

CAT

CRITICALLY APPRAISED TOPIC

BEPALING VAN VRIJE LICHTE KETENS IN SERUM: WAARDE BIJ DIAGNOSE & FOLLOW-UP VAN MONOKLONALE GAMMOPATHIE ?

Author: Apr. Marjan Van Gysel
Supervisor: Prof. Dr. X. Bossuyt & Dr. Lieve Mariën
Search/methodology verified by: Dr. Johan Frans
Date: 14/06/2005
Expiry date: 14/06/2007

CLINICAL BOTTOM LINE

Het huidige algoritme voor het opsporen en opvolgen (en re-evaluatie) van een paraproteïne berust hoofdzakelijk op conventionele technieken (capillaire zone elektroforese en immunofixatie) uitgevoerd op serum en urine. Daarnaast reflecteert de bepaling van het totale eiwitgehalte en de totale (vrije & gebonden) concentraties kappa en lambda ketens in urine de ernst van de proteïnurie. In een aantal gevallen, meer specifiek bij AL amyloïdose, Light Chain Multiple Myeloma (LCMM) en Non-Secreting Multiple Myeloma (NSMM), gekarakteriseerd door laaggeconcentreerde M-proteïnen, vaak verscholen achter andere eiwitten in het elektroferogram, laten deze technieken geen adequate kwantificering van het paraproteïne toe. In deze gevallen worden tot op heden aanvullend de totale concentraties (vrije & gebonden) κ/λ ketens in serum bepaald, teneinde een kwantitatief beeld te hebben van de paraproteïnemie.

Publicaties hebben aangetoond dat de bepaling van de *vrije lichte ketens* in serum en de daaruitvolgende ratio voor deze specifieke indicaties meer is aangewezen.

De hematologen in het UZ Leuven delen deze mening en zijn overtuigd van de meerwaarde van deze bepaling bij diagnose en opvolging van AL amyloïdose, LCMM en NSMM. Voor deze specifieke gevallen, die echter slechts een klein deel uitmaken van de monoklonale gammopathieën, verdient de FLC-bepaling in serum een plaats in ons huidig algoritme; in die zin dat ze de bepaling van totale κ/λ ketens in serum kan vervangen.

Bij de implementatie van deze analyse mag echter de technische omslachtigheid van de methode uitgevoerd op de IMMAGE[®] nefelometer, waarover men in het laboratorium van UZ Leuven beschikt, niet over het hoofd gezien worden.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

Monoklonale gammopathie is een verzamelnaam voor een zeer uiteenlopende groep van aandoeningen waarbij M-proteïnen (monoklonale immunoglobulinen of delen ervan) worden aangetroffen in serum of urine. Deze term verwijst bijgevolg naar een laboratoriumbevinding

en houdt op zich geen diagnose in. Monoklonale gammopathie duidt op de proliferatie of expansie van een bepaalde kloon van B-lymfocyten of plasmacellen.

M-proteïnen kunnen gedetecteerd worden bij een brede waaier van aandoeningen; naast hematologische maligniteiten, kunnen ook tal van infecties, auto-immuunziekten en neurologische pathologieën hiermee gepaard gaan (zie tabel 1). De prevalentie van monoklonale gammopathieën is dan ook hoog (ongeveer 2 à 4% in de algemene bevolking) en neemt duidelijk toe met de leeftijd.

Een M-component, hoewel per definitie monoklonaal, kan zowel bij maligne, premaligne als benigne condities worden aangetroffen.

Immunosecretoire aandoeningen kunnen hetzij van plasmocytair origine zijn (vb. plasmacel dyscrasieën), hetzij lymfocytair (vb. non-Hodgkin lymfoom) of lymfoplasmocytair (vb. M. Waldenström).

| Hematologische maligniteiten | |
|---|------------------------------|
| Multiple myeloom | Heavy chain disease |
| Plasmocytoma | Non-Hodgkin lymfoom |
| Light chain disease | CLL |
| AL amyloïdose | POEMS-syndroom |
| MGUS | |
| Infecties | |
| HIV, toxoplasmose, virale hepatitis, Mycoplasma pneumonie | |
| Auto-immuunaandoeningen | |
| SLE | Primaire biliare cirrhose |
| Reumatoïde arthritis | vasculitis |
| Solide tumoren | |
| Neurologische aandoeningen | |
| Huidziekten | |
| scleromyxoedeem | Discoïde lupus erythematodes |
| Lichen myxoedematosus | |
| Na orgaantransplantaties | |
| Andere | |
| Acute porfyrie | hyperparathyreoïdie |
| sarcoïdose | Idiopathische longfibrose |

Tabel 1: Aandoeningen waarbij een paraproteïne kan voorkomen
Uit: CBO richtlijn “paraproteïnemie” (2001) [4]

Niettemin staande de aanwezigheid van een M-proteïne meestal een toevalsbevinding is, zijn er een aantal indicaties om er gericht onderzoek naar te verrichten. Enerzijds kan het optreden van klinische symptomen waarbij het onderzoek naar een paraproteïne van diagnostische waarde is, aan de basis liggen van de aanvraag; anderzijds kunnen klinische bevindingen waarbij de aanwezigheid van een M-proteïne de diagnose ondersteunt, de aanleiding zijn (zie bijlage 1).

Deze CAT zal meer specifiek het belang van een adequate laboratoriumdiagnostiek en een accurate kwantificering van paraproteïnen toelichten bij plasmacel dyscrasieën (zie tabel 2).

| |
|---|
| Plasma cell myeloma |
| Non-secretory myeloma Indolent myeloma Smoldering myeloma Plasma cell leukemia |
| Plasmocytoma |
| Solitary plasmocytoma of bone Extramedullary plasmocytoma |
| Immunoglobulin deposition diseases |
| Primary amyloidosis (AL) Systemic light and heavy chain deposition diseases |
| Osteosclerotic myeloma (POEMS syndrome) |
| Heavy chain diseases |
| Gamma HCD Mu HCD Alpha HCD |

Tabel 2: Plasmacel neoplasieën
Uit: WHO, 2001 [77]

De internationaal geaccepteerde criteria voor de classificatie van monoclonale gammopathieën berusten op een combinatie van multidisciplinaire bevindingen: naast klinische symptomen, radiologische bevindingen, biochemische en hematologische parameters, speelt de aanwezigheid en de kwantiteit van het paraproteïne een centrale rol in deze classificatie (zie bijlage 2). Ook voor de opvolging van patiënten met monoclonale gammopathieën is de detectie en kwantificering van het M-proteïne van onmiskenbaar belang. In tegenstelling tot de enorme diversiteit die de normale immunoglobulineproductie karakteriseert, domineert bij monoclonale gammopathie één enkele abnormale kloon; in zeldzame gevallen ziet men een expansie van twee (biclonaal gammopathie) of drie klonen (triclonaal gammopathie). Het resulterende monoclonale immunoglobuline kan hetzij intact zijn (d.w.z. dat het bestaat uit twee zware en twee lichte ketens), hetzij uitsluitend uit lichte ketens of in uiterst zeldzame gevallen uit zware ketens bestaan.

Een breed spectrum van laboratoriumtechnieken is beschikbaar voor het opsporen, identificeren en kwantificeren van monoclonale proteïnen. Ze verschillen onderling sterk in sensitiviteit, kostprijs, arbeidsintensiviteit en hebben elk hun inherente beperkingen.

HUIDIGE LABORATORIUMDIAGNOSTIEK IN UZ LEUVEN:

Op aanvraagbon 3001bis kunnen onder de hoofding “paraproteïne (serum + urine)” drie mogelijkheden worden aangekruist:

- opsporen/identificatie
- opvolgen
- re-evaluatie

Een klinische vraagstelling is als het ware het uitgangspunt voor het onderzoek. Achter elk van deze vraagstellingen gaat een aantal laboratoriumanalyses schuil (zie bijlage 3).

Immers, met het oog op een consequente en adequate laboratoriumdiagnostiek, stelt de CBO-richtlijn “paraproteïnemie” [4], dat het hanteren van termen op het aanvraagformulier, die samenhangen met de gebruikte techniek voor M-proteïne-onderzoek (vb. immunofixatie, serum eiwitelektroforese,..) tot verwarring leidt en dat de keuze van de techniek (met de

daaraan inherente sensitiviteit en specificiteit), moet worden afgestemd op de achterliggende vraagstelling.

Het aanvragen van een geïsoleerde serum eiwitelektroforese blijft weliswaar mogelijk en kan zinvol zijn vb. bij een hoog totaal eiwit of een onverklaarbaar laag albumine, maar is niet aangewezen wanneer met hoge sensitiviteit een M-proteïne moet worden opgespoord.

Opsporen/ identificatie:

Er wordt een serum eiwitelektroforese (SEE) uitgevoerd d.m.v. capillaire zone elektroforese (CZE) waarbij, zo mogelijk, de M-piek wordt gekwantificeerd (gerelateerd aan het totale eiwitgehalte in serum). Ongeacht het elektroforesepatroon (normaal of gestoord) wordt een immunofixatie (IFE) uitgevoerd m.b.v. anti- γ , anti- α , anti- μ , anti- κ en anti- λ (indien nodig met anti- κ_f , anti- λ_f , anti- ϵ en anti- δ), waardoor met hogere sensitiviteit (detectielimiet serum = 12-25 mg/dl; detectielimiet urine: 1-5 mg/dl) een M-proteïne kan opgespoord en geïdentificeerd kan worden.

Teneinde ook Bence Jones proteïnurie gevoelig te kunnen opsporen, wordt een IFE uitgevoerd (bij voorkeur) op een ochtendurinestaal, waarop tevens het totale eiwitgehalte wordt bepaald.

Wanneer uit deze onderzoeken blijkt dat een M-proteïne aanwezig is in serum en/of urine, zal een nefelometrische dosage van IgG, IgA en IgM in serum worden uitgevoerd, aan de hand waarvan een beeld kan worden verkregen van de mogelijke verdringing van de polyklonale immunoglobulinen.

Betreft het een lichte ketenparaproteïne, dan zal additioneel de totale (vrije & gebonden) concentratie kappa- en lambdaketens in serum worden bepaald. Gaat het om een IgD-paraproteïne, dan wordt IgD bepaald.

Opvolgen:

Wanneer de clinicus deze analyse aankruist, wordt naast een serumstaal, eveneens een 24-uursurinecollectie gevraagd.

Er wordt een SEE uitgevoerd (d.m.v. CZE) en uit het elektroferogram wordt, indien mogelijk, de M-piek gekwantificeerd.

Het totaal eiwitgehalte en de concentratie van totale (vrije & gebonden) kappa- en lambdaketens in urine geven een beeld van de evolutie van de Bence Jones proteïnurie. Wanneer op CZE geen duidelijke M-piek kan worden gedetecteerd, wordt aanvullend een IFE uitgevoerd op serum. Wanneer hieruit blijkt dat er nog steeds een lichte ketenparaproteïne aanwezig is, worden de totale (vrije en gebonden) concentraties van κ/λ -lichte ketens in serum bepaald.

Re-evaluatie:

Hierbij wordt opnieuw een volledig bilan opgemaakt van de paraproteïnemie: er wordt naast een SEE (zoals gebeurt bij aankruisen van "opvolgen") steeds een IFE op serum en 24u-urine uitgevoerd, opdat ook wanneer de M-piek in serum niet meer detecteerbaar is, met hoge sensitiviteit het residuele M-proteïne kan worden opgespoord. Ook worden de immunoglobulinen IgG, IgA en IgM, evenals vrije & gebonden κ/λ -ketens in 24u-urine nefelometrisch gedoseerd.

Verschillende technieken zijn beschikbaar in de laboratoriumdiagnostiek van M-proteïnen, zij hebben echter elk hun beperkingen:

1. Hoewel CZE een gevoelige methode is voor het opsporen van monoklonale proteïnen, kan in 5% van de stalen met positieve IFE, geen M-piek gedetecteerd worden. Bij deze zogenaamde vals negatieven gaat het meestal om laaggeconcentreerde M-proteïnen of om paraproteïnen verscholen in de β - (vb. achter de transferrinepiek) of zelfs de pre- β -regio. Dergelijke gevallen komen hoofdzakelijk voor bij Light Chain Multiple Myeloma (LCMM) en AL amyloïdose ([20], [30], [54]).
2. Guidelines ([4], [5], [6]) stellen dat Bence Jones proteïnen (BJP) moeten opgespoord en gekwantificeerd worden in een 24-uursurinecollectie aan de hand van een bepaling van de totale eiwitexcretie, densitometrische scanning van de lichte ketenpiek en immunofixatie. Pitfalls bij de kwantificering van BJP zijn echter:
 - a) inaccuraatheid van de methoden voor bepaling van het totale eiwitgehalte in urine
 - b) een gebrekkige lineariteit van de densitometrische scanning o.w.v. variabele affiniteit van de verschillende proteïnen voor de kleurstof
 - c) exacte afbakening van de BJP-piek is vaak moeilijk omwille van co-migrerende proteïnen en het voorkomen van multiple BJP-banden
 - d) onvolledigheid van de 24-uursurinecollectie
 - e) louter pathofysiologisch gezien is urine niet het meest geschikt om Bence Jones proteïnen te kwantificeren. De excretie van vrije lichte ketens wordt immers sterk beïnvloed door de reabsorptiecapaciteit van de niertubuli ([11], [34], [56], [79]). Bijgevolg zal men pas een excess in de urine detecteren wanneer de toegenomen productie de maximale reabsorptiecapaciteit overschrijdt. Daarenboven stelt men bij ernstige nierinsufficiëntie, een frequent voorkomende complicatie van monoklonale gammopathie, vaak een paradoxale daling van de vrije lichte ketenexcretie vast tengevolge van progressieve nefrondysfunctie (afname van de glomerulaire filtratie).
3. Bij de gebruikte nefelometrische methode voor de dosage van kappa- en lambdaketens (vrij & gebonden) stelt men een variabele immunoreactiviteit met het anti-serum vast en kan men niet ontkomen aan het maskerend effect van de normale (polyclonale) kappa- en lambda ketens.

Voor correcte diagnostiek is dan ook een gecombineerde interpretatie van verschillende analyses noodzakelijk. Desondanks schieten we voor een accurate kwantificering van het paraproteïne bij LCMM, NSMM en AL amyloïdose nog tekort.

Sinds enkele jaren is een commerciële assay, bekend onder de naam Freelite™ (The Binding site), beschikbaar die toelaat vrije lichte ketens (FLC) nefelometrisch te doseren in serum.

Deze kritische testevaluatie heeft tot doel de waarde van de bepaling van vrije lichte ketens in serum bij diagnose en follow-up van monoklonale gammopathieën na te gaan. Daarnaast zal de plaats van deze bepaling in ons huidig algoritme in vraag worden gesteld.

QUESTION(S)

- 1) *Heeft de bepaling van vrije lichte ketens in serum een diagnostische meerwaarde bij monoklonale gammopathie vergeleken met de conventionele technieken?*
- 2) *Wat is de plaats van deze bepaling in de follow-up van behandeling van patiënten met monoklonale gammopathie? Levert het resultaat bijkomende prognostische informatie?*

SEARCH TERMS

- 1) MeSH Database (PubMed): "Immunoglobulins"[MeSH], "Immunoglobulins, Light-Chain"[MeSH], "Immunoglobulins, Heavy-Chain"[MeSH], "Monoclonal Gammopathies, Benign"[MeSH], "Bence Jones Protein"[MeSH], "Paraproteins"[MeSH], "Multiple Myeloma"[MeSH], "M protein, multiple myeloma"[Substance Name]), "Amyloidosis"[MeSH]), "Paraproteins"[MeSH]", "Immunoglobulins, lambda-chain [MeSH]", "Immunoglobulins, kappa-chain [MeSH], "Diagnosis"[MeSH], "Early Diagnosis"[MeSH], "Laboratory Techniques and Procedures"[MeSH]"
- 2) PubMed Clinical Queries (from 1966; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>): Systematic Reviews; Clinical Queries using Research Methodology Filters (diagnosis + specific, diagnosis + sensitive, prognosis + specific)
- 3) Pubmed (Medline; from 1966), SUMSearch (<http://sumsearch.uthscsa.edu/>), National Guideline Clearinghouse (<http://www.ngc.org/>), Institute for Clinical Systems Improvement (<http://www.icsi.org/>), The National Institute for Clinical Excellence (<http://www.nice.org.uk/>), Cochrane (<http://www.update-software.com/cochrane>), Health Technology Assessment Database (<http://www.york.ac.uk/inst/crd/hta.htm>)
- 4) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS; <http://www.nccls.org/>), International Federation of Clinical Chemistry (IFCC; <http://www.ifcc.org/ifcc.asp>), Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA; <http://www.cms.hhs.gov/clia/>)
- 5) British Committee for Standards in Haematology (BSCH) (<http://www.bschguidelines.com>), American Society of Hematology (ASH, <http://www.hematology.org>), European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC, <http://www.eortc.be>), Evidence Based Medicine Resource Center UZ Leuven (<http://www.uzleuven.be/ebm/>), Kwaliteitsinstituut voor Gezondheidszorg CBO (<http://www.cbo.nl>)
- 6) UpToDate Online version 13.1 (2005)
- 7) Diagnostisch kompas (College voor zorgverzekeringen, the Netherlands, <http://www.dk.cvz.nl>)
- 8) *Opinies van deskundigen (per e-mail)*

Werkgroepen CBO richtlijn:

Prof. Dr. P. Sonneveld, internist – hematoloog Erasmus MC Rotterdam

Dr. I.S. Klasen, medisch immunoloog, UMC St. Radboud

Dr. AM.J. Buiting, medisch immunoloog, UMC Leiden

Andere Freelite-gebruikers:

Ph.D. J.A. Katzmann, May Clinic, Rochester

Dr. B. Bast, medisch immunoloog, UMC Utrecht

Dr. C. Van Campenhout, UZA

Dr. M. Vercammen, AZ-VUB

Apr. W. Uyttenbroeck, AZ Stuivenberg

Hematologen UZ Leuven:

Prof. Dr. M. Delforge

Prof. Dr. G. Verhoef

Dr. P. Zachee

RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

1. **BCSH guidelines on diagnosis and management of multiple myeloma.** *British Journal of Haematology* (2001), 115, 522 – 540. (Guidelines)
2. **BCSH guidelines on diagnosis and management of AL amyloidosis.** Working Group of the United Kingdom Myeloma Forum on behalf of the British Committee for Standards in Haematology. *British Journal of Haematology* (2004), 125, 681 - 700. (Guidelines)
3. **BCSH guidelines on diagnosis and management of solitary plasmacytoma of bone (SBP) and solitary extramedullary plasmacytoma (SEP).** Working Group of the United Kingdom Myeloma Forum on behalf of the British Committee for Standards in Haematology. *British Journal of Haematology* (2004), 124, 717 - 726. (Guidelines)
4. **CBO richtlijn: Monoklonale Gammopathie (Paraproteïnemie).** Kwaliteitsinstituut voor Gezondheidszorg CBO (2001). (<http://www.cbo.nl>) (Guidelines)
5. GRAZIANI, M., MERLINI, G. AND PETRINI, C. **Guidelines for the analysis of Bence Jones Protein.** *Clin. Chem. Lab. Med.* (2003), 41, 338 – 346. (Guidelines)
6. KEREN, D.F., ALEXANIAN, R., GOEKEN, J.A., GOREVIC, P.D., KYLE, R.A. AND TOMAR, R.H. **Guidelines for clinical and laboratory evaluation patients with monoclonal gammopathies.** *Arch. Pathol. Lab. Med.* (1999), 123, 106 – 107.(Guidelines)
7. Scientific Advisors of the International Myeloma Foundation. **Myeloma management guidelines: a consensus report from the Scientific Advisors of the International Myeloma Foundation.** *Hematol. J.* (2003), 4, 379 – 98. (Guidelines / Review)
8. TRAYNOR, A.E., NOGA, S.J. NCCN MULTIPLE MYELOMA PRACTICE GUIDELINES PANEL. **Multiple myeloma.** *Cancer Control.* (2001), 8, 78 – 87. (Guidelines / Review)
9. **Multiple Myeloma.** FINNISH MEDICAL SOCIETY DUODECIM – Professional Association – 2001 dec 27 (revised 2004 june 14). (Guidelines)
10. ALEXANIAN R., WEBER, D., LIU, F. **Differential diagnosis of monoclonal gammopathies.** *Arch. Pathol. Lab. Med.* (1999), 123, 108 – 113. (Review)
11. BEETHAM, R. **Detection of Bence-Jones protein in practice.** *Ann. Clin. Biochem.* (2000), 37, 563 – 70. (Review)

12. BRADWELL, A.R., CARR-SMITH, H.D., MEAD, G.P. AND DRAYSON, M.T. **Serum free light chain immunoassays and their clinical application.** *Clinical and Applied Immunology reviews* (2002), 3, 17-33. (Review)
13. BRIGDEN, M.L. **The search for meaning in monoclonal protein. Is it multiple myeloma or monoclonal gammopathy of undetermined significance?** *Postgrad. Med.* (1999), 106, 135 – 42. (Review)
14. DAVIES, F.E., RAWSTRON, A.C., OWEN, R.G. AND MORGAN, G.J. **Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma.** *Best Practice & Research Clinical Haematology* (2002), 15, 197 – 222. (Review)
15. DURIE, B.G. **Staging and kinetics of multiple myeloma.** *Semin. Oncol.* (1986), 13, 300 – 309. (Review)
16. GOEKEN, J.A. AND KEREN, D.F. **Introduction to the report of the consensus conference on monoclonal gammopathies.** *Arch. Pathol. Lab. Med.* (1999), 123, 104 – 105. (Review)
17. KEREN, D.F. **Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins.** *Arch. Pathol. Lab. Med.* (1999), 123, 126 – 132. (Review)
18. KUMAR, A., LOUGHRAN, T., ALSINA, M., DURIE, B.G. AND DJULBEGOVIC, B. **Management of multiple myeloma: a systematic review and critical appraisal of published studies.** *The Lancet Oncology* (2003), 4, 293 – 304. (Review)
19. KYLE, R.A. AND RAJKUMAR, S.V. **Multiple myeloma.** *N. Engl. J. Med.* (2004), 351; 18, 1860 – 1873. (Review)
20. KYLE, R.A. **Sequence of testing for monoclonal gammopathies.** *Arch. Pathol. Lab. Med.* (1999), 123, 114 – 118. (Review)
21. LEVINSON, S.S. AND KEREN, D.F. **Free light chains of immunoglobulins: clinical laboratory analysis.** *Clin. Chem.* (1994), 40, 1869 – 78. (Review)
22. SIROHI, B AND POWLES, R. **Multiple myeloma.** *The Lancet* (2004), 363, 875 – 87. (Review)
23. TATE, J.R., DEVINDER, G., COBCROFT, R. AND HICKMAN, P. **Practical considerations for the measurement of free light chains in serum.** *Clin. Chem.* (2003), 49, 1252 – 57. (Review)
24. ABE, M. GOTO, T., KOSAKA, M., WOLFENBARGER, D., WEISS, D.T. AND SOLOMON, A. **Differences in kappa to lambda (kappa:lambda) ratios of serum and urinary free light chains.** *Clin. Exp. Immunol.* (1998), 111, 457 – 62. (Original article)
25. ABRAHAM, R.S., CLARK, R.J., BRYANT, S.C., LYMP, J.F., LARSON, T., KYLE, R.A. AND KATZMANN, J.A. **Correlation of serum immunoglobulin free light chain quantification with urinary Bence Jones protein in light chain myeloma.** *Clin. Chem.* (2002), 48, 655 – 657. (Original article)

26. ABRAHAM, R.S., KATZMANN, J.A., CLARK, R.J., BRADWELL, A.R., KYLE, R.A. AND GERTZ, M.A. **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. (Original article)
27. ALYANAKIAN, M., ABBAS, A., DELARUE, R., ARNULF, B. AND AUCOUTURIER, P. **Free immunoglobulin Light-chain serum levels in the follow-up of patients with monoclonal gammopathies: correlation with the 24-hr urinary light-chain excretion.** *American Journal of Hematology*, 75, 246 – 248. (Original article)
28. ANAGNOSTOPOULOS, A., GALANI, E., GIKA, D., SOTOU, D., EVANGELOUPOU, A. AND DIMOPOULOS, M.A. **Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) in patients with solid tumors: effects of chemotherapy on the monoclonal protein.** *Ann. Hematol* (2004), 83, 658 – 60. (Original article)
29. ANAND, M., SINGH S. AND SHARMA O.D. **Value of immunofixation on serum in light-chain myeloma.** *Ann. Clin. Biochem.* (2004); 41, 501 – 504. (Original article)
30. ATTAELMANNAN, M. AND LEVINSON, S.S. **Understanding and identifying monoclonal gammopathies.** *Clin. Chem.* (2000), 46, 1230 – 38. (Original article)
31. BERGON, E., MIRAVALLES, E., BERGON, E., MIRANDA, I. AND BERGON, M. **The predictive power of serum kappa/lambda ratios for discrimination between monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma.** *Clin. Chem. Lab. Med.* (2005), 43, 32 -7. (Original article)
32. BOSSUYT, X., SCHIETTEKATTE, G., BOGAERTS, A. AND BLANCKAERT, N. **Serum protein electrophoresis by CZE 2000 clinical capillary electrophoresis system.** *Clin. Chem.* (1998), 44, 749 – 59. (Original article)
33. BRADWELL, A.R. **Serum free light chain measurements move to center stage.** *Clin. Chem.* (2005), 51, 805 – 7. (original article)
34. BRADWELL, A.R., CARR-SMITH H., MEAD, G.P., HARVEY, T.C. AND DRAYSON, M.T. **Serum test for the assessment of patients with Bence Jones myeloma.** *The Lancet* (2003), 361, 489 - 91. (Original article)
35. BRADWELL, A.R., CARR-SMITH H., MEAD, G.P., TANG, L.X., SHOWELL, P.J., DRAYSON, M.T. AND DREW, R. **Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine.** *Clin. Chem.* (2001), 47, 673 – 680. (Original article)
36. BROCKHURST, I., HARRIS, P.G. AND CHAPMAN, C.S. **Diagnosis and monitoring a case of light-chain deposition disease in the kidney using a new, sensitive immunoassay.** *Nephrol. Dial. Transplant.* (2005), 20, 1251 – 1253. (Case report)
37. COHEN, G., RUDNICKI, M., SCHMALDIENST, S. AND HÖRL, W.H. **Effect of dialysis on serum/plasma levels of free immunoglobulin light chains in end-stage renal disease patients.** *Nephrol. Dial. Transplant.* (2002), 17, 879 – 883. (Original article)

38. CORSO, A., ZAPPASODI, P., PASCUTTO, C., BOSONI, T., MANGIACAVALLI, S., LORENZI, A., RUSCONI, C. AND LAZZARINO, M. **Urinary proteins in multiple myeloma: correlation with clinical parameters and diagnostic implications.** *Ann. Hematol.* (2003), 82, 487 – 491. (Original article)
39. DRAYSON, M., TANG, L.X., DREW, R., MEAD, G.P., CARR-SMITH, H. AND BRADWELL, A.R. **Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma.** *Blood* (2001), 97, 2900 – 2902. (Original article)
40. FISCHER, C., ARNETH, B., KOEHLER, J., LOTZ, J. AND LACKNER, K.J. **Kappa free light chains in cerebrospinal fluid as markers of intrathecal immunoglobulin synthesis.** *Clin. Chem.* (2004), 50, 1809 – 1813. (Original article)
41. GRAZIANI, M.S. AND MERLINI, G. **Measurement of free light chains in urine.** Comment on Clin. Chem. (2001), 47, 673 – 80. *Clin. Chem.* (2001), 47, 2069 – 70. (Comment)
42. GREIPP, P.R., SAN MIGUEL, J., DURIE, B.G., CROWLEY, J.J., BARLOGIE, B., BLADE, J., BOCCADORO, M., CHILD, J.A., HAROUSSEAU, J.L., KYLE, R.A., LAHUERTA, J.J., LUDWIG, H., MORGAN, G., POWLES, R., SHIMIZU, K., SHUSTIK, C., SONNEVELD, P., TOSI, P., TURESSON, I. AND WESTIN, J. **International Staging System for Multiple Myeloma.** *J.Clin. Oncol.* (2005), 23, published ahead of print.
43. HERZUM, I., RENZ, H. AND WAHL, H.G. **Immunochemical quantification of free light chains in urine.** *Clin. Chem.* (2005), 51, 1033 – 1035. (Original article)
44. HOFMANN, W., GARBRECHT, M., BRADWELL, A.R. AND GUDER, W.G. **A new concept for detection of Bence Jones proteinuria in patients with monoclonal gammopathy.** *Clin. Lab.* (2004), 50, 181 – 5. (Original article)
45. KANG, S., SUH, J., LEE, H., YOON, H. AND LEE, W. **Clinical usefulness of free light chain concentration as tumor marker in multiple myeloma.** *Annals of Hematology* (2005), epub ahead of print. (Original article)
46. KATZMANN, J.A., ABRAHAM, R.S., DISPENZIERI, A., LUST, J.A. AND KYLE, R.A. **Diagnostic performance of quantitative κ and λ free light chain assays in clinical practice.** *Clin. Chem.* (2005), 51, 878 – 81. (Original article)
47. KATZMANN, J.A., CLARK, R.J., ABRAHAM, R.S., BRYANT, S., LYMP, J.F., BRADWELL, A.R. AND KYLE, R.A. **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 – 1444.
48. KLASSEN, I.S., KOCK-JANSEN, M. AND RAYMAKERS, R. **Free light chains in follow up of multiple myeloma.** *Ned. Tijdschr. Klin. Chem.* (2003), 28, 54. (Original article)
49. KYLE, R.A. **Diagnosis of multiple myeloma.** *Semin. Oncol.* (2002), 29, 2 – 4. (Original article)

50. KYLE, R.A., GERTZ, M.A., WITZIG, T.E., LUST, J.A., LACY, M.Q., DISPENZIERI, A., FONSECA, R., RAJKUMAR, V., OFFORD, J., LARSON, D.R., PLEVAK, M.E., THERNEU, T.M. AND GREIPP, P.R. **Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma.** *Mayo Clinic Proceedings* (2003), 78, 21 – 33. (Original article)
51. LACHMANN, H.J., GALLIMORE, R., GILLMORE, J.D., CARR-SMITH, H.D., BRADWELL, A.R., PEPYS, M.B. AND HAWKINS, P.N. **Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy.** *British Journal of Haematology* (2003), 122, 78 – 84. (Original article)
52. LE BRICON, T., BENGOUFA, D., BENLAKEHAL, M., BOUSQUET, B. AND ERLICH D. **Urinary free light chain analysis by the Freelite immunoassay: a preliminary study in multiple myeloma.** *Clin. Biochem.* (2002), 35, 565 – 7. (Original article)
53. LEVINSON, S.S. **An algorithmic approach using kappa/lambda ratios to improve the diagnostic accuracy of urine protein electrophoresis and to reduce the volume required for immunoelectrophoresis.** *Clin. Chim. Acta.* (1997), 262, 121 – 30. (Original article)
54. MARIËN, G., ORIS, E., BRADWELL, A.R., BLANCKAERT, N. AND BOSSUYT, X. **Detection of monoclonal proteins in sera by capillary electrophoresis and free light chain measurements.** *Clin. Chem.* (2002), 48, 1600 – 1601. (Original article)
55. MATSUDA, M., YAMADA, T., GONO, T., SHIMOJIMA, Y., ISHII, W., FUSHIMI, T., SAKASHITA, K., KOIKE, K. AND IKEDA, S. **Serum levels of free light chain before and after chemotherapy in primary systemic AL amyloidosis.** *Internal Medicine* (2005), 44, 428-433. (Original article)
56. MEAD, G.P., CARR-SMITH, H.D., DRAYSON, M.T., MORGAN, G.J., CHILD, J.A. AND BRADWELL, A.R. **Serum free light chains for monitoring multiple myeloma.** *British Journal of Haematology* (2004), 126, 348 – 354. (Original article)
57. MEAD, G.P., CARR-SMITH, H.D., DRAYSON, M.T., MORGAN, G.J. AND CHILD, J.A. **Response to: “serum free light chains for monitoring multiple myeloma”.** *British Journal of Haematology* (2005), 128, 406 – 407. (author reply to comment)
58. MEAD, G.P., CARR-SMITH, H.D., DRAYSON, M.T. AND BRADWELL, A.R. **Detection of Bence Jones myeloma and monitoring of myeloma chemotherapy using immunoassays specific for free immunoglobulin light chains.** *Clin. Lab.* (2003), 49, 25 – 27. (Original article)
59. MEAD, G.P., DRAYSON, M.T., CARR-SMITH, H.D. AND BRADWELL, A.R. **Measurement of immunoglobulin free light chains in serum.** Comment on “*Clin. Chem.* (2003), 49, 1252 – 57.” *Clin. Chem.* (2003), 49, 1957 – 58. (Comment)
60. NAKANO, T. AND NAGATA, A. **ELISAs for free human immunoglobulin light chains in serum: improvement of assay specificity by using two specific antibodies in a sandwich detection method.** *Journal of Immunological Methods* (2004), 293, 183 -189. (Original article)

61. NAKANO, T. AND NAGATA, A. **ELISAs for free light chains of human immunoglobulins using monoclonal antibodies: comparison of their specificity with available polyclonal antibodies.** *Journal of Immunological Methods* (2003), 275, 9 – 17. (Original article)
62. NAKANO, T., NAGATA, A. AND TAKAHASHI, H. **Ratio of urinary free immunoglobulin light chain kappa to lambda in the diagnosis of Bence Jones proteinuria.** *Clin. Chem. Lab. Med.* (2004), 42, 429 – 34. (Original article)
63. NELSON, M., BROWN, R.D., GIBSON, J. AND JOSHUA, D.E. **Measurement of free kappa and lambda chains in serum and the significance of their ratio in patients with multiple myeloma.** *British Journal of Haematology* (1992), 81, 223 – 30. (Original article)
64. RAJKUMAR, S.V, KYLE, R.A., THERNEAU, T.M., MELTON, L.J., BRADWELL, A.R., CLARK, R.J., LARSON, D.R., PLEVAK, M.F., DISPENZIERI, A. AND KATZMANN, J.A. **Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS).** *Blood* (2005), epub ahead of print. (Original article)
65. RAJKUMAR, S.V, KYLE, R.A., THERNEAU, T.M., CLARK, R.J., BRADWELL, A.R., MELTON, L.J., LARSON, D.R., PLEVAK, M.F. AND KATZMANN, J.A. **Presence of monoclonal free light chains in the serum predicts risk of progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance.** *British Journal of Haematology* (2004), 127, 308 – 310. (Original article)
66. REILLY, B.M., CLARKE, P. AND NIKOLINAKOS, P. **Easy to see but hard to find.** *N. Eng. J. Med.* (2003), 348; 1, 59 – 64. (Original article)
67. ROBERTS-THOMSON, P.J., NIKOLOUTSOPOULOS, T. AND SMITH A.J. **Paraproteins: a regional South Australian experience.** *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* (2002), 20, 187 – 95. (Original article)
68. SALOMO, M., GIMSING, P. AND NIELSEN, L.B. **Simple method for quantification of Bence Jones Proteins.** *Clin. Chem.* (2002), 48, 2202 – 2207. (Original article)
69. SINCLAIR, D., CRANFIELD, T. AND GANCZAKOWSKI, M. **Paraprotein and beta2-microglobulin analyses in multiple myeloma: do we need to monitor both?** *Clin. Lab.* (2003), 49, 129 – 134. (Original article)
70. TATE, T., MOLLEE, P. AND GILL, D. **Comment on “Serum free light chains for monitoring multiple myeloma” (British Journal of Haematology (2004), 126, 348 – 354).** *British Journal of Haematology* (2005), 128, 405 – 406. (Comment)
71. TATE, T., MOLLEE, P. AND GILL, D. **Author reply on “Measurement of immunoglobulin free light chains in serum” (Clin. Chem. (2003), 49, 1957 – 58.)** *Clin. Chem.* (2003), 49, 1958. (Author reply)
72. THE INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP. **Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the**

- International Myeloma Working Group.** *British Journal of Haematology* (2003), 121, 749 – 757. (Original article)
73. THELEN, M.H.M., VAN BEZU, J., KOK, A. AND SCHUTGENS, R.B.H. **Disclosure of hidden free light chains by immunosubstraction.** *Clin. Chem.* (2002), 11, 2044 – 45. (Original article)
74. VEGH, Z., OTTO, S. AND ECKHARDT, S. **Monoclonal free light chains in urine and their significance in clinical diagnostics: are they really tumor markers.** *J. Clin. Lab. Anal.* (1990), 4, 443 – 448. (Original article)
75. WAKASUGI, K., SASAKI, M., SUZUKI, M., AZUMA, N. AND NOBUTO, T. **Increased concentrations of free light chain lambda in sera from chronic hemodialysis patients.** *Biomater.Artif. Cells Immobilization Biotechnol.* (1991), 19, 97 – 109. (Original article)
76. WAKASUGI, K., SUZUKI, H., IMAI, A., KONISHI, S. AND KISHIOKA, H. **Immunoglobulin free light chain assay using latex agglutination.** *Int. J. Clin. Lab. Res.* (1995), 25, 211 – 5. (Original article)
77. WORLD HEALTH ORGANIZATION CLASSIFICATION OF TUMOURS. **Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues: Pathology and genetics.** Edited by Jaffe, E.S., Harris, N.L., Stein, H. and Vardiman, J.W. (2001) (Textbook)
78. **Bone marrow pathology** (third edition) by B. Bain, Clark, D., Lampert, I.A. and Wilkins B.S. (Textbook)
79. **Serum Free light chain analysis** by A.R. Bradwell, second edition

APPRAISAL

I. Heeft de bepaling van vrije lichte ketens in serum een diagnostische meerwaarde bij monoklonale gammopathie vergeleken met de conventionele technieken?

De diagnostische waarde van de bepaling van FLC in serum is niet eenduidig voor de verschillende types van plasmaceldyscrasieën. Daarom zal de plaats ervan voor een aantal plasmaceldyscrasieën afzonderlijk worden in vraag gesteld.

A. AL amyloïdose

Systemische amyloïdose is in feite een conformationele eiwitstoornis, geassocieerd met een klonale plasmacelexpansie. De depositie van monoklonale vrije lichte ketenfragmenten in een onoplosbare fibrillaire vorm resulteert in de aantasting van multiple organen. De diagnosestelling berust op multidisciplinaire bevindingen, waarbij naast histologisch en immunochemisch onderzoek, het documenteren van een plasmaceldyscrasie een centrale rol speelt ([2], [26], [33], [78], [79]).

Aangezien de aberrante plasmacelkloon meestal klein is, wordt het beenmergaspiraats vaak als normaal beoordeeld; soms wordt een lichte toename van het aantal plasmacellen waargenomen, maar vaak kan de clonaliteit ervan niet worden aangetoond. In 50% van de patiënten is SEE ontoereikend voor het detecteren van het M-proteïne, terwijl ook immunofixatie bij 20% van de patiënten onvoldoende gevoelig is ([2], [26], [51]).

BCSH guideline 2004 [2]: Niettegenstaande er in deze guideline op gewezen wordt dat de FLC-bepaling in serum geenszins specifiek is voor AL amyloïdose, werd ze wel opgenomen in de diagnoserichtlijn.

Abraham et al. [26] toonden in een retrospectieve studie waarin 95 AL amyloïdose patiënten werden geïncludeerd, aan dat de FLC-bepaling in serum een diagnostische gevoeligheid heeft van:

- 100% (40 op 40) bij patiënten met negatieve sIFE met anti-kappa & anti-lambda
 - 92% (34 op 37) bij patiënten met positieve sIFE
 - 67% (12 op 18) bij patiënten met zowel negatieve sIFE als uIFE
- Bij 4 van deze patiënten konden ook a.h.v. immunohistochemische kleuring geen cytoplasmatische FLC's worden aangetoond → herrekening: 86% (12 op 14)

Lachmann et al. [51] toonden in een AL amyloïdose-populatie van 262 patiënten aan dat de diagnostische sensitiviteit van de FLC-bepaling in serum 98% bedroeg (257 op 262), terwijl in 21% (55 op 262) van de gevallen noch immunofixatie (op serum en urine) noch elektroforese op serum en urine in staat was een monoklonaal proteïne te detecteren. Daarenboven kon in 26% (67 op 262) de aanwezigheid van een M-proteïne enkel a.h.v. IFE worden aangetoond.

Katzmann et al. [45] rapporteren aan de hand van een retrospectieve studie uitgevoerd op 110 onbehandelde AL amyloïdose patiënten volgende diagnostische sensitiviteiten:

| | |
|---|-----|
| - FLC κ/λ -ratio | 91% |
| - IFE serum | 69% |
| - IFE urine | 83% |
| - IFE serum & urine | 95% |
| - FLC κ/λ -ratio & IFE urine | 91% |
| - FLC κ/λ -ratio & IFE serum | 99% |
| - FLC κ/λ -ratio & IFE serum & IFE urine | 99% |

Zij vermelden tevens een diagnostische specificiteit van 100%, vermits geen van de 121 onderzochte niet-monoklonale gammopathie-patiënten een abnormaal resultaat vertoonde.

Mariën et al. [54] stelden aan de hand van een studie uitgevoerd op 54 patiënten, waarvan één AL amyloïdose patiënt, een abnormale FLC κ/λ -ratio vast bij deze patiënt, niettegenstaande een negatieve CZE en een normale totale κ/λ -serumratio.

Matsuda et al. [45] rapporteren op basis van een studie waarin 25 AL amyloïdose patiënten werden geïncludeerd, een verhoogde concentratie van de amyloïdogene FLC bij 24 (96%) van deze patiënten, terwijl bij 5 van hen IFE op serum en urine negatief was.

Besluit: *De FLC-bepaling in serum, hoewel niet specifiek voor AL amyloïdose, laat toe met grotere sensitiviteit primaire amyloïdose op te sporen, vergeleken met immunofixatie en serum eiwitelektroforese.*

B. Light Chain Multiple Myeloma (LCMM)

LCMM of Bence Jones myeloma wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van een overmaat vrije lichte ketens in serum en/of urine. IFE laat toe op een gevoelige manier vrije lichte ketens op te sporen in serum en urine, maar is slechts kwalitatief en blijkt, bij

sommige pauci-secretoire vormen toch nog onvoldoende sensitief. Ook bij kwantificering van de vrije lichte ketens in urine stuiten we op een aantal klinische en analytische beperkingen (zie clinical diagnostic scenario).

Bradwell et al. [34]: Uit een retrospectieve studie waarin 224 LCMM-patiënten werden geïncludeerd, bleek dat elk van deze patiënten bij diagnose een abnormale vrije lichte ketenconcentratie in serum vertoonde (diagnostische sensitiviteit = 100%). Zij stelden een slechts matige correlatie vast tussen FLC-waarden in serum en urine. De verschillen tussen beide zouden toe te schrijven zijn aan de metabolisatiecapaciteit van de nier en de grotere gevoeligheid van serumassays.

Abraham et al. [25] stelden in een retrospectieve studie op 28 LCMM-patiënten een abnormale vrije κ/λ -ratio in serum vast bij alle patiënten. Terwijl bij slechts drie van de negen κ -patiënten een M-piek in serum werd waargenomen, vertoonden acht van hen een verhoogde vrije κ -concentratie in serum. Alle 19 λ -patiënten vertoonden een verhoogde concentratie vrije λ -ketens, niettegenstaande slechts bij 13 onder hen een M-piek in serum kon worden waargenomen.

Nakano et al. [61], [62] stellen dat de assays voor bepaling van FLC in serum (inclusief de commerciële assay van “The Binding Site”) minder geschikt zijn voor een specifieke dosage van FLC dan deze op urine, vermits ze allen een aanzienlijke kruisreactiviteit vertonen met de intacte immunoglobulines waardoor ze de FLC-concentratie in serum overschatten.

Alyanakian et al. [27] toonden bij 4 LCMM-patiënten een goede correlatie aan van de gemeten FLC in serum met de densitometrisch bepaalde monoklonale lichte-ketenconcentratie in een 24-uursurinecollectie.

Hofmann et al. [44] rapporteren aan de hand van een retrospectieve studie op 34 LCMM-patiënten (gediagnosticeerd op basis van een positieve IFE op urine) dat bij bepaling van FLC in serum 33 van de 34 patiënten (= 97%) een abnormale FLC κ/λ -ratio vertoonde, terwijl slechts bij 29 onder hen (= 85%) een abnormale FLC κ/λ -ratio in urine werd vastgesteld. 88% van de patiënten vertoonde een abnormale totale κ/λ -ratio in urine.

Besluit: De diagnostische sensitiviteit van de bepaling van FLC in serum voor LCMM ligt tussen 90 en 100%, wat hoger is dan deze in urine.

C. Non-secretory Multiple Myeloma (NSMM)

NSMM (ongeveer drie percent van alle plasmacelmyeloma's) wordt gekarakteriseerd door de afwezigheid van een monoklonaal proteïne in serum of urine (op basis van een negatieve IFE [69]), waardoor de diagnose gemakkelijk kan gemist worden. Hierbij gaat het meestal (ongeveer 85% van de gevallen) om een vorm van MM waarbij de plasmacellen wel immunoglobulinen synthetiseren, maar niet in staat zijn ze te secreteren. De cytoplasmatische monoklonale immunoglobulinen kunnen wel worden aangetoond aan de hand van immunohistochemische kleuringen op botboorbiopsies. De overige 15% zijn echter zogenaamde “non-producers”, waarbij ook in de plasmacellen geen monoklonale immunoglobulinen kunnen worden gedetecteerd.

De diagnose van NSMM berust bijgevolg op klinische bevindingen en aanwezigheid van plasmocytenhaarden in beenmerg en botboorbiopsies.

Drayson et al. [39] stelden aan de hand van een retrospectieve studie waarin 28 NSMM-patiënten werden geïncludeerd, vast dat:

- 19 van de 28 patiënten (= 68%) een duidelijk verhoogde concentratie van één van de FLC's hadden en bijgevolg een abnormale κ/λ -ratio vertoonden, niettegenstaande zij bij diagnose een negatieve elektroforese en IFE op serum en urine vertoonden.
- bij 4 van de 28 patiënten (= 14%) er een suppressie van één van beide FLC's voorkwam met weinig argumenten voor clonaliteit op basis van de FLC-ratio.
- bij 5 van de 28 patiënten (= 18%) een normale of borderline FLC-ratio voorkwam. Vermoedelijk behoorden een deel van deze patiënten tot de groep van de echte "non-producers" (er werd echter geen immunohistochemisch onderzoek uitgevoerd om dit te bevestigen).

Katzmann et al. [45] constateerden bij alle vijf niet-behandelde NSMM-patiënten een abnormale FLC κ/λ -ratio.

Besluit: *De productie van monoklonale immunoglobulinen door de tumorale plasmacellen is zeer inefficiënt en subtiel bij NSMM, waardoor de SEE, IFE en urineonderzoek (de productie is meestal te gering om de renale reabsorptiecapaciteit te overschrijden) over onvoldoende gevoeligheid beschikken om deze gevallen te diagnosticeren. Bepaling van vrije lichte ketens in serum laat toe om met hogere sensitiviteit deze patiënten te detecteren.*

D. Intact Immunoglobulin Multiple Myeloma

Guideline [1] stelt dat de laboratoriumdiagnose van multiple myeloma een eiwitelektroforese van serum en urine, inclusief IFE moet omvatten. Er dient eveneens een kwantificering van het paraproteïne in serum, evenals van de lichte ketenexcretie in urine te worden uitgevoerd, waarbij echter geen methode wordt gespecificeerd.

Mead et al. [56] rapporteren aan de hand van een studie, waarin 493 IIMM-patiënten (geïdentificeerd op basis van serum eiwitelektroforese) werden geïncludeerd, dat 437 onder hen een verhoogde FLC-concentratie in serum (=89%) vertoonden, terwijl 472 onder hen (=96%) een abnormale FLC serumratio hadden.

Er bleek geen correlatie te zijn tussen de FLC-concentraties en de concentraties van het intact immunoglobuline in serum, waaruit blijkt dat de productie van lichte en zware ketens door de myeloma tumorcellen onafhankelijk van elkaar gebeurt.

Attaelmannan et al. [30] stellen dat CZE evenzeer als (of zelfs beter dan) hoge resolutie agarose elektroforese in staat is om M-pieken te detecteren. IFE verdient aanbeveling voor het opsporen van laaggeconcentreerde M-proteïnen (omwille van de lage detectielimiet), evenals voor de identificatie van de paraproteïnen.

Besluit: *Immunofixatie en CZE zijn geschikt om met grote sensitiviteit intacte paraproteïnen op te sporen. Bepaling van vrije lichte ketens in serum heeft een lagere gevoeligheid dan deze conventionele methoden.*

II. Wat is de plaats van deze bepaling in de follow-up van behandeling van patiënten met monoklonale gammopathie? Levert het resultaat bijkomende prognostische informatie?

A. AL amyloïdose

Karakteristiek voor AL amyloïdose is dat de onderliggende clonale plasmacelexpansie zeer discreet is, waardoor de resulterende paraproteïnen zeer moeilijk te kwantificeren zijn. Follow-up aan de hand van beenmergaspiraten is eerder misleidend omwille van het subtiele karakter van de ziekte en het daaraan inherente risico op sampling error.

Het inschatten van het therapieantwoord en het onderkennen van recidief berust daarom grotendeels op het opvolgen van amyloïdgerelateerde orgaandysfunctie (leverenzymes, totale proteïnurie, ventrikelwanddikte op EKG) en op de graad van amyloïd depositie in de organen (SAP scanning).

BCSH guideline [2]: Serum FLC-bepaling blijkt de meest efficiënte methode voor de opvolging van de clonaliteit in AL amyloïdose. Het gebruik van de bepaling van vrije lichte ketens in serum wordt sterk aangemoedigd.

Lachmann et al. [51] toonden in een retrospectieve studie, waarin 137 patiënten werden opgevolgd gedurende 6 maanden na chemotherapie, een duidelijke relatie aan tussen de serum FLC-concentratie en de klinische outcome. Een 50-percentige reductie van de abnormale FLC-concentratie bleek duidelijk gecorreleerd met regressie van het amyloïd en een verhoogde overlevingskans. Slechts 53% van de patiënten, bij wie FLC-concentraties werden opgevolgd, had een kwantificeerbaar paraproteïne in serum of urine (a.h.v. eiwitelektroforese).

Abraham et al. [26] stelden a.h.v. een retrospectieve studie waarin pre- en post-ScTx-stalen van 34 patiënten werden onderzocht vast dat:

- in 13 van de 34 patiënten (38%) de daling van FLC-concentraties in serum sneller optrad dan die van het serum M-proteïne en/of urinair totaal eiwitgehalte
- in 8 van de 34 patiënten (24%) serum FLC-concentraties de enige merker was voor hematologische respons
- bij 10 van de 34 patiënten (29%) er een goede correlatie bestond tussen de veranderingen van FLC-concentraties in serum en deze in het urinaire M-proteïne

Matsuda et al. [45] vergeleken bij 13 AL amyloïdose-patiënten de resultaten van immunofixatie uitgevoerd op serum en urine met deze van de FLC-bepaling in serum gedurende follow-up van therapie (VAD al dan niet gevolgd door auto-PBScTx). Zij stelden bij 5 van deze patiënten (met initieel verhoogde FLC-concentratie) zowel een normalisatie van de FLC-parameters als een negativeren van de IFE vast, bij 3 andere patiënten bleven zowel FLC-parameters als IFE gestoord na chemotherapie. Bij 4 patiënten werd o.i.v. de therapie, een afname van de FLC-concentratie waargenomen, doch geen normalisatie, terwijl het paraproteïne niet meer detecteerbaar was d.m.v. IFE (noch in serum noch in urine).

Anderzijds vertoonde één patiënt gedurende het hele klinische verloop geen abnormale FLC-concentraties of ratio, niettegenstaande IFE duidelijk een paraproteïne visualiseerde.

Besluit: *Er is een duidelijke rol weggelegd voor de bepaling van vrije lichte ketens in serum voor de follow-up van patiënten met AL amyloïdose. Conventionele*

technieken zijn immers ontoereikend voor wat de kwantificering van het paraproteïne betreft. Concentraties van FLC in serum vertonen een goede correlatie met de respons op therapie en zijn prognostisch voor de outcome.

B. Light Chain Multiple Myeloma (LCMM)

Bradwell et al. [34] stelden bij de opvolging van 82 patiënten onder chemotherapie bij 81 (99%) onder hen een daling van de FLC-concentraties in serum vast.

Mead et al. [58] rapporteren dat bij vijf gevallen van LCMM FLC-concentraties in serum, zowel als in urine daalden gedurende het verloop van de chemotherapie en dat deze in urine sneller niet meer detecteerbaar werden.

Alyanakian et al. [27] stelden bij 4 LCMM-patiënten vast dat het verloop van de serum FLC-concentraties gedurende de opvolging van chemotherapie in overeenstemming was met de klinische bevindingen.

Abraham et al. [25] stelden bij de opvolging van één κ - en één λ -LCMM-patiënt vast dat de veranderingen in serum FLC-concentraties zich eveneens reflecteerden in de 24-uursurine M-piek, niettegenstaande de absolute waarden niet vergelijkbaar waren.

Besluit: *De bepaling van vrije lichte ketens in serum laat een gevoeliger en meer accurate follow-up van het lichte ketenparaproteïne toe en wordt in tegenstelling tot de urinaire M-proteïne-concentratie minder beïnvloed door de nierfunctie.*

C. Non-secretory Multiple Myeloma (NSMM)

Drayson et al. [39] rapporteren dat de veranderingen in FLC-concentraties, waargenomen bij follow-up van 6 NSMM-patiënten, het klinisch ziekteverloop (geëvalueerd aan de hand van klinische symptomen en botboorbiopsies) reflecteerden. Zij stelden immers toegenomen FLC-concentraties vast bij presentatie, een afname van de concentraties gedurende de plateau fase en opnieuw een stijging bij relapse.

Katzmann et al. [45] stelden bij alle zes NSMM-patiënten die een stamceltransplantatie hadden ondergaan (vijf onder hen waren in complete remissie), een normale κ/λ -ratio vast.

Besluit: *Aangezien de geproduceerde hoeveelheid monoklonale immunoglobulinen onder de detectielimiet van SEE ligt en tevens onder de drempelwaarde voor excretie in de urine, beschikken we tot op heden niet over een kwantitatieve methode voor follow-up van de paraproteïnemie. Bepaling van FLC in serum laat toe NSMM-patiënten nauwer op te volgen en kan hen mogelijks van repetitieve beenmergpuncties en botboorbiopsies sparen.*

D. Intact Immunoglobulin Multiple Myeloma (IIMM)

Omwille van het kortere halfleven van lichte ketens lijkt de bepaling van FLC in serum, louter theoretisch gezien, superieur aan deze van het intacte immunoglobuline, voor het opvolgen van therapie. FLC's hebben immers een halfwaardetijd in serum van 2 tot 6 uur,

terwijl die van IgG 20 à 25 dagen bedraagt, die van IgA 6 dagen en die van IgD en IgE respectievelijk 3 en 2 dagen.

Attaelmannan et al. [30] stellen dat de M-proteïneconcentratie best kan worden afgeleid uit de densitometrische scanning van hoge resolutie-serumelektroforese; immunologische bepalingmethoden zijn minder geschikt omwille van de bijzondere immunologische karakteristieken van paraproteïnen (onvolledige en beperkte antigene determinanten, waardoor variabele reactiviteit met de gebruikte antisera). CZE is hiertoe uitermate geschikt.

Keren et al. [17] stellen dat densitometrische scanning van de monoklonale M-piek de voorkeursmethode is voor monitoring van een patiënt met een M-piek in het elektroferogram.

Guideline [6]:

- Het M-proteïne dient opgevolgd te worden aan de hand van densitometrie uit het elektroferogram, tenzij het gaat om een laaggeconcentreerd M-proteïne, verscholen achter andere proteïnen.
- Opvolging van de M-proteïneconcentratie bij MM-patiënten dient maandelijks tot tweemaandelijks te gebeuren gedurende het verloop van de therapie.

Mead et al. [58] rapporteren bij de vier patiënten met intact IgG-paraproteïne opgenomen in hun studie een snellere daling van de vrije lichte ketens in serum dan van het IgG onder invloed van chemotherapie.

Mead et al. [56] rapporteren volgende bevindingen a.h.v. een studie waarin 17 IIMM-patiënten werden opgevolgd gedurende chemotherapie:

- na start van de chemotherapie vertoonden alle patiënten een daling van de FLC-concentratie in serum, van de M-piek en van de totale immunoglobulineconcentratie.
- De daling was bij elk van de patiënten meer uitgesproken in de serum FLC-concentraties, maar verliep er wel parallel mee.
- de reductie van de FLC-concentraties o.i.v. therapie was gemiddeld 219-voudig, terwijl deze in de intacte immunoglobulineconcentraties gemiddeld slechts 14.6-voudig was.
- Bij relapse bleken de concentraties van FLC en van het intacte immunoglobuline gelijktijdig te stijgen.

Tate et al. [70] stelden bij de opvolging van 11 IIMM patiënten na autologe stamceltransplantatie, vast dat 4 van hen bij herhal persisterend normale FLC-concentraties en ratio's in serum vertoonden, ondanks gestegen paraproteïneconcentraties in serum en duidelijk toegenomen plasmocytose in beenmerg. Bij twee andere patiënten ging de stijging van de M-piekconcentratie de stijging in FLC-concentratie vooraf. Kortom bij 55% (6/11) van de bestudeerde IIMM-patiënten liet de FLC-concentratie in serum niet toe ziekteherhal te voorspellen.

Mead et al. [59]: Aangezien bij IIMM de productie van zware en lichte ketens meestal gelijktijdig optreedt bij relapse, beperkt de meerwaarde van de FLC-concentratie in serum, als vroegtijdige merker voor herhal, zich tot de volgende gevallen:

- De tumor produceert zeer grote hoeveelheden vrije lichte ketens en slechts kleine hoeveelheden van het intacte immunoglobuline.

- Bij herval vertonen de tumorale cellen een gewijzigd productieprofiel waardoor uitsluitend vrije lichte ketens worden gesynthetiseerd (“light chain breakthrough”).
- Herval treedt op zeer snel na therapieantwoord, waardoor de concentratie van het intacte paraproteïne nog daalt (o.w.v. het langere halfleven) en de feitelijke stijging maskeert.

Besluit: *De FLC-concentratie in serum is potentieel een geschikte merker voor de opvolging van therapie, die omwille van het kortere halfleven een meer “real-time” beeld geeft van respons op therapie. Momenteel zijn er echter nog onvoldoende publicaties die het nut van de bepaling bij IIMM en het effect op het therapiebeleid aantonen.*

E. Monoklonale gammopathie of undetermined significance (MGUS)

MGUS is een premaligne conditie geassocieerd met progressie naar multiple myeloma of een verwante plasmaceldyscrasie à rato van 1% per jaar. Aangezien het risico op progressie zelfs na 25-35 jaar niet afneemt, is levenslange follow-up vereist voor alle patiënten gediagnosticeerd met MGUS. Gezien de potentiële nevenwerkingen van profylactische therapie en de duur van de behandeling, komen enkel patiënten die hoog risico lopen op progressie, in aanmerking voor deze preventieve therapieën.

In dit opzicht is het belangrijk de risicofactoren te kennen die aanleiding geven tot een evolutieve ziekte. Tot op heden werden er slechts twee predictieve factoren geïdentificeerd, namelijk de concentratie en het type van het M-proteïne evenals de plasmocytose in beenmerg.

Rajkumar et al. ([64], [65]) toonden in een studie waarin 47 MGUS-patiënten met progressieve ziekte en 50 MGUS-patiënten zonder argumenten voor progressie werden betrokken, aan dat de aanwezigheid van een abnormale FLC serumratio gecorreleerd is met een 2.5 maal hoger risico op progressie. Een abnormale vrije κ/λ -serumratio bleek een onafhankelijke risicofactor voor evolutie naar MM of verwante plasmaceldyscrasie.

Bergon et al. [31] stellen aan de hand van een retrospectieve studie uitgevoerd op 145 patiënten (MGUS en MM) dat de aanwezigheid van een M-proteïne (IgG-type <35g/l of IgA-type <20 g/l) met een FLC kappa/lambda ratio tussen 0.6 en 4.2, de à posteriori probabiliteit voor MGUS bij asymptomatische patiënten van 0.6 naar 0.96 verhoogt.

III. Kritische review

1. Analytische performantie: pre-analytische en analytische beschouwingen

- ***Pre-analytische beschouwingen***

Staaltype/staalbewaring:

Serum of lithium-heparineplasma

Resultaten bekomen op serum zijn niet significant verschillend van deze op lithium-heparineplasma ([23],[79]). Lipemische en/of hemolytische stalen komen niet in aanmerking voor de analyse.

Stalen kunnen tot vier weken bewaard worden bij 2 tot 8°C; langdurige bewaring (jaren) is mogelijk bij -20°C.

Biologische variabiliteit:

Tot op heden zijn hieromtrent in de literatuur weinig gegevens beschikbaar: Katzmann *et al.* [47] rapporteren hogere FLC-serumconcentraties met toenemende leeftijd, waarschijnlijk te wijten aan een achteruitgang van de nierfunctie. Zij stellen eveneens vast dat FLC-concentraties niet geslachtsdependent zijn.

De intra-individuele variabiliteit blijkt minimaal te zijn [23].

Cohen *et al.* [37] toonden aan dat hemodialyse de FLC-concentraties in serum beïnvloedt, maar geen aanleiding geeft tot normalisatie van verhoogde FLC-concentraties bij ESRD-patiënten.

Verhoogde FLC-serumconcentraties komen ook voor bij nierinsufficiëntie en pathologische condities gepaard gaand met toegenomen immunoglobulinesynthese zoals auto-immuunziekten, chronische inflammatoire aandoeningen (vb. sarcoidose) ([23], [12], [35]).

➤ *Analytische beschouwingen*

De assay voor bepaling van FLC in serum wordt tot op heden slechts door één producent (The Binding site) op de markt gebracht. Deze werd gecommercialiseerd onder de naam “Freelite” en wordt in België verdeeld door de firma Biomedical Diagnostics. Freelite™ draagt een CE-label.

Freelite™ is een niet-competitieve latex-enhanced immuno-assay die geschikt is voor gebruik op de meest courante turbidimetrische/nefelometrische immuno-analysers. Aangezien men in het laboratorium van UZ Leuven beschikt over een IMMAGE® nefelometer (Beckman Coulter), zal ik mij bij de bespreking van de analytische aspecten beperken tot deze analyser.

Traceerbaarheid:

Er is geen internationale standaard beschikbaar.

Reproduceerbaarheid (bijsluiter):

| | Free κ | Free λ |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|
| Within-run precisie (%) | 2.48 (18.30 mg/l) | 6.41 (31.83 mg/l) |
| | 3.41 (27.11 mg/l) | 4.08 (46.79 mg/l) |
| | 2.01 (57.11 mg/l) | 2.40 (98.78 mg/l) |
| Between-run precisie (%) | 12.47 (20.09 mg/l) | 6.74 (33.85 mg/l) |
| | 7.23 (27.50 mg/l) | 9.39 (64.52 mg/l) |
| | 6.42 (57.59 mg/l) | 2.86 (101.62 mg/l) |

Analytische range (bijsluiter): (bij dilutie 1/10)

| Free κ (mg/l) | Free λ (mg/l) |
|--------------------------|--------------------------|
| 6-180 | 8-270 |

Referentiewaarden (bijsluiter):

| | |
|---|------------|
| Free κ (mg/l) (95% range) | 3.30-19.40 |
| Free λ (mg/l) (95% range) | 5.71-26.30 |
| Free κ /Free λ (100% range) | 0.26-1.65 |

Accuraatheid:

Deze bepaling stelt soms problemen wat accuraatheid betreft: de unieke antigene structuur van het monoklonale proteïne maakt dat deze een variabele reactiviteit vertonen met het gebruikte antiserum tengevolge van structurele verschillen tussen de monoklonale vrije kappa- & lambdaketen en de polyclonale (gebruikt als antigeen en calibrant) [79].

Lineariteit:

De problemen van non-lineariteit die zich potentieel stellen bij deze analyse [79] zijn te wijten aan:

- kruisreactiviteit met intacte immunoglobulinen: deze zou echter kleiner zijn dan 1/5000 ([61], [62], [79])
- niet-specifieke interferentie (hemolyse, lipemie)
- antiserumbias t.o.v. bepaalde vormen van vrije lichte ketens

Time to first result:

Zowel voor de bepaling van de vrije kappa- als lambdaketen bedraagt deze 10 minuten.

Opmerkingen:

- “*Cuvette fogging*” is een belangrijke storende factor bij deze analyse, immers de latexpartikels bevuilden sterk de herbruikbare cuvetten, waardoor een grondige spoelbeurt is vereist. De vraag stelt zich of deze analyse hierdoor niet interfereert met andere routinebepalingen die gelijktijdig op hetzelfde staal zouden worden uitgevoerd.
- De concentratierange van FLC die voorkomt bij monoklonale gammopathieën is vele malen groter dan de analytische range. Dit maakt dat *voor het bekomen van één enkel meetresultaat vaak meerdere manuele diluties* dienen te worden gemaakt.

2. Klinische / therapeutische impact

Prognostische factor bij MGUS:

Indien het vaststellen van een abnormale FLC κ/λ -serumratio een onafhankelijke risicofactor is voor progressieve ziekte, kan op basis van een risicostratificatie, waarin naast FLC-bepaling in serum tevens de beenmergplasmocytose en de aard en de kwantiteit van het paraproteïne betrokken zijn, een indeling van de patiënten gebeuren. Bij patiënten die tot de “low-risk”-groep behoren, is een minder frequente

follow-up gerechtvaardigd, terwijl de “high-risk”-patiënten nauwlettend moeten worden opgevolgd en voor eventuele profylaxe in aanmerking komen.

Opvolging van therapie:

Indien de FLC-serumconcentratie een meer “real time” weerspiegeling is van de tumorale massa en van de respons op therapie, kan op basis van het verloop van deze concentraties sneller op de bal gespeeld worden wanneer blijkt dat de gestarte therapie niet de verhoopde respons geeft. Zowel de therapiekeuze als de therapieduur kan worden gewijzigd o.i.v. de FLC-serumconcentraties.

Door het beschikken over een adequate merker voor follow-up kan de patiënt tevens van een eventuele beenmergpunctie gespaard blijven, hoewel voor de opvolging van patiënten met een plasmaceldyscrasie in UZ Leuven het aantal beenmergpuncties dat wordt uitgevoerd minimaal is. Naast een beenmergpunctie bij diagnose, wordt meestal enkel nog een punctie uitgevoerd ter bevestiging van complete remissie zoals in een aantal studieprotocollen wordt voorgeschreven.

Vooraf voor die vormen van monoklonale gammopathie waarvoor we tot op heden niet over een adequate methode voor follow-up van het paraproteïne beschikken (LCMM, NSMM en AL amyloïdose) laat de bepaling van vrije lichte ketens in serum een beter patiëntmanagement toe.

3. Kostenimpact

Reële productiekost

- Consumable cost / test = €9.77
- Task unit + logistics cost / test = €0.97
- Total supporting cost / test = €2.76
- Dit komt neer op een totaal kost per test van €13.50, berekend op basis van een 130-tal aanvragen voor bepaling van beide vrije lichte ketens per jaar, wekelijks uitgevoerd in batch.

Nomenclatuur

Tot op heden werd de bepaling van vrije lichte ketens in serum nog niet opgenomen in de nomenclatuurregels; er wordt bijgevolg geen terugbetaling door het RIZIV voorzien. Er werd echter een gemotiveerd voorstel tot opname in de nomenclatuur ingediend voor monoklonale gammopathieën van het type AL amyloïdose, LCMM en NSMM.

COMMENTS

- Indien de bepaling van vrije lichte ketens in serum zou worden aangeboden in UZ Leuven voor de selecte pathologieën type AL amyloïdose, LCMM en NSMM, dient te worden overwogen of de analyse door een extern laboratorium kan worden uitgevoerd. Bij schatting van het toekomstige aantal aanvragen voor deze bepaling, ervan uitgaande dat men zich rigoureus houdt aan de gevallen van AL amyloïdose, LCMM en NSMM, worden jaarlijks een 150-tal bepalingen verwacht. Hematologen verwachten een turn around time van maximaal 10 dagen. Deze analyse is technisch

zeer omslachtig en tijdrovend, tevens wordt de analytische performantie van deze analyse, uitgevoerd op de IMMAGE nefelometer, nog in vraag gesteld.

- Welke plaats krijgt de FLC-bepaling in serum wanneer ze wordt opgenomen in ons huidig algoritme?
Aangezien CZE op serum bij AL amyloïdose, LCMM en NSMM meestal geen duidelijke M-piek visualiseert en geen adequate kwantificering toelaat, wordt bij deze patiënten volgens de huidige teststrategie een bepaling van de totale (vrije & gebonden) κ - en λ -ketens uitgevoerd. (zie bijlage 3). De FLC-bepaling in serum is voor deze indicaties meer aangewezen en dient dan de bepaling van de totale lichte ketens in serum te vervangen.

TO DO/ACTIONS

- 1) Aanpassing van het aanvraagformulier:
De verschillende laboratoriumanalyses die schuil gaan achter de drie aanvraagmodaliteiten dienen verduidelijkt te worden op het aanvraagformulier. Niettegenstaande deze specificering beschikbaar is via intranet, zijn een groot aantal dubbele aanvragen en misverstanden het gevolg van onduidelijkheid omtrent de analyses vevat in het algoritme.
- 2) Omtrent de meerwaarde van de bepaling van vrije lichte ketens in de follow-up van multiple myeloom zijn nog geen doorslaggevende studieresultaten gepubliceerd. De bepaling van vrije lichte ketens in serum werd ook nog niet in de richtlijnen opgenomen. Resultaten van een follow-up-studie uitgevoerd op een beperkte populatie van multiple myeloompatiënten (in UZ Leuven) tonen dat het zeker de moeite loont om de prognostische waarde van de bepaling bij deze patiënten grondig uit te spitten. Nieuwe publicaties hieromtrent dienen nauwgezet opgevolgd te worden.

ATTACHMENTS

Bijlage 1: Indicaties voor gericht onderzoek naar aanwezigheid van een M-proteïne [4]

- A. *Klinische symptomen die aanleiding zijn voor onderzoek naar de aanwezigheid van een paraproteïne:***
- onverklaarde ernstige vermoeidheid
 - rugpijn
 - spontaan optredende fracturen
 - recidiverende infecties
 - hyperviscositeitsklachten
- B. *Klinische bevindingen / diagnoses die aanleiding vormen voor verder onderzoek naar de aanwezigheid van een M-proteïne:***
- B-celmyeloproliferatieve aandoeningen
 - immunodeficiënties
 - osteoporose
 - nierinsufficiëntie
 - nefrotisch syndroom
 - polyneuropathie

- amyloidosis

C. *Laboratoriumbevindingen die verder onderzoek naar de aanwezigheid van een M-proteïne noodzakelijk maken*

- verhoogde BSE zonder ontstekingsverschijnselen of aanwijzingen voor infecties
- onbegrepen normocytair, normochrome anemie
- hypercalciëmie
- hoog totaal eiwit
- hypogammaglobulinemie
- onverklaarde proteïnurie

Bijlage 2a: Diagnostische criteria voor plasmacell myeloma [72]

The diagnosis of myeloma requires a minimum of one major and one minor criteria or three minor criteria which must include (1) and (2). These criteria must be manifest in a symptomatic patient with progressive disease.

A. Major criteria

- marrow plasmacytosis (>30%)
- plasmacytoma on biopsy
- M-component:
serum: IgG>3.5 g/dl, IgA>2g/dl
urine: >1g/24 hr of Bence Jones protein

B. Minor criteria

1. marrow plasmacytosis (10 – 30%)
2. M-component: present but less than above
3. lytic bone lesions
4. reduced normal immunoglobulins (<50% normal):
IgG<600 mg/dl, IgA<100 mg/dl, IgM<50 mg/dl

Bijlage 2b: Diagnostische criteria voor MGUS, indolent en smoldering myeloma [72]

A. MGUS:

- M-component present, but less than myeloma levels
- marrow plasmacytosis <10%
- no lytic bone lesions
- no myeloma-related symptoms

B. Smoldering Myeloma: same as MGUS except:

- serum M-component at myeloma levels
- marrow plasmacytosis 10-30%

C. Indolent myeloma: same as myeloma except:

- M-component: IgG<7g/dl, IgA<5g/dl
- rare bone lesions (≤3 lytic lesions), without compression fractures
- normal haemoglobin, serum calcium and creatinine

| |
|-----------------|
| - no infections |
|-----------------|

Bijlage 3: Uitgevoerde laboratoriumanalyses in functie van de vraagstelling
(beschikbaar via UZ Leuven intranet)

OPSPOREN/IDENTIFICATIE VAN PARAPROTEINE

| Serum | Urine |
|---|--|
| totaal eiwit (s-TE) | totaal eiwit (u-TE) |
| capillaire zone elektroforese (CZE) met kwantificering van M-piek indien aanwezig | |
| immunofixatie (s-IF) | immunofixatie (u-IF) |
| bij positief resultaat voor s-IF wordt nefelometrische bepaling uitgevoerd van: * IgG, IgA, IgM * kappa, lambda bij light chain disease * IgD bij IgD paraproteine | bij positief resultaat voor u-IF: 24-uur urine collecte wordt gevraagd voor nefelometrische bepaling van kappa en lambda lichte ketens. |

OPVOLGING VAN PARAPROTEINE

| Serum | Urine (steeds 24u collecte) |
|---|--|
| totaal eiwit (s-TE) | totaal eiwit (u-TE) + creatinine |
| capillaire zone elektroforese (CZE) met kwantificering van M-piek indien aanwezig | |
| * immunofixatie (s-IF) wordt uitgevoerd ingeval van onduidelijke M-piek op CZE | nefelometrische bepaling kappa en lambda lichte ketens op staal afkomstig van 24-uur urine collecte. |

RE-EVALUATIE VAN (GEKEND) PARAPROTEINE

| Serum | Urine (steeds 24u collecte) |
|--|--|
| totaal eiwit (s-TE) | totaal eiwit (u-TE)+ creatinine |
| capillaire zone elektroforese (CZE) met kwantificering van M-piek indien aanwezig | |
| immunofixatie (s-IF) | immunofixatie (u-IF) |
| nefelometrische bepaling van : * IgG, IgA, IgM * kappa, lambda bij light chain disease * IgD bij IgD paraproteine | nefelometrische bepaling kappa en lambda lichte ketens op staal afkomstig van 24-uur urine collecte. |