NOWOTWORY Journal of Oncology • 2011 • volume 61
Number 4 • 355–362

Kliniczna wartość ilościowych oznaczeń wolnych lekkich łańcuchów immunoglobulinowych w surowicy chorych na szpiczaka plazmocytowego

Maria Kraj, Barbara Kruk, Ryszard Pogłód

Standardowymi metodami służącymi do wykrywania i monitorowania białka monoklonalnego jest elektroforeza i immunofiksacja surowicy i moczu. Ostatnio w praktyce klinicznej stała się dostępna nefelometryczna metoda ilościowego oznaczania wolnych lekkich łańcuchów immunoglobulinowych (free light chains – FLC). Celem pracy była ocena skuteczności tej metody w wykrywaniu i monitorowaniu białka monoklonalnego w różnych wariantach szpiczaka plazmocytowego.

Materiał i metody. Wartość diagnostyczną stosunku wolnych lekkich łańcuchów kappa do lambda (κ/λ ratio – rFLC) w surowicy porównano z elektroforezą i immunofiksacją surowicy i moczu u 100 chorych na szpiczaka plazmocytowego i 8 chorych z gammapatią monoklonalną o nieokreślonym znaczeniu (MGUS). Badania wykonano przy zastosowaniu nefelometru BNII firmy Siemens i przeciwciał poliklonalnych wykrywających wolne łańcuchy lekkie Freelite™ Kit firmy Binding Site (Birmingham, UK).

Wyniki. Spośród 35 chorych z chorobą lekkiego łańcucha (szpiczak Bence-Jonesa) u 19 wykryto białko monoklonalne odpowiadające lekkim łańcuchom kappa (κ light chain – κ LC), a u 16 łańcuchom lekkim lambda (λ light chain – λ LC). U wszystkich tych chorych białko LC było wykrywalne w immunofiksacji moczu, a u 29 chorych było wykrywalne także w immunofiksacji surowicy. U 25 chorych obecny był M-pik w elektroforezie moczu, a tylko u 9 chorych był M-pik także w elektroforezie surowicy. Wszyscy chorzy w podgrupie z białkiem typu kappa mieli podwyższone stężenie w surowicy κ FLC i podwyższony rFLC. W podgrupie z białkiem typu lambda wszyscy chorzy mieli podwyższone stężenie λ FLC i obniżony rFLC w surowicy. U 5 spośród 8 chorych, pierwotnie rozpoznanych jako mających szpiczaka niewydzielającego, stężenia FLC w surowicy były podwyższone (co odpowiada obecności białka monoklonalnego). Spośród 27 chorych poddanych autotransplantacji u 12 prawidłowe wartości w surowicy rFLC dokumentowały bezwzględną remisję (stringent CR). Rozbieżności między wynikami immunofiksacji i FLC stwierdzono u 5 chorych. U wszystkich 30 chorych z pełnocząsteczkowym białkiem monoklonalnym IgG, IgA, IgD i IgE, ocenianych w chwili rozpoznania i progresji szpiczaka, rFLC był nieprawidłowy, u 3 chorych w całkowitej remisji po leczeniu bortezomibem rFLC był w normie, a u 2 spośród 3 chorych z częściową remisją rFLC był nieprawidłowy. U wszystkich 4 chorych z odosobnioną pozaszpikową postacią szpiczaka rFLC pozostawał w normie. U 4 spośród 8 chorych z MGUS z czasem obserwacji od 10 do 26 lat rFLC był nieprawidłowy. Szpiczak plazmocytowy wystąpił u 1 chorego z nieprawidłowym rFLC i u 1 chorego z prawidłowym rFLC w surowicy.

Wnioski. Metoda ilościowego oznaczania wolnych lekkich łańcuchów immunoglobulinowych w surowicy poprawia możliwości wykrywania szpiczaka Bence-Jonesa i niewydzielającej postaci szpiczaka. Umożliwia także monitorowanie tych chorób i wykrywanie choroby resztkowej, a także pozwala na bardziej pewne określenie stanu remisji.

Clinical value of serum immunoglobulin free light chain quantification in multiple myeloma

Objectives. Standard methods for the detection and monitoring of monoclonal proteins include electrophoresis and immunofixation (IFE) of serum and urine samples. Recently, automated quantitative immunoassay for serum immunoglobulin free light chains (FLCs) has become available for clinical use. The aim of this study was to assess the efficacy of serum FLC assay in the detection and monitoring of monoclonal proteins in different variants of multiple myeloma.

Instytut Hematologii i Transfuzjologii
w Warszawie

Material and methods. The diagnostic value of serum FLC κ/λ ratios was compared with serum and urine protein electrophoresis and IFE in 100 multiple myeloma patients and 8 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). FLCs were measured using the Siemens BNII nephelometer with the Freelite™ Kit (The Binding Site Ltd, Birmingham, UK).

Results. Of 35 light chain (LC) myeloma patients, 19 were positive for κ LC and 16 for λ LC. All of these patients had monoclonal LC detected by IFE in urine and 29 also detected in the serum. Although 25 of patients had M spike in urine, only 9 had M spike in serum. All patients in the κ subgroup had an increased κ FLCs in serum and an increased FLC ratio. In the λ group all patients had both increased λ FLCs and decreased FLC ratios in serum. In 5/8 patients who had previously been deemed to have non-secretory myeloma FLCs were increased. Among 27 patients treated with autologous transplant in 12 cases normal FLC ratio documented stringent complete response. Discrepancies between IFE and FLC results were found in 5 patients. In all 30 myeloma patients with intact immunoglobulin (G, A, D, E) assessed at diagnosis or in progression the FLC ratio was abnormal, in 3 patients in CR after bortezomib therapy the FLC ratio was normal and in 2 of 3 patients with PR the FLC ratio was abnormal. In all 4 patients with solitary extramedullary plasmacytoma the FLC ratio was normal. 4/8 MGUS patients with a follow-up from 10 to 26 years had an abnormal FLC ratio. Multiple myeloma progression developed in one patient with abnormal FLC ratio and in one patient with normal FLC ratio.

Conclusions. Serum FLC assay provides improved detection rates of light chain multiple myeloma and non-secretory multiple myeloma. It also enables the monitoring of these diseases, detecting residual disease and allows for a more precise definition of the remission status.

Słowa kluczowe: wolne łańcuchy lekkie w surowicy, szpiczak plazmocytowy, monoklonalna gammapatia o nieokreślonym znaczeniu

Key words: serum free light chains, multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance

Wprowadzenie

Najbardziej charakterystyczną cechą szpiczaka plazmocytowego i innych gammapatii monoklonalnych jest obecność białka monoklonalnego w surowicy i/lub w moczu. Standardowymi metodami służącymi do wykrywania i monitorowania białka monoklonalnego jest elektroforeza i immunofiksacja surowicy i moczu. U około 2/3 chorych z białkiem monoklonalnym (M-komponentem) w surowicy współistnieje obecność białka Bence-Jonesa w moczu. W przypadku prawie 20% chorych na szpiczaka plazmocytowego w moczu i/lub surowicy stwierdza się wyłącznie obecność lekkich łańcuchów immunoglobulinowych i ten wariant szpiczaka nazywa się także chorobą lekkich łańcuchów, albo szpiczakiem Bence-Jonesa. Głównym problemem w przypadku oznaczania lekkich łańcuchów immunoglobulinowych w moczu jest fakt, że paski do oznaczania obecności białka w moczu nie pozwalają na wykrycie lekkich łańcuchów. Ponadto, konwencjonalne metody oznaczania białka Bence-Jonesa dają wyniki fałszywie ujemne u około połowy chorych z chorobą lekkich łańcuchów. U chorych z podejrzeniem szpiczaka plazmocytowego celem wykrycia wolnych lekkich łańcuchów i stopnia ich wydalania, elektroforeza i immunofiksacja są wykonywane w próbkach moczu z dobowej zbiórki. Warto pamiętać, że ilość lekkich łańcuchów wydalanych w moczu często koreluje ze stopniem zaawansowania choroby. Jednak prowadzenie dobowej zbiórki moczu jest kłopotliwe oraz wiąże się ze znacznymi błędami, wynikającymi z jej nieprawidłowego prowadzenia [1, 2].

Ostatnio w praktyce klinicznej stała się dostępna nefelometryczna metoda ilościowego oznaczania wolnych lekkich łańcuchów w surowicy. Jest ona obecnie stosowana w celu monitorowania chorych z amyloidozą L, dla której białkiem prekursorowym są lekkie łańcuchy immunoglobulinowe oraz chorych ze szpiczakiem plazmocytowym [4-7]. Metoda ta pozwala na ilościową ocenę w surowicy łańcuchów kappa i lambda, które nie są połączone z cząsteczkami immunoglobulin i pozwala na określenie klonalności w oparciu o stosunek łańcuchów kappa do łańcuchów lambda. Zmieniony stosunek wolnych lekkich łańcuchów, wskazujący na obecność monoklonalnych wolnych lekkich łańcuchów, jest niezależnym czynnikiem ryzyka progresji w gammapatii monoklonalnej o nieokreślonym znaczeniu (MGUS) oraz czynnikiem ryzyka progresji tzw. „tlącego się" (bezobjawowego) szpiczaka plazmocytowego [8, 9] i odosobnionego szpiczaka plazmocytowego kości [10]. Snozek i wsp. [11] oraz Kyrtsonis i wsp. [12, 13] sugerują, że stosunek stężenia wolnych łańcuchów kappa do łańcuchów lambda jest istotnym czynnikiem rokowniczym w szpiczaku i powinien zostać włączony do Międzynarodowego Systemu określania zaawansowania szpiczaka –ISS [14] w celu uzyskania lepszego przewidywania ryzyka. Kumar i wsp. [15] stwierdzili, że normalizacja stosunku łańcuchów kappa do łańcuchów lambda była związana z dłuższym przeżyciem całkowitym chorych na szpiczaka, u których uzyskiwano negatywne wyniki immunofiksacji i zasugerowali, że uzyskane przez nich wyniki przemawiają za uwzględnieniem stosunku łańcuchów kappa do łańcuchów lambda w surowicy w definicji bezwzględnej (*stringent*) całkowitej odpowiedzi na leczenie.

Celem niniejszej pracy była ocena następujących zagadnień: (1) czy oznaczanie stężenia wolnych lekkich łańcuchów immunoglobulinowych w surowicy może zastąpić badanie moczu w kierunku białka monoklonalnego u chorych na szpiczaka, zwłaszcza jego wariant chorobę lekkiego łańcucha; (2) czy ilościowa ocena stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy dostarczy

nowych danych na temat niewydzielającej postaci szpiczaka plazmocytowego i (3) czy ilościowa ocena wolnych lekkich łańcuchów w surowicy koreluje z innymi kryteriami odpowiedzi białkowej i może przyczynić się do udoskonalenia definicji całkowitej odpowiedzi na leczenie.

Materiał i metody

Badaniem objęto 100 chorych z różnymi postaciami szpiczaka plazmocytowego i w różnych stadiach choroby; 4 chorych z odosobnionym szpiczakiem umiejscowionym poza układem kostnym oraz 8 z MGUS, hospitalizowanych w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, a następnie objętych obserwacją ambulatoryjną w tymże Instytucie. Grupa kontrolna obejmowała 10 zdrowych ochotników.

W momencie ustalania rozpoznania lub włączania chorych do badania określano następujące parametry: odsetek komórek plazmatycznych w szpiku kostnym, izotyp białka monoklonalnego, wydzielanie immunoglobulin w dobowej zbiórce moczu, stężenie białka monoklonalnego w surowicy, stężenia wapnia i kreatyniny w surowicy oraz badanie radiologiczne całego układu kostnego.

Szpiczaka plazmocytowego rozpoznawano u chorych z liczbą plazmocytów monoklonalnych w szpiku przekraczającą 10%, u których w moczu i/lub w surowicy stwierdzano obecność białka monoklonalnego (z wyłączeniem chorych na niewydzielającą postać szpiczaka) oraz z danymi wskazującymi na istniejące uszkodzenia narządowe, takie jak hiperkalcemia, niewydolność nerek, niedokrwistość oraz zmiany osteolityczne, które mogły być odnoszone do rozrostu plazmocytowego [9].

MGUS rozpoznawano u chorych, u których stężenie białka monoklonalnego w surowicy nie przekraczało 3 g/dl, liczba klonalnych komórek plazmatycznych w szpiku nie przekraczała 10% i u których nie stwierdzano uszkodzeń narządowych [9].

Chorzy na szpiczaka plazmocytowego otrzymywali chemioterapię, także nowe leki i w 27 przypadkach wykonano autologiczny przeszczep komórek hematopoetycznych.

Kryteria odpowiedzi na leczenie

Całkowitą remisję definiowano jako brak stwierdzalnego białka monoklonalnego w surowicy i/lub w moczu, stosując metodę immunofiksacji równolegle ze zmniejszeniem odsetka plazmocytów w szpiku poniżej 5%. Prawie całkowitą remisję definiowano identycznie jak remisję całkowitą, ale przy dopuszczeniu dodatnich wyników immunofiksacji. Częściową remisję określano jako co najmniej 50% zmniejszenie wyjściowych wartości białka monoklonalnego w surowicy oraz obniżenie stężenia białka Bence-Jonesa w moczu o 90% i/lub co najmniej 50% redukcję odsetka komórek plazmatycznych. Bezwzględną całkowitą remisję definiowano jak całkowitą remisję, ale przy zachowaniu w surowicy prawidłowego stosunku wolnych łańcuchów lekkich kappa do lambda [16].

Badanie surowicy i moczu z zastosowaniem technik elektroforezy i immunofiksacji wykonywano na podłożach agarozowych, stosując skanowanie densytometryczne z zastosowaniem aparatu HYDRASYS 2 (Sebia, Francja) i antysurowic tego samego producenta; jak również stosując zestawy do elektroforezy i immunofiksacji firmy Beckman. Oznaczenia ilościowe stężenia wolnych lekkich łańcuchów immunoglobulinowych wykonywano w świeżych i mrożonych surowicach badanych chorych, przy zastosowaniu nefelometru BN^{TM} II firmy Siemens i przeciwciał (Freelite^{R}, The Binding Site, Ltd, Birmingham, Zjednoczone Królestwo) swoistych dla lekkich łańcuchów κ i λ w wolnej postaci, niezwiązanych z łańcuchami ciężkimi.

Wyniki

Na podstawie stwierdzenia rozrostu plazmocytów w szpiku oraz wyników badań elektroforetycznych i immunofiksacyjnych w kierunku białka monoklonalnego w surowicy i moczu wśród 100 chorych na szpiczaka plazmocytowego stwierdzono: chorobę łańcucha lekkiego w 35 przypadkach, niewydzielającą postać szpiczaka w 8 przypadkach, u 30 chorych postacie szpiczaka przebiegające z wytwarzaniem pełnocząsteczkowego białka monoklonalnego: w 19 przypadkach IgG, w 8 IgA, w 2 IgD i w 1 przypadku IgE. Wyodrębniono też grupę 27 chorych z różnym izotypem białka monoklonalnego, u których przeprowadzono wysokodawkowe leczenie i wykonano przeszczep autologicznych komórek hematopoetycznych.

Spośród 35 chorych z rozpoznaniem choroby lekkich łańcuchów w 19 przypadkach stwierdzono wyniki dodatnie w kierunku łańcuchów κ, a w 16 przypadkach – w kierunku łańcuchów λ. U wszystkich tych chorych, stosując metodę immunofiksacji, stwierdzono w moczu obecność lekkich łańcuchów monoklonalnych, a u 29/35 chorych – również w surowicy. Chociaż u 25/35 chorych stwierdzano obecność M-komponentu w badaniu elektroforetycznym moczu, to jednak zaledwie 9/35 wykazywało obecność M-komponentu w surowicy. W grupie tych ostatnich – 2/19 pacjentów z postacią κ i 7/16 z postacią λ wykazywało M-komponet w surowicy. Postawiliśmy sobie za cel sprawdzenie, czy ilościowe oznaczanie stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy może być stosowane w miejsce oznaczania białka monoklonalnego w moczu w tej grupie chorych. U wszystkich 19 chorych z postacią κ wykazano podwyższone stężenie wolnych lekkich łańcuchów κ w surowicy. Mediana stężenia wolnych lekkich łańcuchów κ wynosiła 915 mg/l. Wszystkich 19 chorych z grupy κ miało nieprawidłowo wysokie wartości stosunku wolnych łańcuchów lekkich κ/λ (mediana: 33,6). W grupie λ wszystkich 16 chorych miało zarówno podwyższone stężenia wolnych lekkich łańcuchów λ, jak i nieprawidłowo niskie wartości stosunku wolnych łańcuchów lekkich κ/λ w surowicy (mediany wynosiły odpowiednio: 4580 mg/l i 0,001) (Tab. I).

Tabela II przedstawia wyniki badań poszczególnych chorych z niewydzielającą postacią szpiczaka oraz chorych, u których wcześniej sądzono, że mają niewydzielającą postać szpiczaka, na podstawie braku obecności białka monoklonalnego w badaniu immunofiksacyjnym surowicy i moczu. W 5 przypadkach, które wcześniej były uważane za niewydzielającą postać szpiczaka, stwierdzono podwyższone wartości stężeń wolnych lekkich łańcuchów w surowicy: u 4 chorych – κ i u 1 chorego – λ.

W Tabeli III podsumowano wyniki badania stężeń wolnych lekkich łańcuchów w surowicy u chorych na szpiczaka z pełnocząsteczkowym białkiem monoklonalnym IgG, IgA, IgD i IgE w chwili ustalania rozpoznania i w czasie progresji choroby. We wszystkich 30 przypadkach wskaźnik κ/λ był zmieniony; w przypadku 3 chorych, u których uzyskano całkowitą odpowiedź na leczenie bortezomibem, wskaźnik κ/λ był prawidłowy, u 2/3 chorych z częściową odpowiedzią wskaźnik κ/λ był zmieniony.

Tab. I. Stężenie wolnych łańcuchów lekkich (FLC) w surowicy chorych w chwili rozpoznania choroby łańcucha lekkiego (LCMM) i u osób zdrowych

	n	FLC κ (mg/l)	FLC λ (mg/l)	Stosunek κ/λ
Chorzy z LCMM κ	19			
x±SD		4752±6147	18±20	375±496
Średnia; zakres		915; 40-18900	10,7; 1,6-88,2	33,6; 4,4-1500
Chorzy z LCMM λ	16			
x±SD		9,3±5,7	8105±8808	0,00548±0,0102
Średnia; zakres		11,4; 1,3-19,9	4580; 194-29100	0,001; 0,04-0,0001
Osoby zdrowe	10			
x±SD		12,75±4,13	11,88±4,63	1,07±0,19
Średnia; zakres		13,55; 6,4-18,0	11,3; 6,68-23,3	1,03; 0,74-1,34

Tab. II. Stężenie wolnych łańcuchów lekkich (FLC) u chorych z niewydzielającą postacią szpiczaka plazmocytowego (przypadki 1-3) i u chorych pierwotnie rozpoznawanych jako mających niewydzielającą postać szpiczaka (przypadki 4-8)

Przypadek	Plazmocyty w szpiku (%)	Osteoliza	Białko monoklonalne w		FLC κ (mg/l)	FLC λ (mg/l)	Stosunek κ/λ
			Surowicy IF	Moczu IF			
1.	40	–	–	–	10,00	9,04	1,11
2.	50	–	–	–	20,60	17,50	1,17
3.	30	–	–	–	17,70	14,30	1,24
4.	95	–	–	–	7,59	651,00	0,01
5.		+	–	–	40,00	0,33	123,00
6.	25	+	–	–	20,30	0,37	54,86
7.	70	+	–	–	832,00	8,44	98,50
8.*	25	+	–	–	367,00	5,88	62,41
	25	+	–	–	142,00	8,52	16,70

Objaśnienia: " +" znaczy obecny, "–" znaczy nieobecny, * oceniane w chwili rozpoznania i po 3 cyklach VAD (winkrystyna, doksorubicyna, deksametazon), IF – immunofiksacja

Tab. III. Stężenie wolnych łańcuchów lekkich (FLC) u chorych na szpiczaka plazmocytowego z pełnocząsteczkową immunoglobuliną G, A, D, E (IMM) w chwili rozpoznania i w czasie progresji choroby

	n	FLC κ (mg/l)	FLC λ (mg/l)	Stosunek κ/ λ
Chorzy z IMM κ	19			
x±SD		1052±1900	7,3±6,3	313±486
Średnia; zakres		166; 10-6500	5,9; 0,09-17,9	35; 1,9-1760
Chorzy z IMM λ	11			
x±SD		6,1±4,9	1522±3087	0,20±0,25
Średnia; zakres		7,9; 0,07-14,8	153; 17-9520	0,02; 0,00009-0,56

W Tabeli IV przedstawiono stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy u chorych na szpiczaka plazmocytowego, u których wykonano autologiczny przeszczep komórek macierzystych. U 12 chorych, z prawidłowym obrazem szpiku i u których techniką immunofiksacji nie stwierdzano obecności białka monoklonalnego ani w surowicy ani w moczu, prawidłowe stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy oraz prawidłowe wartości wskaźnika κ/λ potwierdziły rozpoznanie bezwzględnej całkowitej odpowiedzi na leczenie.

U 4 chorych z prawidłowym odsetkiem plazmocytów w szpiku, ale obecnością białka monoklonalnego w immunofiksacji, stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy były prawidłowe. Jednakże u kolejnych 8 chorych stwierdzono zarówno obecność białka monoklonalnego w immunofiksacji, jak i nieprawidłowe stężenia wol-

Tab. IV. Stężenie wolnych łańcuchów lekkich (FLC) u chorych na szpiczaka plazmocytowego (MM) po przeszczepieniu autologicznych komórek macierzystych

	n	FLC κ (mg/l)	FLC λ (mg/l)	Stosunek κ/λ
Chorzy z bezwzględną remisją całkowitą (sCR) x±SD	12	9,5±6,0	13,3 ± 10,2	0,8 ± 0,3
Średnia; zakres		8,4; 1,2-18,8	11,0; 1,4-36,3	0,8; 0,25-1,4
Chorzy z MM κ z IF (+) i nieprawidłowym stosunkiem κ/λ x±SD	5	34,2±22,1	4,4±3,8	18,8±23,9
Średnia; zakres		38,8; 10,9-66,1	2,9; 1,1-10,3	5,3; 1,8-58,1
Chorzy z MM λ z IF (+) i nieprawidłowym stosunkiem κ/λ x±SD	3	6,6±5,2	296±401	0,09±0,08
Średnia; zakres		5,4; 2,2-12,3	82; 47-760	0,11; 0,00-0,15

nych lekkich łańcuchów w surowicy, co wskazywało na brak remisji. Obserwacja chorych po autologicznym przeszczepie komórek macierzystych wykazała, że pojawienie się nieprawidłowego stosunku wolnych lekkich łańcuchów κ/λ w surowicy u 3 chorych znacznie wyprzedziło pojawienie się cech progresji w innych badaniach (stwierdzanie obecności białka monoklonalnego w immunofiksacji oraz stwierdzanie wzrostu liczby komórek plazmatycznych w szpiku). Dla odmiany w jednym przypadku pojawieniu się białka monoklonalnego w immunofiksacji oraz wzrostowi liczby komórek plazmatycznych w szpiku nie towarzyszyło podwyższenie stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy, ich wartości pozostawały w granicach prawidłowych.

Wskaźnik wolnych lekkich łańcuchów κ/λ w surowicy pozostał niezmieniony u wszystkich 4 chorych z odosobnioną postacią szpiczaka.

W Tabeli V przedstawiono stężenia wolnych łańcuchów lekkich w surowicy u chorych z MGUS – w momencie ustalania rozpoznania oraz w trakcie obserwacji. U 4/8 chorych z MGUS, obserwowanych przez okres od 10 do 26 lat, stwierdzono zmieniony wskaźnik wolnych lekkich łańcuchów κ/λ w surowicy. Do progresji szpiczaka plazmocytowego doszło u jednego chorego z nieprawidłowym wskaźnikiem κ/λ oraz u jednego chorego z prawidłowym wskaźnikiem κ/λ.

Tab. V. Stężenie wolnych łańcuchów lekkich (FLC) u chorych z gammapatią monoklonalną o nieokreślonym znaczeniu (MGUS) w chwili rozpoznania i w przebiegu obserwacji

Przypadek	Data surowicy badanej	Izotyp białka M	Białko M w surowicy (g/dl)	FLC κ (mg/l)	FLC λ (mg/l)	Stosunek κ/λ	MGUS obserwacja (lata)	Aktualny stan
1.	XII 1983	IgGκ	2,00					
	IV 1992		2,20	232,00	12,70	18,40	>22	nadal MGUS
	X 2001		2,20	159,00	12,70	12,60		
2.	VI 1988	IgGκ	2,44	34,30	8,83	3,88	>22	nadal MGUS
	IV 2010		3,50	22,50	1,92	11,72		
3.	IX 1984	IgGλ	2,52	<5,34	77,70	0,06		nadal MGUS
	V 1985		2,50	<5,34	96,30	0,05	>26	
4.	X 1998	IgGκ	1,30					
	VI 2010		0,39	9,37	5,96	1,57	>12	nadal MGUS
5.	VI 2005	IgMκ	2,70	22,00	11,00	2,00	>10	nadal MGUS
6.	II 2009	IgGλ	0,60					
	IX 2010		0,58	10,60	15,10	0,71	>2	nadal MGUS
7.	VI 1992	IgGλ	2,20					
	VIII 2006		2,20	8,28	16,30	0,51	14	Szpiczak plazmocytowy (2006)
8.	I 1990	IgMλ	2,95	12,30	95,60	0,13	10	Szpiczak plazmocytowy (2000)
	III 1994		0,90					

Dyskusja

Katzmann i wsp. [5] zdefiniowali zakresy wartości prawidłowych, badając świeże oraz mrożone próbki surowicy, pochodzące od 127 zdrowych dawców w wieku od 21 do 62 lat oraz mrożone próbki od 155 dawców w wieku od 51 do 90 lat, pozyskane z banku surowic. 95% przedział referencyjny dla wolnych lekkich łańcuchów immunoglobulinowych κ w surowicy wynosił 3,3-19,4 mg/l, a dla wolnych lekkich łańcuchów λ: 5,7-26,3 mg/l. Prawidłowy zakres wartości wskaźnika κ/λ określono jako 0,26-1,65. Pacjenci z wartościami wskaźnika powyżej 1,65 mają nadmiar wolnych lekkich łańcuchów κ, a zatem uważa się, że wytwarzają klonalne wolne lekkie łańcuchy κ. Z kolei chorzy z wartościami wskaźnika poniżej 0,26 mają nadmiar wolnych lekkich łańcuchów λ i zakłada się, że wytwarzają klonalne lekkie łańcuchy λ.

Wyniki badań przeprowadzonych na uwzględnionej przez nas grupie 10 zdrowych ochotników nie odbiegały od wartości prawidłowych, określonych przez Katzmanna i wsp. [5], co potwierdza wiarygodność testu również w naszym wykonaniu (Tab. II). W interpretacji wyników oznaczeń wolnych lekkich łańcuchów w surowicy u wszystkich naszych chorych stosowaliśmy ogólnie przyjęte wartości zakresu normy, określone przez Katzmanna i wsp. [5].

Warto jednak zaznaczyć, że przedziały referencyjności dla wolnych lekkich łańcuchów κ i λ w surowicy oraz dla wartości wskaźnika κ/λ były określone na podstawie badań wykonanych na surowicach pozyskanych od zdrowych dawców [5]. Choroby nerek oraz hipergammaglobulinemia poliklonalna mogą nieprawidłowo zawyżać wskaźnik κ/λ i w świetle przyjętych zakresów wartości prawidłowych dawać wyniki fałszywie dodatnie. W badaniu opublikowanym przez Abadiego i wsp. [1] nieznacznie podwyższony wskaźnik κ/λ (na poziomie 3,1) obserwowano w przypadku podwyższonych wartości kreatyniny w surowicy i/lub u chorych z hipergammaglobulinemią poliklonalną, co odpowiada typowym zmianom patofizjologicznym. Należy zatem wprowadzić odpowiednie normy dla chorych z uszkodzeniem nerek.

W toku naszego badania wykazaliśmy bardzo dobrą czułość oznaczeń wolnych łańcuchów lekkich w surowicy u chorych z chorobą lekkich łańcuchów. Wszystkie 35 przypadki choroby lekkiego łańcucha zostały prawidłowo zidentyfikowane na podstawie wyników ilościowych oznaczeń stężenia wolnych lekkich łańcuchów w próbkach surowicy. Jednak w różnych publikacjach wykazano brak istotnej korelacji pomiędzy stężeniem wolnych łańcuchów lekkich w surowicy i oznaczaniem wolnych lekkich łańcuchów w elektroforezie próbek z dobowej zbiórki moczu [2, 6, 17-19]. W 2009 r. Międzynarodowa Grupa Robocza ds. Szpiczaka zaleciła oznaczanie wolnych lekkich łańcuchów kappa i lambda w surowicy, zamiast wykonywania elektroforezy białek moczu z dobowej zbiórki, w ramach algorytmu badania przesiewowego w kierunku szpiczaka plazmocytowego, ale elektroforeza białek z dobowej zbiórki moczu pozostała nadal zalecana w monitorowaniu odpowiedzi na leczenie u chorych z chorobą lekkiego łańcucha, u których nie stwierdza się mierzalnych wartości białka monoklonalnego w elektroforezie białek surowicy [17]. Warto jednak wspomnieć, że w piśmiennictwie spotyka się również inne opinie. Siegel i wsp. [20] stwierdzili, że ilościowa analiza nefelometryczna wolnych lekkich łańcuchów w surowicy zapewnia bardziej dokładne określenie ilości wolnych łańcuchów lekkich niż elektroforeza białek moczu. Zasugerowano, że połączenie elektroforezy białek surowicy i oceny w teście ilościowych oznaczeń stężeń wolnych lekkich łańcuchów w surowicy powinno zostać włączone do algorytmu oceny gammapatii monoklonalnych [21-26].

W przypadku 5/8 chorych (62%), u których wcześniej rozpoznawano niewydzielającą postać szpiczaka, stwierdzono podwyższone stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy (Tab. II, przypadki 4-8). Badanie stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy pozwala na ilościowe monitorowanie chorych z zaburzeniami plazmocytowej linii komórkowej, charakteryzującymi się skąpym wydzielaniem białka monoklonalnego, takich jak amyloidoza L, związana z lekkimi łańcuchami i szpiczak skąpowydzielający, oraz, jak wykazaliśmy w naszym badaniu, prawie 2/3 chorych, u których wcześniej rozpoznawano niewydzielającą postać szpiczaka. W badaniu opublikowanym przez Draysona i wsp. [4], u sześciu osób poddawanych badaniom w toku przebiegu choroby stwierdzano zmiany w stężeniu wolnych lekkich łańcuchów w surowicy, odpowiadające klinicznej progresji choroby. Podobnie, w niedawno opublikowanym badaniu Dispenzieri i wsp. [27] wykazano, że test pozwalający na ilościowe oznaczanie stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy pozwala na monitorowanie choroby przy braku oznaczalnego M-komponentu w elektroforezie. W naszym materiale w przypadku jednego chorego podwyższony wskaźnik wolnych łańcuchów lekkich κ/λ w surowicy, stwierdzany w chwili rozpoznania choroby, obniżył się istotnie po zastosowaniu 3 cyklów leczenia VAD (winkrystyna, doksorubicyna i deksametazon) (Tab. II, przypadek 8). W tym przypadku również w innych badaniach laboratoryjnych stwierdzano cechy stabilizacji choroby.

Normalizacja wskaźnika stosunku wolnych lekkich łańcuchów w surowicy została włączona do definicji bezwzględnej całkowitej odpowiedzi na leczenie, określonej przez Międzynarodową Grupę Roboczą ds. Szpiczaka jako Ujednolicone Kryteria Odpowiedzi na Leczenie [16]. W naszym materiale w przypadku 12/27 chorych na szpiczaka plazmocytowego, podanych autologicznemu przeszczepowi komórek macierzystych, obserwowaliśmy normalizację stosunku wolnych lekkich łańcuchów w surowicy. Okres obserwacji tych chorych jest zbyt krótki, aby próbować wnioskować, że normalizacja wskaźnika stosunku wolnych lekkich łańcuchów w surowicy jest czynnikiem prognostycznym dla przeżycia bez cech progresji, czy też dla przeżycia całkowitego, tak jak sugerują Kumar i wsp. [15]. W badaniu Hassouna i wsp. [28] chorzy byli leczeni doksorubicyną i deksametazonem przez okres 2-3 miesięcy, a następnie talidomidem i deksametazonem przez 2 miesiące. Autorzy stwierdzili, że norma-

lizacja wskaźnika wolnych lekkich łańcuchów w surowicy, pojawiająca się po jednym lub dwóch cyklach leczenia (obserwowana u 8/37 chorych), korelowała znamiennie z uzyskaniem całkowitej lub prawie całkowitej odpowiedzi na leczenie. Hajek i wsp. [29] opisali przydatność oceny stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy do wczesnego wykrywania oporności na leczenie według protokołów opartych na bortezomibie. Ilościowe stężenie wolnych lekkich łańcuchów w surowicy powinno być oznaczane u wszystkich chorych, którzy osiągnęli całkowitą remisję w celu stwierdzenia, czy jest to bezwzględna całkowita remisja, czy też stan choroby resztkowej [17, 30].

W celu określenia, czy stężenie wolnych lekkich łańcuchów w surowicy może mieć wartość prognostyczną u chorych z objawowymi postaciami szpiczaka plazmocytowego, Snozek i wsp. [11] badali stężenia wolnych lekkich łańcuchów w surowicy 790 chorych ze świeżo rozpoznanym szpiczakiem plazmocytowym. Całkowite przeżycia były znamiennie gorsze u chorych ze zmienionym stosunkiem wolnych lekkich łańcuchów w surowicy (tj. <0,03 lub >32), w porównaniu z chorymi, u których wartość stosunku wolnych lekkich łańcuchów w surowicy mieściła się pomiędzy 0,03 i 32 (mediana przeżycia odpowiednio 30 i 39 miesięcy). Autorzy połączyli nieprawidłowe wartości stosunku wolnych lekkich łańcuchów w surowicy z innymi czynnikami ryzyka, zawartymi w Międzynarodowym Systemie określania zaawansowania szpiczaka (tj. stężeniem albumin <3,5 g/dl oraz stężeniem β_2-mikroglobuliny w surowicy ≥3,5 mg/l), aby stworzyć model stratyfikacji ryzyka, stwarzający lepsze możliwości rokownicze. Pacjenci z żadnym, 1, 2 lub 3 czynnikami ryzyka osiągali znamiennie różne przeżycia, których mediana wynosiła odpowiednio 51, 39, 30 i 22 miesiące (P<0,001).

W naszym materiale u 4/8 chorych z MGUS, pozostających w obserwacji przez okres od 10 do 26 lat, stwierdzono nieprawidłowy wskaźnik stosunku wolnych lekkich łańcuchów w surowicy. Do progresji szpiczaka plazmocytowego doszło u jednego chorego z zaburzonym wskaźnikiem κ/λ oraz u jednego chorego z prawidłowym wskaźnikiem κ/λ (Tab. V). Rajkumar i wsp. [31] opisali, że u jednej trzeciej chorych spośród 1 138 pacjentów z MGUS z południowo-wschodniej Minnesoty (USA) stwierdzono nieprawidłowe wartości wskaźnika wolnych lekkich łańcuchów w surowicy w momencie rozpoznania. Ryzyko progresji choroby było znacznie wyższe u chorych z nieprawidłowymi wartościami stosunku wolnych lekkich łańcuchów w surowicy, niż u chorych, u których wartości te były prawidłowe. Wartości stosunku wolnych lekkich łańcuchów były niezależne od stężenia i typu białka monoklonalnego w surowicy. Ci sami autorzy [31] opracowali model stratyfikacji ryzyka progresji MGUS. Pacjenci z takimi czynnikami ryzyka, jak stężenie białka monoklonalnego w surowicy ≥1,5 g/dl, z postacią MGUS związaną z IgA lub IgM i zaburzonym stosunkiem wolnych lekkich łańcuchów w surowicy, mieli 58% ryzyko progresji po 20 latach, w porównaniu z 37% ryzykiem w obecności dwóch czynników ryzyka, 21% ryzykiem w obecności jednego czynnika ryzyka i zaledwie 5% ryzykiem przy braku czynników ryzyka.

Prof. Maria Kraj
Instytut Hematologii i Transfuzjologii
ul. Indiry Gandhi 14, 02-776 Warszawa, Polska
e-mail: mkraj@ihit.waw.pl

Piśmiennictwo

1. Abadie JM, von Hoeven KH, Wells JM. Are renal reference intervals required when screening for plasma cell disorders with serum free light chains and serum protein electrophoresis? *Am J Clin Pathol* 2009: 131: 166-71.
2. Abraham RS, Clark RJ, Bryant SC i wsp. Correlation of serum immunoglobulin free light chain quantification with urinary Bence Jones protein in light chain myeloma. *Clin Chem* 2002; 48: 655-7.
3. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP i wsp. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001; 47: 673-80.
4. Drayson MT, Tang LX, Drew R i wsp. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 2001; 97: 2900-2.
5. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS i wsp. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free κ and free λ immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 2002; 48: 1437-44.
6. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP i wsp. Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet* 2003; 361: 489-91.
7. Abraham RS, Katzmann JA, Clark RJ i wsp. Quantitative analysis of serum free light chains: a new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 274-8.
8. Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA i wsp. Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood* 2008; 111: 785-9.
9. Kyle RA, Durie BGM, Rajkumar SV i wsp. 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; 24: 1121-7.
10. Dingli D, Kyle RA, Rajkumar SV i wsp. Immunoglobulin free light chains and solitary plasmacytoma of bone. *Blood* 2006; 108: 1979-83.
11. Snozek CLH, Katzmann JA, Kyle RA i wsp. Prognostic value of the serum free light chain ratio in newly diagnosed myeloma: proposed incorporation into the International Staging System. *Leukemia* 2008; 22: 1933-7.
12. Kyrtsonis MC, Vassilakopoulos TP, Kafasi N i wsp. Prognostic value of serum free light chain ratio at diagnosis in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2007; 137: 240-3.
13. van Rhee F, Bolejack V, Hollming K i wsp. High serum – free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood* 2007; 110: 827-32.
14. Greipp PR, San Miguel J, Durie BG i wsp. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3412-20.
15. Kumar S, Dispenzieri A, Larson D i wsp. Normalization of the serum free light chain (flc) ratio is associated with superior overall survival among myeloma patients achieving immunofixation negative state: results support incorporation of serum flc ratio in stringent cr definition [abstract]. *Blood* (ASH Annual Meeting Abstracts) 2008; 112: 1692.
16. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS i wsp. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006; 20: 1467-73.
17. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G i wsp. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009; 23: 215-24.
18. Nowrousian MR, Brandhorst D, Sammer C i wsp. Serum free light chain analysis and urine immunofixation electrophoresis in patients with multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 8706-14.
19. Singhal S, Stein R, Vickrey E i wsp. The serum-free light chain assay cannot replace 24-hour urine protein estimation in patients with plasma cell dyscrasias. *Blood* 2007; 109: 3611-2.

20. Siegel DS, MC Bride L, Bilotti E. Inaccuracies in 24-hour urine testing for monoclonal gammopathies. Serum free light chain analysis provides a more accurate measure of light chain burden than urine protein electrophoresis. *Lab Medicine* 2009; 40: 341-4.
21. Fulton RB, Fernando SL. Serum free light chain assay reduces the need for serum and urine immunofixation electrophoresis in the evaluation of monoclonal gammopathy. *Annals of Clinical Biochemistry* 2009; 46: 407-12.
22. Hill PG, Forsyth JM, Rai B i wsp. Serum free light chains: an alternative test to urine Bence Jones proteins when screening for monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 2006; 52: 1743-8.
23. Piehler AP, Gulbrandsen N, Kierulf P i wsp. Quantitation of serum free light chains in combination with protein electrophoresis and clinical information for diagnosing multiple myeloma in a general hospital population. *Clin Chem* 2008; 54: 1823-30.
24. Katzmann JA, Dispenzieri A, Kyle RA i wsp. Elimination of the need for urine studies in the screening algorithm for monoclonal gammopathies by using serum immunofixation and free light chain assays. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 1575-8.
25. Katzmann JA, Dispenzieri A. Screening algorithms for monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 2008; 54: 1753-5.
26. Katzmann JA, Kyle RA, Benson J i wsp. Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 2009; 55: 1517-22.
27. Dispenzieri A, Zhang I, Katzmann JA i wsp. Appraisal of immunoglobulin free light chains as a marker of response. *Blood* 2008; 111: 4908-15.
28. Hassoun H, Reich L, Klimek VM i wsp. Doxorubicin and dexamethasone followed by thalidomide and dexamethasone is an effective well tolerated initial therapy for multiple myeloma. *Br J Haematol* 2006; 132: 155-61.
29. Hajek R, Cermakova Z, Pour L i wsp. Free light chain assays for early detection of resistance to bortezomib-based regimens. *Haematologica* 2007; 92: 93.
30. Kröger N. Monitoring serum free light chains in patients with multiple myeloma who achieved negative immunofixation after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2007; 92: 275-6.
31. Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM i wsp. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2005; 106: 812-7.

Otrzymano: 29 grudnia 2010 r.
Przyjęto do druku: 2 marca 2011 r.