y es  
407 la nefropatía por cilindros (riñón del mieloma) la causa más frecuente. La disminución  
408 rápida de las concentraciones de las CLLs incrementa la tasa de recuperación de la función  
409 renal, la cual se asocia con una mejora de la supervivencia. Recientemente, se ha  
410 introducido la hemodiálisis con filtros de alto poro para conseguir una reducción más  
411 efectiva. Su monitorización se realiza mediante la medida de la concentración de la cadena  
412 ligera involucrada, pre y post diálisis, para poder comprobar la eficacia del tratamiento (60).
- 413 - *5.3.4 Respuesta Completa Estricta.*
- 414 - Por último, la medida de la concentración de las CLLs se debe realizar en todos aquellos  
415 pacientes en los que se ha de evaluar la respuesta completa estricta, categoría incorporada  
416 en el 2006 por el IMWG a los criterios de respuesta del MM; este concepto de respuesta  
417 exige, aparte de la negativización de la IFE en suero y orina y de la ausencia de células  
418 plasmáticas en médula ósea, la normalización del cociente  $\kappa/\lambda$  libre (56). Sin embargo, esta  
419 nueva categoría está pendiente de validación definitiva, pues algunos estudios presentan  
420 controversia sobre la validez de la misma (61, 62, 63).
- 421 - En la monitorización de la respuesta, se debe tener en cuenta lo que se ha denominado  
422 “Escape de Cadenas Ligeras Libres” pues pacientes con MM de inmunoglobulinas intactas,  
423 sobre todo en los de subtipo G más que en los de A (8:2) y en hombres más que en  
424 mujeres (9:1), pueden recaer como MMCL debido a que las células plasmáticas en la  
425 recidiva no son capaces de sintetizar cadena pesada. Estas recidivas pueden pasar  
426 desapercibidas si no se llevan a cabo estudios seriados en orina de 24h (electroforésis de  
427 proteínas, IFE) o medida de la concentración de las CLLs (64).
- 428 - Otra de las aplicaciones potenciales de la medida de la concentración de las CLLs es poder  
429 establecer la presencia o ausencia de respuesta precoz al tratamiento así como recaídas  
430 precoces dada su corta semivida. No obstante, se precisan más investigaciones que  
431 determinen la utilidad de las CLLs como predictores de respuesta y recaída (64, 65, 66).

432

## 433 **6. RECOMENDACIONES.**

434 La aplicación de la medida de la concentración de las CLLs, ha supuesto un gran avance en el  
435 estudio de las diferentes entidades clínicas asociadas a GM, fundamentalmente en la AL y en  
436 el MMNS u oligosecretor.

- 437 - **7.1 Sobre las aplicaciones de la medida de la concentración de las CLLs en el**  
438 **estudio de las gammopatías monoclonales.**
- 439 - Varias son las indicaciones establecidas para la medida de la concentración de las CLLs  
440 basadas en la evidencia (Tabla II) (6, 60) y que incluyen:
- 441 - 7.1.1 *Diagnóstico*. En los pacientes con sospecha de GM, la medida de la concentración de  
442 las CLLs en combinación con la EPS y la IFE aportan una mayor sensibilidad, y por ello, se  
443 pueden suprimir inicialmente los estudios en orina (exceptuando la AL). Una vez  
444 confirmado el diagnóstico de la discrasia de células plasmáticas, el estudio en orina de 24  
445 horas es obligado.
- 446 - 7.1.2 *Pronóstico*. La medida de la concentración de las CLLs tiene un gran valor pronóstico  
447 en prácticamente todas las discrasias de células plasmáticas como en la GMSI, en el MMA,  
448 en el MM, en la AL y en el plasmocitoma solitario óseo.
- 449 - 7.1.3 *Monitorización*. Deben realizarse medidas seriadas de la concentración de CLLs  
450 exclusivamente en pacientes con AL, en el MMNS u oligosecretor y en los pacientes con  
451 MM en insuficiencia renal aguda en tratamiento sustitutivo.
- 452 - En los pacientes con MM que tengan un CM cuantificable en orina, y no presenten un CM  
453 en suero, el estudio en orina no puede ser reemplazado por la medida de la concentración  
454 de las CLLs.
- 455 - 7.1.4 *Respuesta Completa Estricta*. La medida de la concentración de las CLLs se ha de  
456 llevar a cabo en todos los pacientes con MM con inmunofijación negativa en suero, para  
457 evaluar la Respuesta Completa Estricta, aunque esta categoría está pendiente de  
458 validación definitiva.
- 459 - **7.2 Sobre la utilización de la medida de la concentración de las CLLs ó del Cociente**  
460  **$\kappa/\lambda$  libre.**
- 461 - Se han establecido también recomendaciones sobre cuando es más adecuado utilizar la  
462 medida de las concentraciones de las CLLs o bien el cociente  $\kappa/\lambda$  libre, en el estudio de las  
463 diferentes entidades clínicas asociadas a gammopatías monoclonales en base a la  
464 situación clínica del paciente (Tabla III) (3, 6, 58, 60):
- 465 - 7.2.1 *Diagnóstico*: Cociente  $\kappa/\lambda$  libre.
- 466 - La alteración debe ser debida a la elevación de la concentración de al menos una de las  
467 CLLs. Ante la presencia de enfermedad renal, se debe aplicar el rango de referencia  
468 estimado para pacientes renales.
- 469 - 7.2.2 *Pronóstico*: Cociente  $\kappa/\lambda$  libre en la GMSI, en el MMA, en el MM, y en el  
470 plasmocitoma solitario óseo.
- 471 - Medida de la concentración de las CLLs en la AL.
- 472 - En la AL se ha recomendado aplicar también la diferencia entre la medida de la  
473 concentración de la CLLs involucrada y la de la no involucrada, con el fin de minimizar el  
474 efecto de la disminución del aclaramiento renal.
- 475 - 7.2.3 *Monitorización*: Medida de la concentración de las CLLs en la AL, en el MMNS u  
476 oligosecretor y en el tratamiento sustitutivo en la insuficiencia renal aguda del MM.

477 - 7.2.4 *Respuesta Completa Estricta*: Cociente  $\kappa/\lambda$  libre en el MM para evaluar la Respuesta  
478 Completa Estricta, aún pendiente de validación definitiva, en todos los pacientes con  
479 inmunofijación negativa en suero.

480

## 481 7. BIBLIOGRAFÍA.

482 1. Bradwell AR. Biology of immunoglobulin light chains. In: Serum Free Light Chain Analysis  
483 (Plus Hevylite). Sixth Edition. The Binding Site Ltd., PO Box 11712 (eds). Chapter 3:12.  
484 Birmingham, UK 2010.

485 2. López- Corral L, García- Sanz R y San Miguel JF. Aplicaciones del test sérico de cadenas  
486 ligeras libres en las gammopatías monoclonales. Med Clin (Barc). 2010;135:368-743.

487 3. Ozsan G, Dispenzieri A. Serum-free light chain analysis in multiple myeloma and plasma cell  
488 dyscrasias. Expert Rev Clin Immunol. 2011;7:65-73.

489 4. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT et al. Highly  
490 sensitive automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. Clin  
491 Chem. 2001;47:673-80.

492 5. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell AR et al. Serum  
493 reference intervals and diagnostic ranges for free  $\kappa$  and free  $\lambda$  immunoglobulin light chains:  
494 relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. Clin Chem. 2002;48:1437-44.

495 6. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, Miguel JS, Ludwig H, Hajek R et al. International Myeloma  
496 Working Group guidelines for serum free light chain analysis in multiple myeloma and related  
497 disorders. Leukemia. 2009;23:215-24.

498 7. Merlini G, Aguzzi F, Whicher JT. Monoclonal B-cell proliferation. In: Serum Proteins Clinical  
499 Medicine. Volumen II. Clinical Section. 1<sup>st</sup> Edition. Ritchie and Navolotskaia (eds). Section  
500 107.04:1-17. Scarborough, Maine, USA 1999.

501 8. Velthuis H, Knop I, Stam P, Brock M, Klaasse Bos H, Hol S et al. N latex FLC-new  
502 monoclonal high-performance assays for the determination of free light chain kappa and  
503 lambda. Clin Chem Lab Med. 2011;49:1323-32.

504 9. Hoedamakers R, Pruijt J, Hol S, Teunissen E, Martens H, Stam P et al. Clinical comparison  
505 of new monoclonal antibody assays for free light chain kappa and lambda to polyclonal  
506 antibody-based assays and immunofixation electrophoresis. Clin Chem Lab Med. 2012;50:489-  
507 95.

508 10. Davern S, Tang L, Williams T, Macy S, Wall J, Weiss D et al. Immunodiagnostic capabilities  
509 of anti-free immunoglobulin light chain monoclonal antibodies. Am J Clin Pathol. 2008;130:702-  
510 11.

511 11. Nakano T, Miyazaki S, Takahashi H, Matsumori A, Maruyama T, Komoda T et al.  
512 Immunochemical quantification of free immunoglobulin light chains from an analytical  
513 perspective. Clin Chem Lab Med. 2006;44:522-32.

514 12. Bradwell AR. Immunoassays for free light chain measurement. In: Serum Free Light Chain  
515 Analysis (Plus Hevylite). Sixth Edition. The Binding Site Ltd., PO Box 11712 (eds). Chapter  
516 4:18-35. Birmingham, UK 2010.

517 13. Tate J, Devinder G, Cobcroft R, Hickman P. Practical considerations for the measurements  
518 of free light chains in serum. *Clin Chem*. 2003;49:1252-57.

519 14. Tate J, Mollee P, Dimeski G, Carter A, Gill D. Analytical performance of serum free light-  
520 chain assay during monitoring of patients with monoclonal light-chain diseases. *Clin Chim Acta*.  
521 2007;376:30-6.

522 15. Pattenden RJ, Rogers SY, Wenham PR. Serum free light chains: the need to establish local  
523 reference intervals. *Ann Clin Biochem*. 2007;44:512-5.

524 16. Bradwell AR. Instrumentation for free light chain immunoassays. In: *Serum Free Light Chain*  
525 *Analysis (Plus Hevylite)*. Sixth Edition. The Binding Site Ltd., PO Box 11712 (eds). Chapter  
526 27:239-51. Birmingham, UK 2010.

527 17. Murata K, Clark RJ, Lockington KS, Tostrud LJ, Greipp PR, Katzman JA. Sharply increased  
528 serum free light-chain concentrations after treatment for multiple myeloma. *Clin Chem*  
529 2010;56:16-8.

530 18. Bosmann M, Kobler J, Stolz H, Walter U, Knop S, Steigerwald U. Detection of serum free  
531 light chains: the problem with antigen excess. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48:1419-22.

532 19. Tate J, Bazeley S, Sykes S, Mollee P. Quantitative serum free light chain assay– analytical  
533 issues. *Clin Biochem Rev*. 2009;30:31-40.

534 20. Briand P, Decaux O, Caillon H, Grosbois B, Le Treut A, Guenet L. Analytical performance of  
535 the serum free light chain assay. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48:73-9.

536 21. Vercammen M, Meirlaen P, Broodtaerts I, Vande Broek I, Bossuyt X. Effect of sample  
537 dilution on serum free light chain concentration by immunonephelometric assay. *Clin Chim Acta*  
538 2011;412:1798-804.

539 22. Mead GP, Stubbs PS, Carr-Smith HD, Drew RL, Drayson MT, Bradwell AR. Nephelometric  
540 measurement of serum free light chains in nonsecretory myeloma. *Clin Chem*. 2002;48 (Suppl  
541 6):A23.

542 23. Abrahams RS, Charlesworth MC, Owen BA, Benson LM, Katzmann JA, Reeder CB.  
543 Trimolecular complexes of lambda light chains dimmers in serum of a patient with multiple  
544 myeloma. *Clin Chem*. 2002;48:1805-11.

545 24. Chapuis-Cellier C, Chazaud A, Foray V, Troney J. Apparent discrepancies in the  
546 quantification of light chains in serum of patients presenting with a monoclonal gammopathy.  
547 *Haematologica*. 2005;90:109.

548 25. Hoffman, U. Free immunoglobulin light chain in patients with rheumatic diseases. *Z*  
549 *Rheumatol*. 2003;62 (Suppl 1):1051.

550 26. Hutchison CA, Harding S, Hewins P, Mead GP, Townsend J, Bradwell AR et al. Quantitative  
551 assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney  
552 disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3:1684-90.

553 27. Hill PG, Forsyth JM, Rai B, Mayne S. Serum free light chains: an alternative to the urine  
554 Bence Jones proteins screening test for monoclonal gammopathies. *Clin Chem*. 2006;52:1743-  
555 8.

556 28. Vermeersch P, Van Hoovels L, Delforge M, Mariën G, Bossuyt X. Diagnostic performance of  
557 serum free light chain measurement in patients suspected of a monoclonal B-cell disorder. *Br J*  
558 *Haematol.* 2008;143:496-502.

559 29. Hutchison CA, Plant T, Drayson M, Cockwell P, Kountouri M, Basnayake K et al. Serum free  
560 light chain measurement aids the diagnosis of myeloma in patients with severe renal failure.  
561 *BMC Nephrol.* 2008;9:11.

562 30. Abraham RS, Katzmann JA, Clark RJ, Bradwell AR, Kyle RA, Gertz MA. Quantitative  
563 analysis of serum free light: a new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic  
564 amyloidosis. *Am J Clin Pathol.* 2003;119:274-8.

565 31. Lachman HJ, Gallimore R, Gillmore JD, Carr-Smith HD, Bradwell AR, Pepys MB et al.  
566 Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free  
567 immunoglobulin light chains following chemotherapy. *Br J Haematol.* 2003;122:78-84.

568 32. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC, Drayson MT. Serum test for  
569 assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet.* 2003;361:489-91.

570 33. Abraham RS, Clark RJ, Bryant SC, Lymp JF, Larson T, Kyle RA et al. Correlation of serum  
571 immunoglobulin free light chain quantification with urinary Bence Jones protein in light chain  
572 myeloma. *Clin Chem.* 2002;48:655-7.

573 34. Drayson MT, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith HD, Bradwell AR. Serum free light-  
574 chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple  
575 myeloma. *Blood.* 2001;97:2900-2.

576 35. Katzmann JA, Dispenzieri A, Kyle RA, Snyder MR, Plevak MF, Larson DR et al. Elimination  
577 of the need for urine studies in the screening algorithm for monoclonal gammopathies by using  
578 serum immunofixation and free light chain assays. *Mayo Clin Proc.* 2006;81:1575-8.

579 36. Beetham R, Wassell J, Wallage MJ, Whiteway AJ, James JA. Can serum free light chains  
580 replace urine electrophoresis in the detection of monoclonal gammopathies?. *Ann Clin*  
581 *Biochem.* 2007;44:516-22.

582 37. Katzmann J, Kyle RA, Benson J, Larson D, Snyder M, Lust J et al. Screening panels for  
583 detection of monoclonal gammopathies. *Clin Chem.* 2009;55:1517-22.

584 38. Palladini G, Russo P, Bosoni T, Verga L, Sarais G, Lavatelli F et al. Identification of  
585 amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with  
586 immunofixation of serum and urine. *Clin Chem.* 2009;55:499-504.

587 39. Kumar S, Fonseca R, Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, Clark R et al. High Incidence of  
588 IgH Translocations in Monoclonal Gammopathies with Abnormal Free Light Chain Levels. *ASH*  
589 *Annual Meeting Abstracts.* 2006;108:3514.

590 40. Kumar S, Zhang L, Dispenzieri A, Van Wier S, Katzmann JA, Snyder M et al. Relation  
591 between elevated immunoglobulin free light chain and the presence of IgH translocation in  
592 multiple myeloma. *Leukemia.* 2010;24:1498-505.

593 41. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR et al. Prevalence  
594 of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* 2006;354:1362-9.

595 42. Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, Melton LJ, Bradwell AR, Clark RJ et al. Serum free  
596 light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of  
597 undetermined significance. *Blood*. 2005;106:812-7.

598 43. Kyle RA, Durie BGM, Rajkumar SV, Landgren O, Blade J, Merlini G et al. Monoclonal  
599 gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple  
600 myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for  
601 monitoring and management. *Leukemia*. 2010;24:1121-7.

602 44. The International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal  
603 gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma  
604 Working Group. *Br J Haematol*. 2003;121:749-57.

605 45. Kyle RA, Remstein ED, Therneau TM, Dispenzieri A, Kurtin PJ, Hodnefield JM et al. Clinical  
606 course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Engl J Med*.  
607 2007;356:2582-90.

608 46. Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, Therneau TM, Larson D, Benson J et al.  
609 Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering  
610 (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood*. 2008;111:785-9.

611 47. Kyrtsolis M, Vassilakopoulos TP, Kafasi N, Sachanas S, Tzenou T, Papadogiannis A et al.  
612 Prognostic value of serum free light chain ratio at diagnosis in multiple myeloma. *Br J Haematol*.  
613 2007;137:240-3.

614 48. Snozek CLH, Katzmann JA, Kyle RA, Dispenzieri A, Larson DR, Therneau TM et al.  
615 Prognostic value of the serum free light chain ratio in newly diagnosed myeloma: proposed  
616 incorporation into the international staging system. *Leukemia*. 2008;22:1933-7.

617 49. Greipp Pr, San Miguel J, Durie BGM, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J et al. International  
618 Staging System for Multiple Myeloma. *J Clin Oncol*. 2005;23:3412-20.

619 50. Munshi NC, Anderson KC, Bergsagel L, Shaughnessy J, Palumbo A, Durie B et al.  
620 Consensus recommendations for risk stratification in multiple myeloma: report of the  
621 International Myeloma Workshop Consensus Panel 2. *Blood*. 2011;117:4696-700.

622 51. Dispenzieri A, Lacy MQ, Katzmann JA, Rajkumar SV, Abraham RS, Hayman SR et al.  
623 Absolute values of immunoglobulin free light chains are prognostic in patients with primary  
624 systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*.  
625 2006;107:3378-83.

626 52. Kumar S, Dispenzieri A, Katzmann JA, Larson DR, Colby CL, Lacy MQ et al. Serum  
627 immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value and  
628 correlations with clinical features. *Blood*. 2010;116:5126-9.

629 53. Dingli D, Kyle R, Rajkumar V, Nowakowski GS, Larson DR, Bida JP et al. Immunoglobulin  
630 free light chains and solitary plasmacytoma of bone. *Blood*. 2006;108:1979-83.

631 54. Itzykson R, Le Garff-Tavernier M, Katsahian S, Diemert MC, Musset L, Leblon V. Serum-  
632 free light chain elevation is associated with a shorter time to treatment in Waldstrom's  
633 macroglobulinemia. *Haematologica*. 2008;93:793-4.



634 55. Leleu X, Moreau As, Weller E, Roccaro AM, Coiteaux V, Manning R et al. Serum-free light  
635 chain correlates with tumor burden markers in Waldstrom's macroglobulinemia. *Leuk*  
636 *Lymphoma*. 2008;49:1104-7.

637 56. Durie BGM, Harousseau J, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K et al. International  
638 uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006;20:1467-73.

639 57. Cohen AD, Zhou P, Chou J, Teruya-Feldstein J, Reich L, Hassoun H et al. Risk-adapted  
640 autologous stem cell transplantation with adjuvant dexamethasone +/- thalidomide for systemic  
641 light-chain amyloidosis: results of a phase II trial. *Br J Haematol*. 2007;139:224-33.

642 58. Gertz MA, Comenzo R, Falk RH, Fermand JP, Hazenberg BP, Hawkins PN et al. Definition  
643 of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a  
644 consensus opinion from the 10<sup>th</sup> International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours,  
645 France, 18-22 April 2004. *Am J Hematol*. 2005;79:319-28.

646 59. Kumar SK, Dispenziere A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, Zeldenrust SR et al. Changes  
647 in serum free light chain rather than intact monoclonal immunoglobulin levels predict outcome  
648 following therapy in primary amyloidosis. *Am J Hematol* 2011;86:251-5.

649 60. Hutchison CA, Cockwell P, Stringer S, Bradwell AR, Cook M, Gertz MA, et al. Early  
650 reduction of serum-free light chains associates with renal recovery in myeloma kidney. *J Am*  
651 *Soc Nephrol* 2011;22:1129-36.

652 61. Hassoun H, Reich L, Klimek VM , Dhodapkar M, Cohen A, Kewalramani T et al. Doxorubicin  
653 and dexamethasone followed by thalidomide and dexamethasone is an effective well tolerated  
654 initial therapy for multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2006;132:155-61.

655 62. De Larrea CF, Cibeira MT, Elena M, Arostegui JI, Rosiñol L, Rovira M et al. Abnormal  
656 serum free light chain ratio in patients with multiple myeloma in complete remission has strong  
657 association with the presence of oligoclonal bands: Implication for stringent remission definition.  
658 *Blood*. 2009;114:4954-6.

659 63. Chee CE, Kumar S, Larson DR, Kyle RA, Dispenzieri A, Gertz MA et al. The importance of  
660 bone marrow examination in determining complete response to therapy in patients with multiple  
661 myeloma. *Blood*. 2009;114:2617-8.

662 64. Kühnemund A, Liebisch P, Bauchmüller K, Zur Hausen A, Veelken H, Wäsch R et al. Light-  
663 chain escape- multiple myeloma- an escape phenomenon from plateau phase: Report of the  
664 largest patients series using LC- monitoring. *J Cancer Clin Oncol*. 2009;135:477-84.

665 65. Mead GP, Carr- Smith HD, Drayson MT, Morgan GJ, Child JA, Bradwell AR. Serum free  
666 light chains for monitoring multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2004;126:348-54.

667 66. Dawson MA, Patil S, Spencer A. Extramedullary relapse of multiple myeloma associated  
668 with a shift in secretion from intact immunoglobulin to light chains. *Haematologica*. 2007;92:143-  
669 4.

670  
671  
672  
673