

Vrije lichte ketens in serum sVLK

Joke Boonstra
Corrie de Kat Angelino
Janneke Ruinemans-Koerts
Ina Klasen

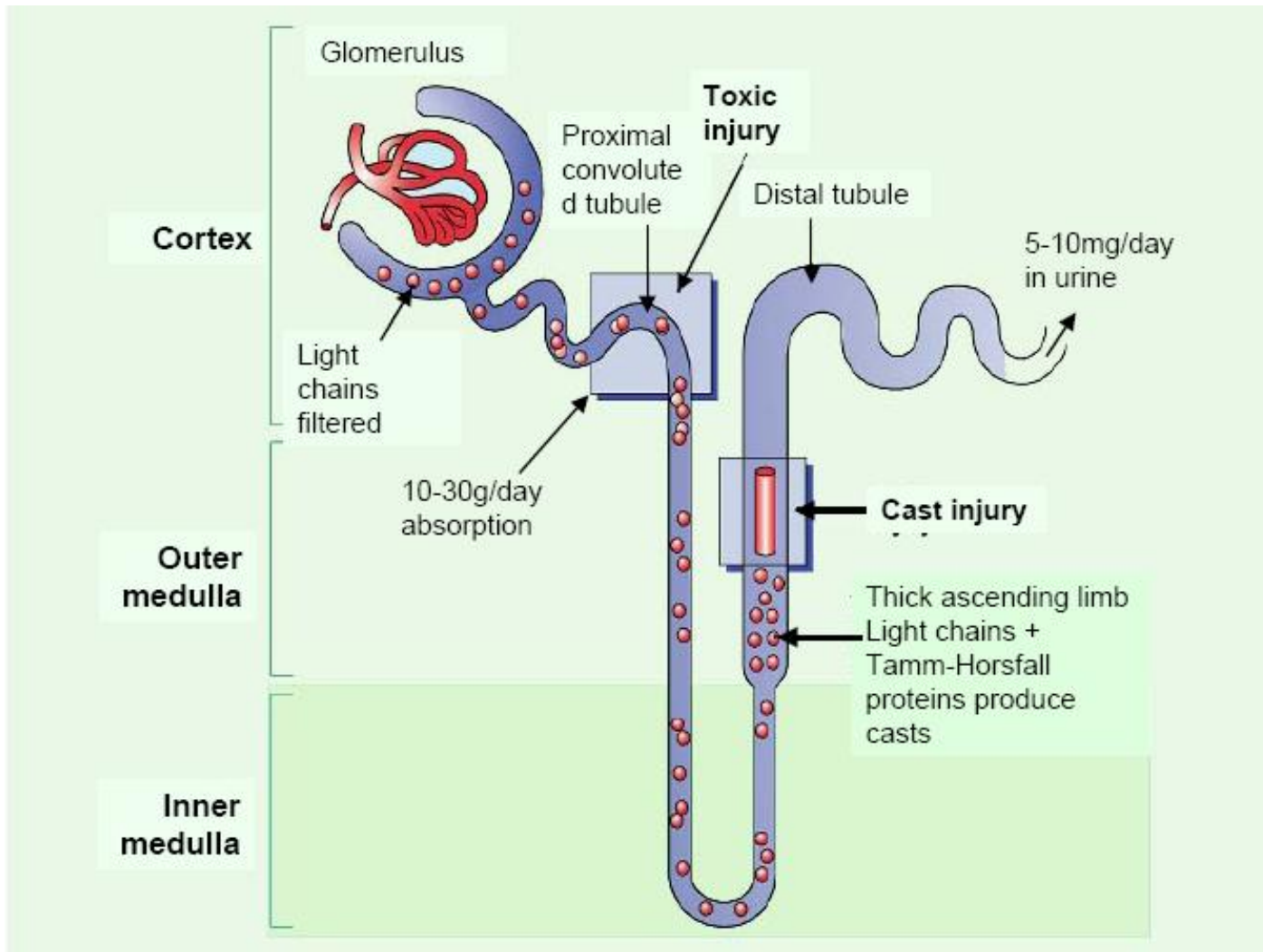
13 oktober 2009





Inhoud

- Wat zijn vrije lichte ketens(-bepalingen)
- Toepassingsgebieden VLK bepalingen in serum (sVLK)
- Voor- en nadelen van sVLK
- Urine nog nodig?
- Conclusie



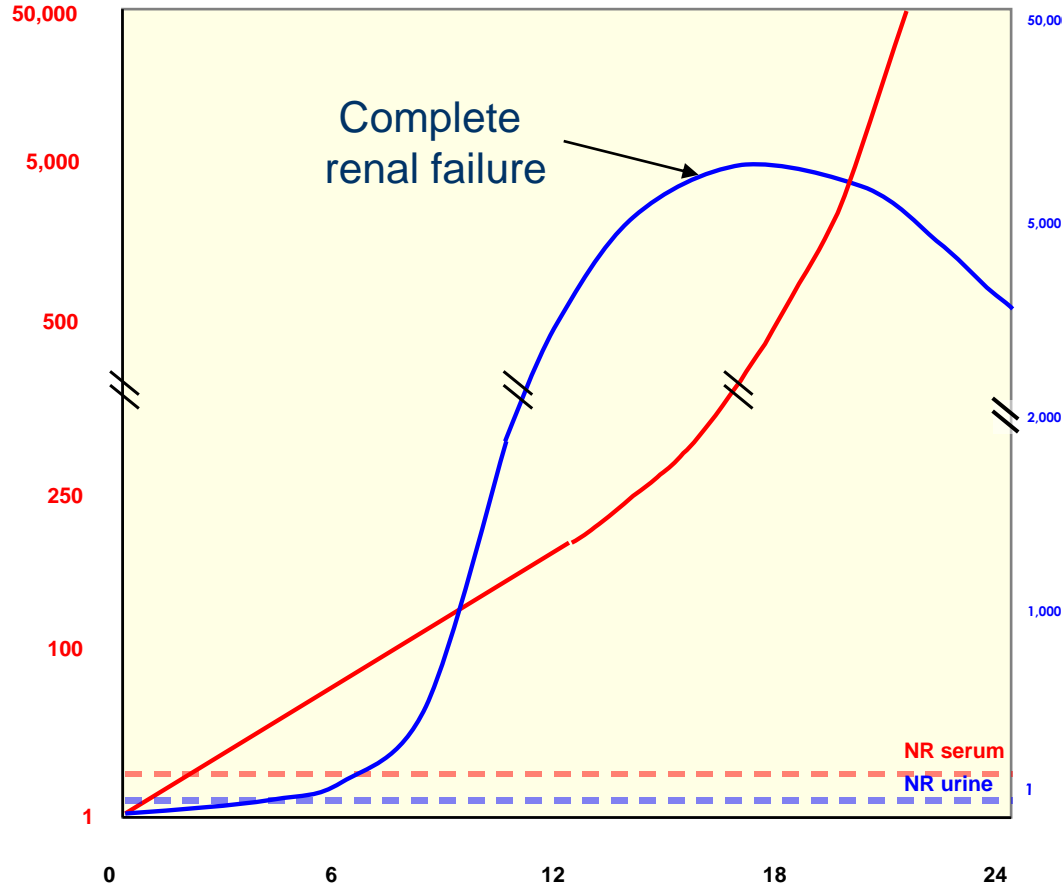
Kappa 25 kDa

Lambda 50 kDa

ratio <2

**Serum FLC
(mg/L)**

Urine FLC (mg/L)



nierfunctie

Lichte keten productie 0,5-1 g/dag

Lichte keten katabolisme tubuli max 10-30 g/dag

Bepaling vrije lichte ketens in serum (sVLK(TBS))

- Nefelometrisch, turbidimetrisch
- Totaal vrije lichte ketens wordt bepaald, niet monoklonaal
- Referentiewaarden:

Kappa	3,3 – 19,4 mg/l
Lambda	5,7 – 26,3 mg/l
Ratio k/l	0,26 – 1,65 (en niet 2!)
Nierschade ratio	0,37 – 3,1
- Kappa en Lambda levels nemen toe met leeftijd, ratio niet

Vergelijking gevoeligheid ES, IFx en sVLK

serum

ES 500-2000 mg/L

IFx 150-500 mg/L

sVLK κ 0.3 mg/L

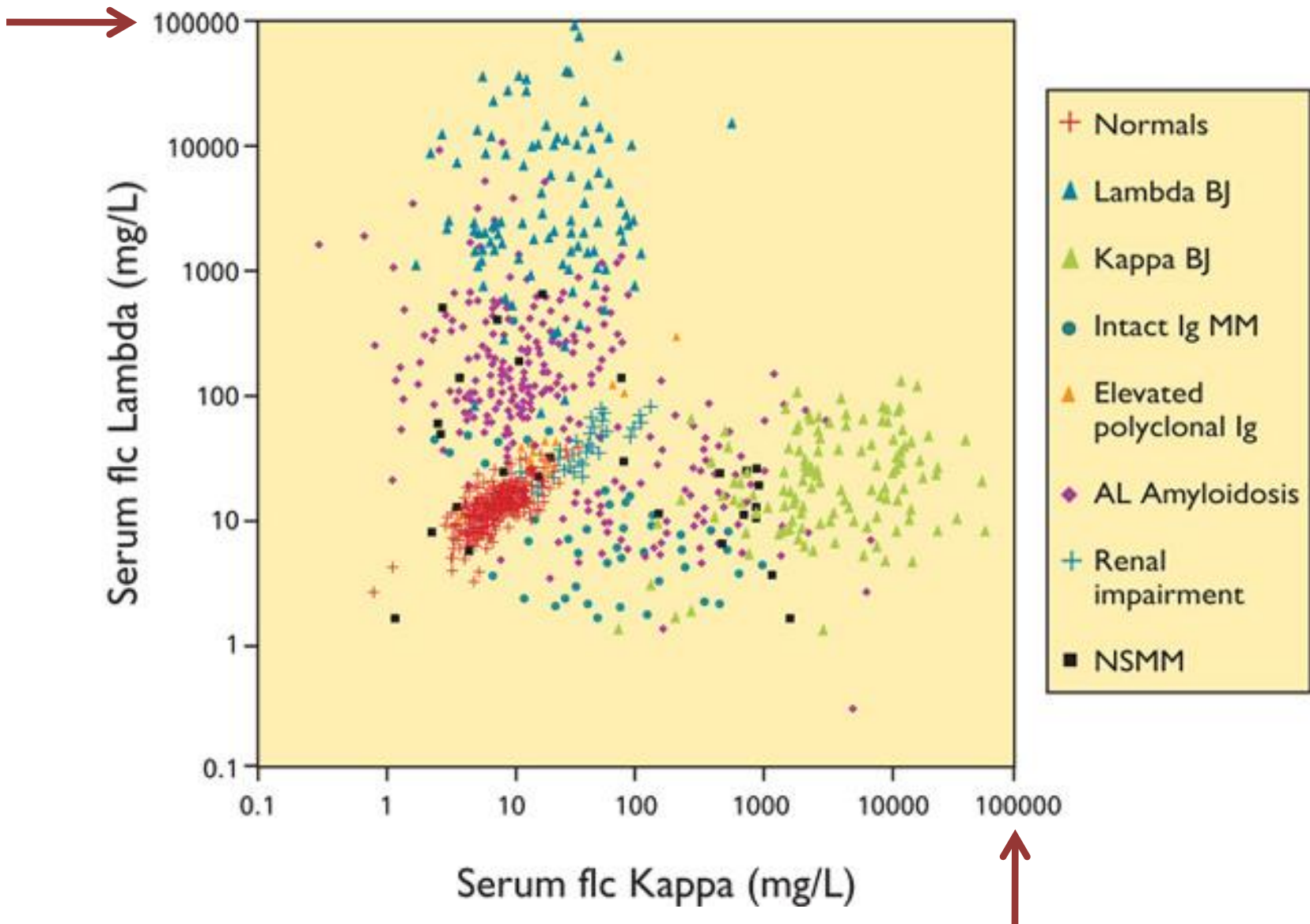
λ 0.5 mg/L

$\kappa\lambda$ urine (Bence Jones) kan tot 10 mg/l

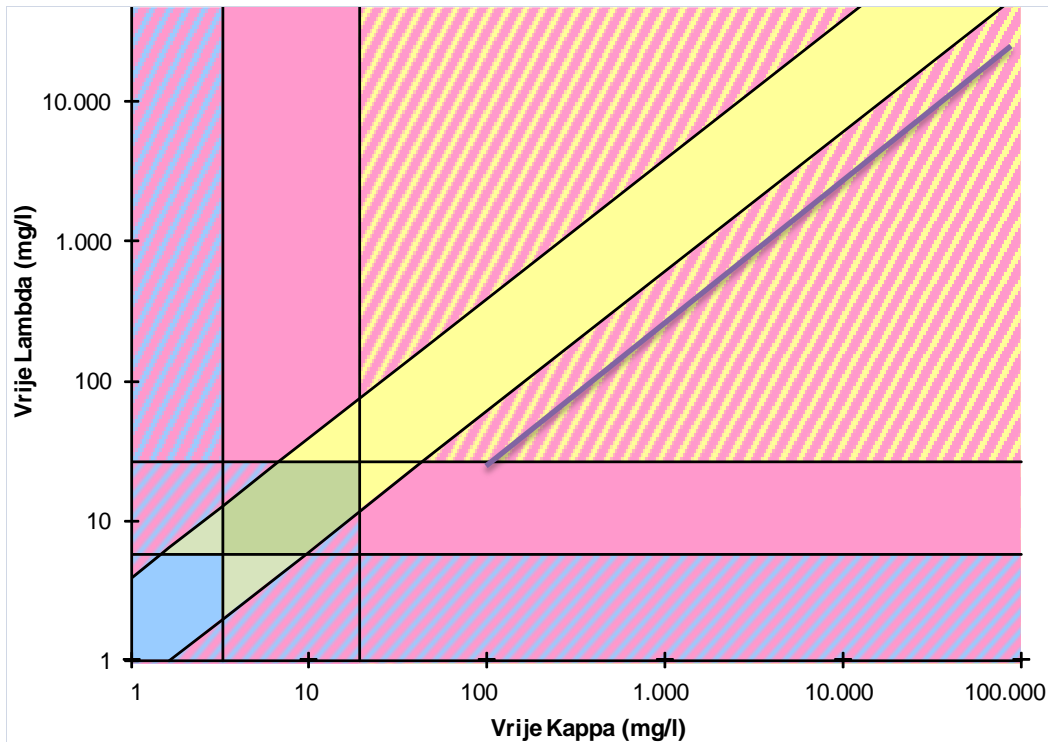
(als geen polyclonale achtergrond, nadeel: ladders)

Beschreven toepassingsgebieden sVLK bepalingen

- Lichte keten multipel myeloom
- Niet secreterend multipel myeloom
- AL-amyloïdose
- MGUS
- Intact M-proteïne



rapportage



Interpretaties:

(In verband met de robuustheid van de test staan conclusies van <100 mg/l vrije lichte ketens nog ter discussie)

- Normaal
- Normaal of beenmerg onderdrukking
- Beenmerg onderdrukking
- Polyclonaal immunoglobuline of nierproblemen
- Monoclonale gammopathie met nierproblemen
- Monoclonale gammopathie
- Monoclonale gammopathie met beenmerg onderdrukking
- Referentie waarden

- Dubieus gebied?
- Levels bij studies?
- Ratio bij nierschade

Niet secreterend multipel myeloom

- $\pm 3\%$ van de multipel myeloma
- Geen monoclonaal produkt aantoonbaar, vaak polyclonaal Ig verlaagd
- Kappa:lambda=4:1, kappa geeft meer diffuse band
- Diagnose wordt zeldzamer

MGUS-monoclonal gammopathy of undetermined significance

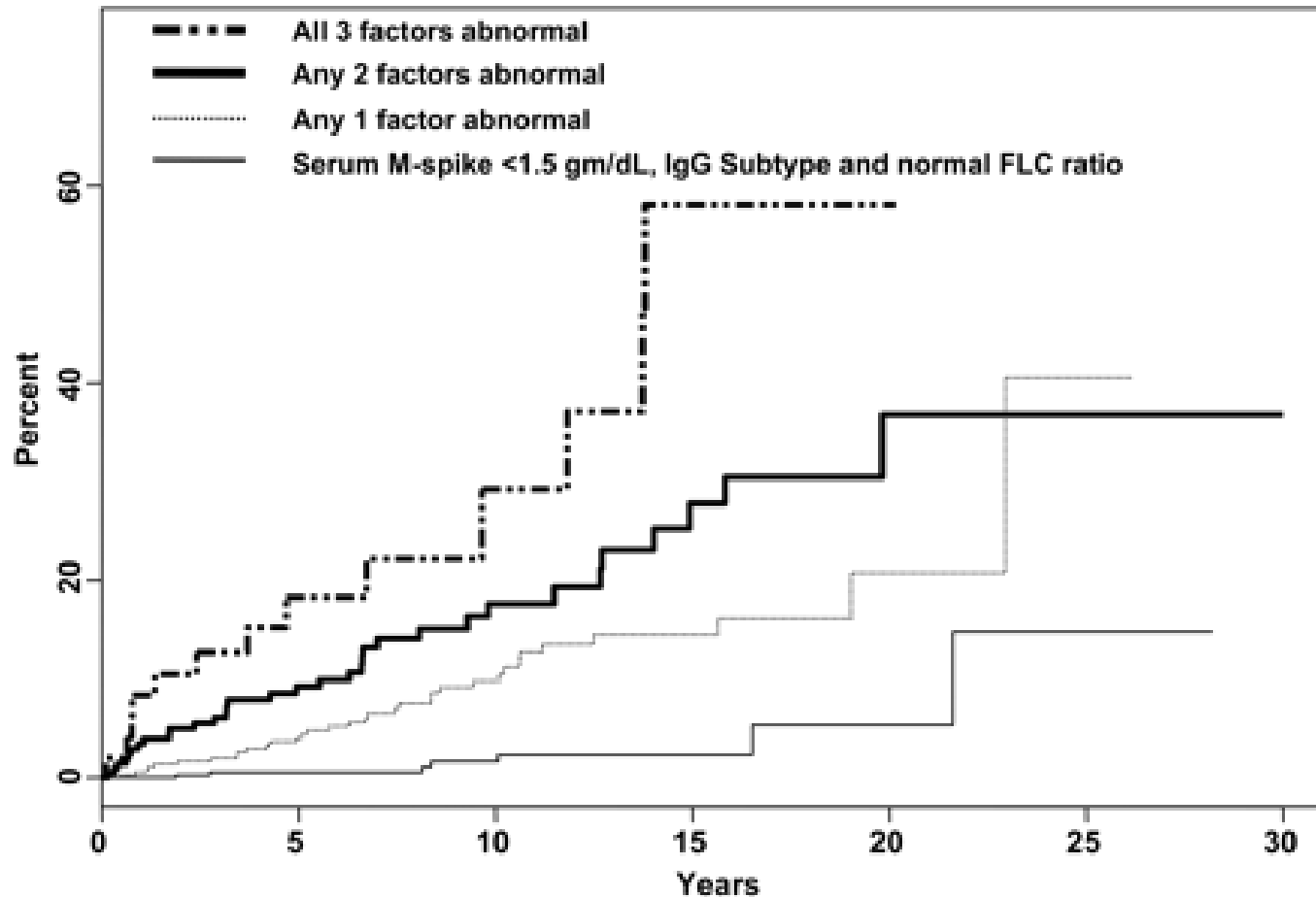
- 56% van de gevonden M-proteïnen
- M-proteïne < 30 g/l
- BM plasmacellen <10%
- Geen hypercalcemie, nierfalen, anemie, lytische bothaarden (CRAB criteria)
- MGUS>>multipel myeloom of aanverwante maligniteit in 1 % per jaar

•International Myeloma Working Group, Br J Haematol 2003

•International Myeloma Working Group Guidelines for serum-free light chain analysis, Leukemia 2009

Risico factoren MGUS>>>MM

FLC afwijkend, MPr ≥ 15 g/l, non IgG

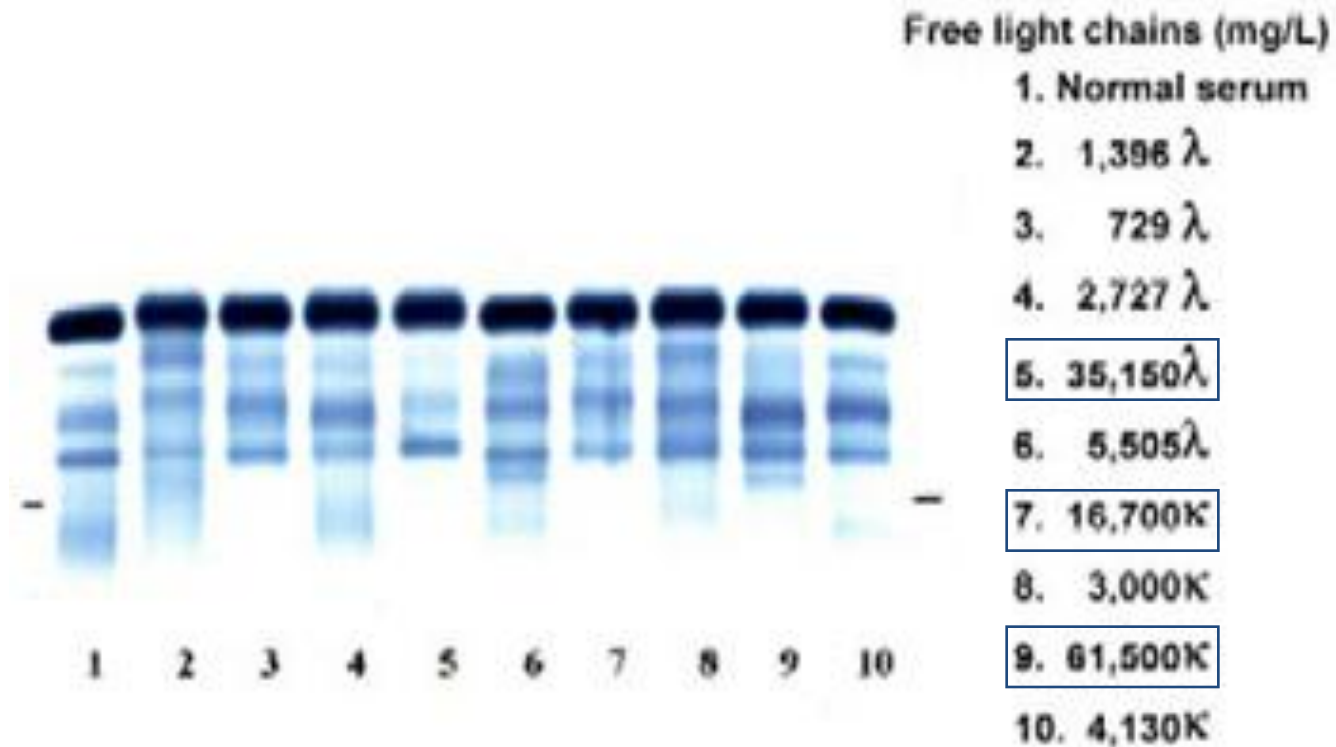


Beperkingen vrije lichte keten bepalingen

- Je kijkt niet naar klonaliteit
- **Onrealistische waarden (tot 200 g/l!)**
- Er is geen internationale standaard
- Non-lineariteit
- Lot-lot verschillen
- **Apparatuur verschillen (eigen ref values?)**
- Polyclonale VLK worden meegemeten
- Intact Ig wordt in zekere mate meegemeten
- Biclonale gammopathie zie je niet aan de ratio
- Duur
- **Hoge VC's, vooral van ratio (ook naar absolute waarden en delta kijken?)**

Tate, Clin Chem Acta 2007

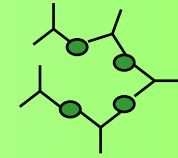
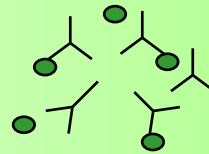
Overschatting door sVLK bepalingen



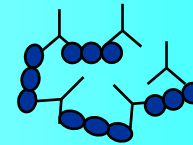
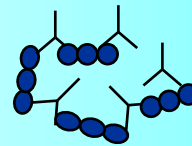
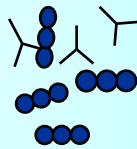
The Binding Site

Effect van polymerisatie op de reactie

Normale
reactie



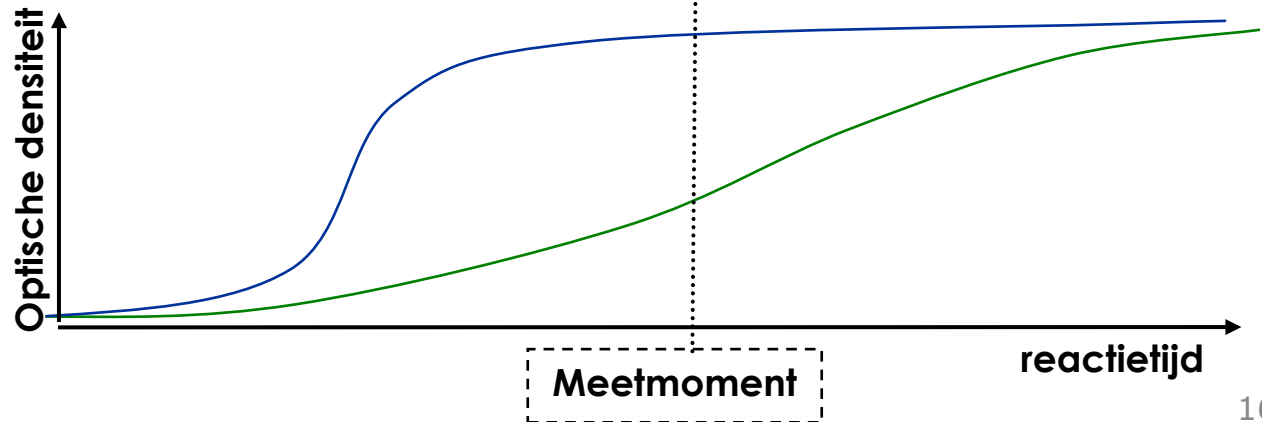
Reactie bij
gepolimeriseerd
monster



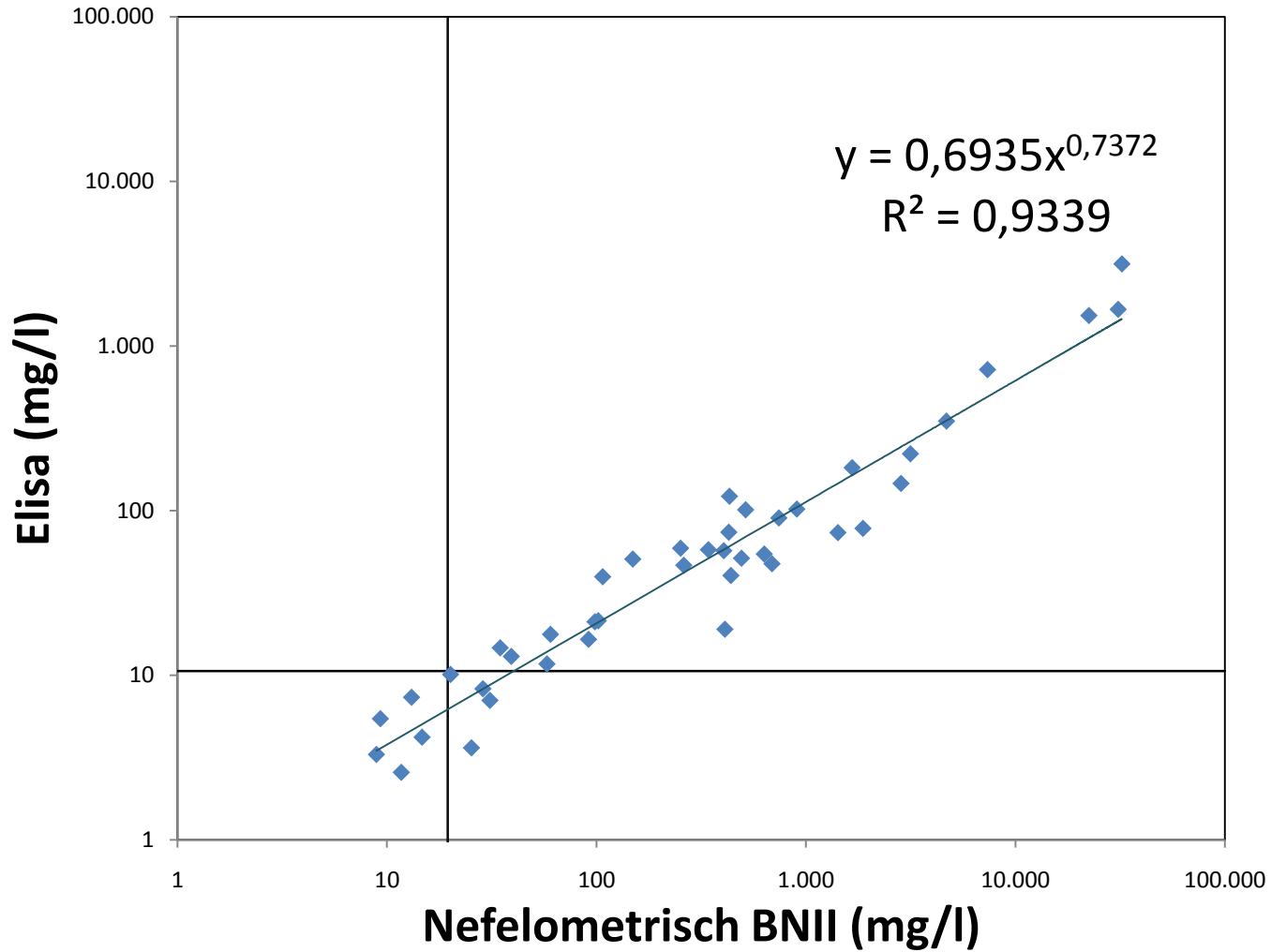
Vrije lichte keten ●

Gepolymeriseerde
VLK ●●●

Freelite Y



Vergelijking sVLK-k ELISA- nefelometrisch

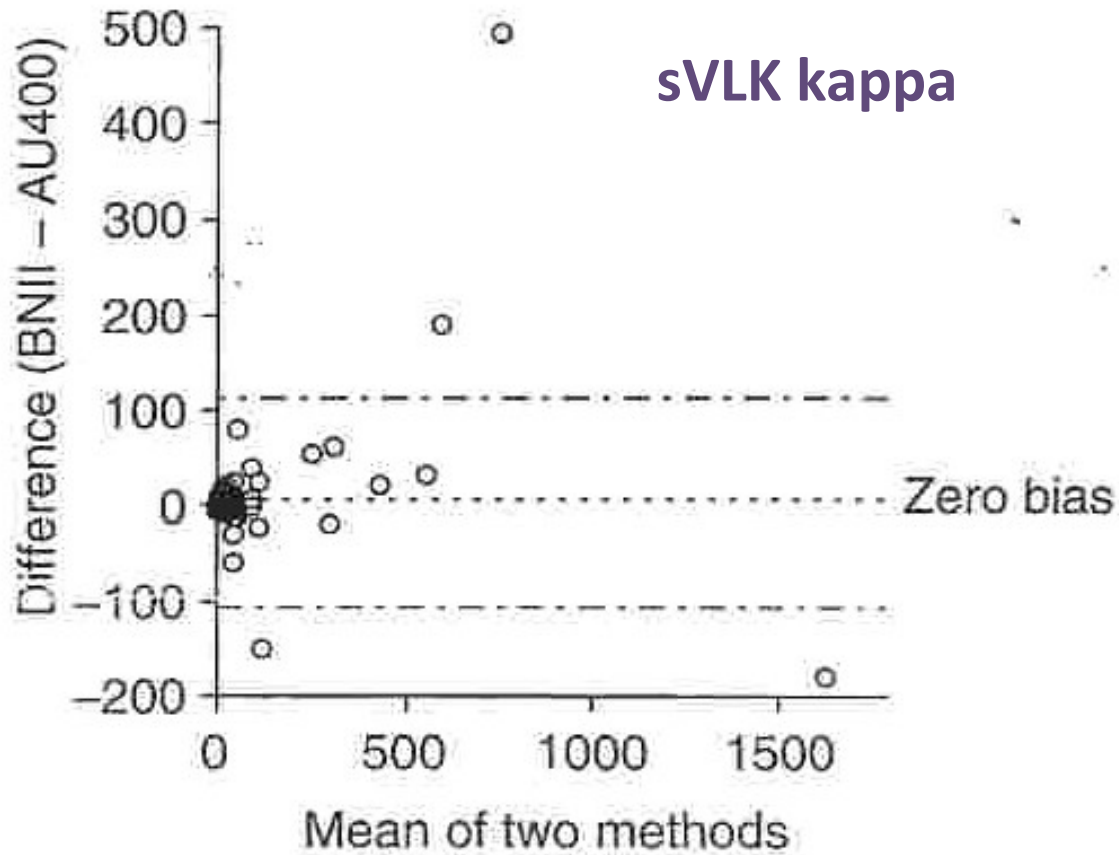


Referentiewaarden

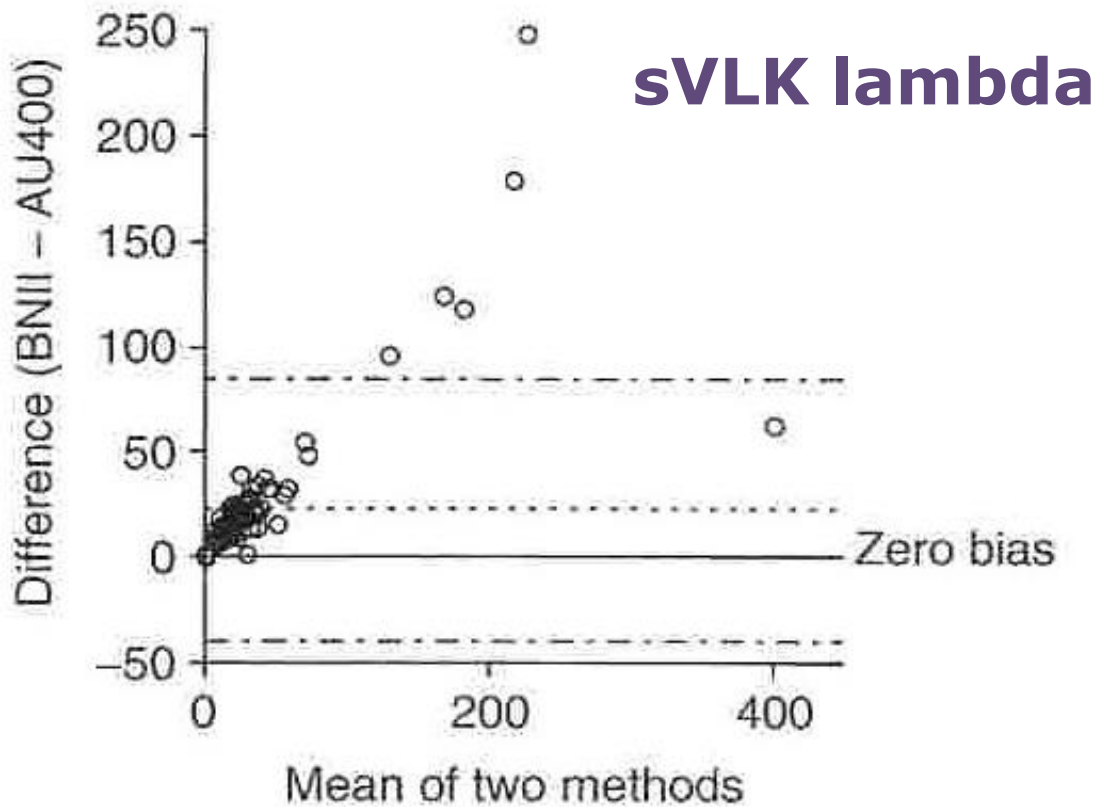
auteur	Bakker	Beetham	Binding Site
apparaat	Roche Modular P	BC Immagine	Behring BNII
studiegroep	Aanvraag ES	Aanvraag ES	donoren
sVLK-k	7,3-37,2	9,4-18,7	3,3-19,4
sVLK-l	7,2-41,1	20,1-34,7	5,7-26,3
ratio	0,63-1,81	0,21-1,40	0,26-1,65

Bakker, Clin Chem, 2009; 55, 1585

Beetham, Ann Clin Biochem, 2007; 44, 516



Pattenden, Ann Clin Biochem 2007



QC Binding Site

Q3/105, juli 2009

Methode	Serum vrije kappa			Serum vrije lambda			Vrije lichte keten ratio		
	N	Gem (mg/l)	VC	N	Gem (mg/l)	VC	N	Gem (mg/l)	VC
Totaal	202	358	20,3 %	204	8,4	22,0 %	201	43,9	28,3 %
Bayer Advia	5	427	13,8 %	5	8,3	9,5 %	5	52,1	21,1 %
Dade-Behring	82	343	16,9 %	81	8,2	22,4 %	80	42,7	24,6 %
Beckman	58	344	14,3 %	58	8,9	21,3 %	56	40,5	21,6 %
Hitachi	23	403	17,5 %	24	9,0	15,8 %	23	44,4	26,4 %
Olympus	10	254	6,6 %	10	8,0	8,3 %	11	29,5	32,8 %
SPA PLUS	17	475	6,0 %	18	7,5	13,2 %	18	64,8	10,2 %
Overig	7	312	40,1 %	7	7,8	19,7 %	7	42,7	42,0 %

Gebruik ook eigen controle materialen!

Voordelen sVLK bepalingen

- Korte halfwaardetijd T $\frac{1}{2}$:
 - lgG 20-25d
 - lgA 6 d
 - lgD 3 d
 - lgE 2 d
 - sVLK 2-6u
- Gevoelig
- Levert een meetbare parameter in die gevallen dat er op andere wijze geen meetbare ziekte (meer) is.
 - NSM
 - Amyloidose
 - LCDD
 - Stringente complete remissie (studies)
- Geen urine nodig??

Meetbare ziekte

M-proteïne serum: electroforese, immunofixatie, nefelometrische/turbidimetrische kwantificering.
Meetbare ziekte ≥ 10 g/l

M-proteïne urine: Bence Jones, electroforese, immunofixatie (24 uurs urine). Meetbare ziekte ≥ 200 mg/24h (≥ 100 mg/24h voor Amyloidose)

Lichte keten serum: sVLK kappa en lambda + ratio, Meetbare ziekte betreffende keten ≥ 100 mg/l en abnormale ratio

Bone marrow plasma cells : Meetbare ziekte ≥ 30 % (!)

Durie, International uniform response criteria, Myeloma Working Group, Leukemia 2006

sVLK kan eerdere indicator voor relapse zijn als:

- Tumor grote hoeveelheden lichte ketens, weinig zware ketens maakt
- Tumor alleen nog lichte ketens maakt (light chain breakthrough)
- Relapse snel na therapie komt, maar intacte Ig's nog dalende zijn

Nadelen urine bepaling monoclonale lichte ketens

- Kwantificering onnauwkeurig
- 24 uurs urine lastig
- Bewerkelijk (evt ook nog concentreren)
- Bevestiging met vrije lichte keten antisera lukt niet altijd
- Bij proteïnurie is de gevoeligheid van detectie monoclonale lichte ketens laag.




Richtlijn

Meting van M-proteïnen in urine mag alleen gedaan worden met eiwitspectra.

Random 24 uren urine metingen met sVLK testen worden afgeraden en zijn niet betrouwbaar

Durie, International uniform response criteria, Myeloma Working Group, Leukemia 2006

Discordantie tussen BJP en sVLK ratio

483 urines 34 BJP positief	Reference Interval k/l ratio	
	Diagnostic range 0.26-1.65	Local 100% Range 0,21-1,4
BJP pos/ normal ratio	8	8 
BJP neg/ abnormal ratio	21	18
BJP pos/ abnormal ratio	26	26

2 x MM

3 x MGUS

1 x non Hodgkinx

2 x geen

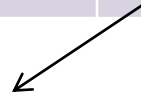
abnormale ratio bij aanwezigheid BJ:

Sens 76%, Spec 96%, NPV 98%, PPV 59%

Beetham, Ann Clin Biochem 2007
(zie ook Hill Clin Chem 2006)

Patienten met een monoclonaal eiwit in de urine, gedetecteerd met IFE

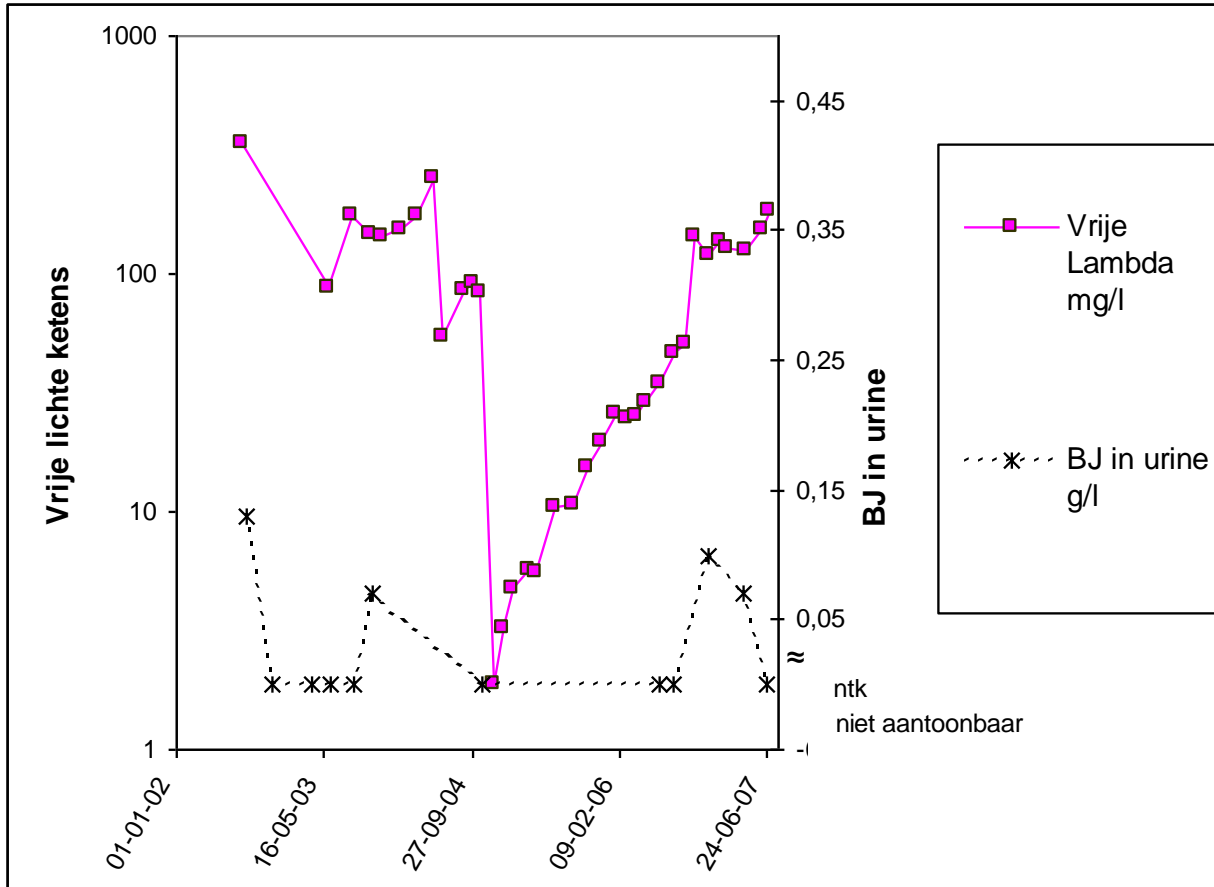
Test	Aantal (%) abnormaal
Urine IFE	428 (100)
Serum IFE	400 (93,5)
Serum ES	346 (80,8)
Serum VLK ratio	367 (85,7)
Serum IFE of VLK ratio	426 (99.5)



2 gemist , beide MGUS

Katzmann Mayo Clin Proc 2006

Vergelijking serum/urine





Richtlijn Respons evaluatie

Patienten met meetbare ziekte in serum of urine eiwitspectrum dienen hiermee vervolgd te worden, niet met sVLK
sVLK alleen doen als er geen meetbare ziekte (meer) is.

NSM, AL amyloidose, LCDD

Durie, International uniform response criteria,
Myeloma Working Group, Leukemia 2006

Conclusie

- De sVLK bepaling is een waardevolle toevoeging in de diagnostiek van monoclonale gammopathieën
- Laboratoriumtechnisch kan de test nog verbeterd worden
- Resultaten dienen kritisch en in samenspraak met de aanvrager beoordeeld te worden