

## Statusartikel

# Serumfrie lette kæder i udredning af M-komponentsygdom

Stine Rasch<sup>1</sup>, Charlotte Toftmann Hansen<sup>1</sup> & Niels Abilgaard<sup>1, 2</sup>

1) Hæmatologisk Afdeling, Odense Universitetshospital, 2) Hæmatologisk Forskningsenhed, Odense Universitetshospital

Ugeskr Læger 2024;186:V12230766. doi: 10.61409/V12230766

## HOVEDBUDSKABER

- Monoklonal komponent (M-komponent) og frie lambdakæder i serum (S-FLC) udgør hjørnestenene i udredningen af M-komponentsygdomme.
- Forhøjede værdier af S-FLC kan ses hos patienter med nedsat nyrefunktion, inflammatoriske og infektiøse sygdomme, men her vil letkæderatio (rFLC) ofte være nærnormal.
- Klinisk beslutningsinterval i almen praksis for rFLC er 0,26-4,32.

Monoklonale gammopatier er karakteriseret ved produktion af et monoklonalt protein (M-komponent eller forhøjet klonal letkæde medførende skæv letkæderatio), som syntetiseres af monoklonale B-celler. Et monoklonalt protein er således definatorisk et komplet immunglobulin eller en delkomponent heraf, oftest en klonal letkæde. Immunglobuliner består af to identiske tunge kæder, enten klasse G, A, M, D eller E, samt to identiske lette kæder, enten kappa ( $\kappa$ ) eller lambda ( $\lambda$ ). M-komponent i serum består hyppigst af et intakt immunglobulin (Ig), dvs. IgG $\kappa$ / $\lambda$ , IgA $\kappa$ / $\lambda$  eller IgM $\kappa$ / $\lambda$  [1]. De hyppigst forekommende M-komponentrelaterede tilstande inkluderer monoklonal gammopati af ukendt signifikans (MGUS) og myelomatose, mens mere sjældent forekommende sygdomme er AL-amyloidose, lymfoplasmacytært lymfom/Waldenströms makroglobulinæmi, light chain deposition disease samt POEMS-syndrom, hvor POEMS er en forkortelse for polyneuropati, organomegali, endokrinopati, M-protein og »skin changes« [2]. I Danmark diagnosticeres årligt ca. 400 patienter med myelomatose, der dermed er den næsthøypigste hæmatologiske cancertype [3]. Hos patienter med myelomatose vil ca. 80% secernere intakte immunglobulin-M-komponenter, mens ca. 20% udelukkende secernerer klonale lette kæder af  $\kappa$ - eller  $\lambda$ -type, såkaldt letkædemyelomatose. En lille andel af patienterne, svarende til < 1% efter indførelsen af analysen »serumfrie  $\kappa$ - og frie  $\lambda$ -kæder«, har nonsekretorisk myelomatose. M-komponenter af letkædetype identificeres sjældent ved serumproteinelektroforese (SPE). Det har derfor historisk været nødvendigt at supplere serum-M-komponentanalyse med urin-M-komponentanalyse på døgnurin eller evt. morgenspoturin, hvor klonale lette kæder kan påvises som et monoklonalt bånd ved proteinelektroforese, traditionelt kaldet Bence Jones' protein.

## Frie lette kappakæder og frie lette lambdakæder i urin og serum

SPE med efterfølgende konfirmering og typebestemmelse ved serumimmunfiksation (SIF) er hjørnestenen i detektering af tilstedeværende M-komponent, men er som nævnt inadækvat i forhold til diagnosticering af letkæde- og nonsekretorisk myelomatose samt AL-amyloidose og light chain deposition disease. Supplerende M-

komponentanalyse på døgnurin eller morgenspoturin (UPE) har været anbefalingen, men koncentrationen af M-komponent i urinen er dog dårligt associeret til antallet af klonale letkædeproducerende celler. Lette kæder optræder først i urinen, når nyrens kapacitet for reabsorption af lette kæder overskrides [4-6].

Urinimmunfiksation (UIF) øger sensitiviteten i at identificere monoklonale lette kæder, men metoden er kvalitativ og ikke kvantitativ. Ydermere viser flere studier, at urinundersøgelser oftest er undladt i den primære diagnostik af patienter mistænkt for M-komponentsygdomme [4, 7]. Et retrospektivt studie udført med danske patienter i almen praksis har således dokumenteret, at kun 25% af patienterne fik foretaget urinanalyse på trods af anbefaling heraf i screening for plasmacelledyskrasi [8]. Praktiske udfordringer og nedsat kompliance i forbindelse med indsamling af urin kan være en væsentlig faktor hertil.

I 2001 blev det første immunoassay til måling af immunoglobulinets frie  $\kappa$ -kæder og frie  $\lambda$ -kæder i serum (herefter blot kaldet frie lette kæder eller S-FLC) taget i brug [9]. Analysen har vist sig særdeles brugbar, både i diagnosticering og monitorering af plasmacelledyskrasier. Hos 68% af de patienter, som tidligere var kategoriseret som nonsekretorisk myelomatose på baggrund af SPE og UPE, fandt man forhøjede  $\kappa$ - eller  $\lambda$ -kæder og abnorm letkæderatio (rFLC) [10]. S-FLC er særlig anvendelig i diagnosticering af letkædemyelomatose, hvor alle har abnorm koncentration af involverede/klonale lette kæde samt skæv rFLC på diagnosetidspunktet [11]. Et stort retrospektivt studie fra Mayoklinikken viste, at kombinationen af SPE, SIF og S-FLC identificerede alle patienter med myelomatose, herunder også dem, hvor der alene sås positiv UIF [12]. Der er sammenlignelig sensitivitet i forhold til diagnostik af M-komponentsygdomme: om man kombinerer SPE, SIF og S-FLC eller SPE, SIF og UIF. Undlades UIF uden at erstattes af S-FLC, falder den diagnostiske sikkerhed signifikant [13].

I 2009 kom International Myeloma Working Group med en anbefaling om at anvende S-FLC i stedet for UIF sammen med SPE og SIF i den primære diagnostik af M-komponentassocierede sygdomme. Det anbefales dog fortsat at anvende UIF ved formodning om AL-amyloidose, da tillæg af denne undersøgelse øger den diagnostiske sensitivitet signifikant ved netop denne sygdom [6]. Dette skyldes den glomerulære skade og proteinuri, som ofte er til stede ved AL-amyloidose. De klonale kæder opnår derved typisk ikke så højt niveau i serum, at rFLC påvirkes målbart.

I 2007 blev analysen af serumlette kæder introduceret som led i diagnostikken af M-komponentsygdomme i Danmark og tilgængelig i nogle regioner for almen praksis i 2008, om end dette ikke var implementeret i de diagnostiske guidelines [8].

Værdien af FLC-analysen har været markant, og analysen er internationalt blevet inkorporeret i såvel de diagnostiske kriterier for myelomatose, responskriterier ved behandling og i reviderede prognostiske modeller for smoldering myelomatose [14-16]. Nærmere beskrivelse af disse implikationer ligger uden for rammerne af denne artikel, men er i dansk kontekst nærmere beskrevet i en anden statusartikel i Ugeskrift for Læger [17].

## Den danske retningslinje

I 2012 blev der i et samarbejde mellem Dansk Selskab for Klinisk Biokemi (DSKB) og Dansk Myelomatose Studieggruppe (DMSG) udarbejdet retningslinje for brugen af M-komponentanalyser inden for udredning og behandling af M-komponentsygdomme. I 2017 blev retningslinjen revideret med en anbefaling om, at M-komponentundersøgelser i serum suppleres med analyser af frie lette kæder i serum fremfor urin-M-komponent som led i screening for M-komponentsygdom i den primære udredning. Hvis værdierne fra SPE og S-FLC er normale, men der fortsat er formodning om AL-amyloidose eller anden plasmacelleneoplasi, f.eks. ved uforklaret proteinuri, bør der suppleres med immunfiksation af serum og urin. Sidstnævnte bør være morgenurin eller anden koncentreret urin [18]. AL-amyloidose bør mistænkes hos patienter med nefrotisk syndrom, hjertesvigt med bevaret ejection fraction, blandet aksonal og demyeliserende polyneuropati med

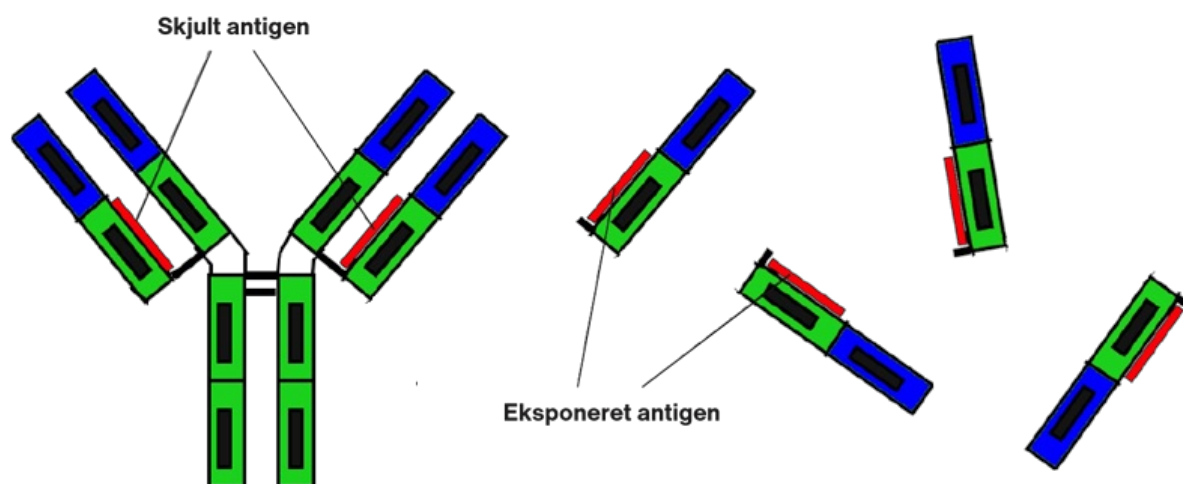
involvering af autonomt nervesystem, hepatomegali og/eller noninfektøs diarré samt MGUS-patienter med skæv rFLC og forhøjet N-terminalt pro-brain type natriuretisk peptid [19].

På trods af ovenstående anbefalinger og klare fordele ved brugen af S-FLC er der steder i Danmark, hvor det fortsat ikke er muligt for almen praksis at bestille analysen.

## Serumfrie lette kæder-analysen – udfordringer og tolkning

Over de seneste år er der udbudt flere forskellige kommercielle S-FLC-assays til kvantificering af frie lette kæder i serum. Fælles for disse er, at de er baseret på antistoffer, der genkender epitoper på de frie lette kæder, som er skjult, når de er bundet til tunge kæder (**Figur 1**). Forskelle i immuniseringsmetode, kalibrering og analytiske principper resulterer i, at det kliniske beslutningsinterval for de forskellige assays ikke nødvendigvis er identiske. I Danmark anvendes hovedsageligt to assays: Freelite (The Binding Site) og N-Latex FLC (Siemens) [18]. Freelite var det første kommercielle assay på markedet, og de studier, som danner grundlag for nuværende internationale anbefalinger inden for måling af S-FLC, er baseret på dette assay [6]. Disse anbefalinger med baggrund i Freelite-assayet er også gældende i Danmark og anvendes foruden til diagnosticering af M-komponentsygdomme også til prognostisering og responsevurdering [3, 6, 14]. Freelite-analysen er baseret på polyklonale antistoffer fra får, immuniseret med humane lette kæder, mens N-Latex FLC anvender polystyrenkonjugerede monoklonale antistoffer [20]. Dette sammen med forskelle i kalibrering, analytisk platform og analytiske principper medfører, at der er mindre forskelle i referenceintervallet for  $\kappa$  og  $\lambda$ , men også for rFLC, som er hhv. 0,26-1,65 for Freelite og 0,31-1,56 for N-Latex FLC [5, 20].

**FIGUR 1** Illustration af antigenet for analysen serumfrie lette kappa- og frie lette lambda-kæder. I det intakte immunglobulin eller komplette immunglobulin-, monoklonale komponent til venstre er antigenet skjult for antistofferne i assayet, idet antigenet vender indad mod den tunge kæde. Antigenet er derimod frit eksponeret i de frie cirkulerende lette kæder af kappa-hv. lambda-type til højre. Dette gør, at assayet alene måler de frit cirkulerende lette kæder.



Dertil kommer, at der for Freelite er foreslået et tilpasset klinisk beslutningsinterval for patienter med påvirket nyrefunktion (estimeret glomerulær filtrationsrate (eGFR)  $< 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) svarende til rFLC, nemlig 0,37-3,1, da analysen detekterer en proportional højere andel af  $\kappa$ -kæder i forhold til  $\lambda$ , specielt hos patienter med svært nyresvigt [20]. Nyere undersøgelser indikerer, at det kliniske beslutningsinterval for patienter med nedsat nyrefunktion (eGFR  $< 45$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) med fordel kunne lægges en smule højere (rFLC: 0,48-3,38) [21, 22].

Forholdet med stigende rFLC ved aftagende nyrefunktion gør sig ikke gældende ved anvendelse af N-Latex FLC [23, 24]. Årsagen til dette er ikke afklaret. Man har ved anvendelse af Freelite observeret en stigning i frekvensen af forhøjede letkæderatioer hen over årene. Ved Freelite-reagenserne, som er polyklonale og dermed i risiko for at ændre sig over tid, er der sket en forskydning mod en højere rFLC sammenlignet med de reagent lots, som blev anvendt for 20 år siden i det studie, som fastsatte producentens referenceinterval [25-27]. Denne  $\kappa$ -kædedrift skyldes formentlig ændringer i assaykalibreringen over tid medførende forringet specificitet for forhøjet rFLC i intervallet 1,65-3,0 og dermed flere positive undersøgelser [28]. Et højt antal positive rFLC'er er også set, når analysen anvendes i almen praksis. Et dansk studie viste, at hvis man anvendte det anbefalede kliniske beslutningsinterval for Freelite hos patienter i almen praksis, vil 19% have en falsk positiv rFLC. Ved at udvide det kliniske beslutningsinterval for rFLC fra 0,26-1,65 til 0,26-4,32 vil andelen af falsk positive reduceres til 6%, uden at patienter med betydende M-komponentsygdom overses [8]. Den nationale retningslinje anbefaler derfor at bruge dette interval for førstegangsprøver i almen praksis hos patienter mistænkt for at have myelomatose [18]. Dette kliniske beslutningsinterval er dog kun gældende for anvendelse af Freelite og ikke for N-Latex FLC, da der på det foreliggende ikke findes lignende studier for N-Latex.

Der kan være flere årsager til falsk positive rFLC'er. Det oprindelige standardinterval er baseret på 285 raske bloddonorer, og flere studier har vist, at tilstande med systemisk inflammation såsom virale infektioner og reumatologiske sygdomme, men også sygdomme som multipel sklerose, diabetes, kardiovaskulære sygdomme og kræft kan ændre niveauerne af frie lette kæder i serum [29]. Dog vil der ved disse tilstande ofte være forhøjelse af både  $\kappa$  og  $\lambda$ , hvilket indikerer reaktiv tilstand [30].

## Konklusion

De gældende danske retningslinjer anbefaler, at der tages både M-komponent- og frie lette kæder i serum i den primære udredning, når M-komponentsygdom mistænkes. Baggrunden for denne anbefaling er de knap 20% af patienterne med myelomatose, der har letkædesygdom, og som diagnosticeres ved enten M-komponent i urin eller ved abnorm S-FLC, men som overses, når der alene udredes med serum-M-komponent. Siden 2017 har der været en national retningslinje udformet i et samarbejde mellem DSKB og DMSG, og denne anbefalede, at S-FLC erstatter urinelektroforese i den primære diagnostik af myelomatose. Anbefalingen bunder i en højere sensitivitet og højere kompliance. På trods af denne anbefaling er der områder af landet, hvor de praktiserende læger ikke har mulighed for at bestille S-FLC. For at mindske risikoen for overfortolkning af rFLC foretaget ved Freelite anbefales et klinisk beslutningsinterval for rFLC på 0,26-4,32 gældende for førstegangsprøver i almen praksis.

**Korrespondance** *Stine Rasch*. E-mail: [stine.rasch@rsyd.dk](mailto:stine.rasch@rsyd.dk)

**Antaget** 31. maj 2024

**Publiceret på** [ugeskriftet.dk](https://ugeskriftet.dk) 15. juli 2024

**Interessekonflikter** ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på [ugeskriftet.dk](https://ugeskriftet.dk)

**Referencer** findes i artiklen publiceret på [ugeskriftet.dk](https://ugeskriftet.dk)

**Artikelreference** *Ugeskr Læger* 2024;186:V12230766

doi [10.61409/V12230766](https://doi.org/10.61409/V12230766)

**Open Access** under Creative Commons License [CC BY-NC-ND 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

## SUMMARY

## Serum-free light chains in the evaluation of M-component disease

Current guidelines recommend screening with serum M-protein and serum-free light chain analysis (S-FLC) when an M-protein-related disorder is suspected. Many patients with multiple myeloma will be overlooked if only serum M-protein is measured. Despite this, the general practitioners in some areas of Denmark cannot order S-FLC. This review aims to disseminate knowledge of the S-FLC analysis, its applicability, and limitations in the diagnostic workup for suspected monoclonal gammopathies.

## REFERENCER

1. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol.* 2003;121(5):749-57.
2. Derman B, Castillo JJ, Sarosiek S, Beksac M. When a monoclonal gammopathy is not multiple myeloma. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2022;42:1-10. [https://doi.org/10.1200/EDBK\\_349643](https://doi.org/10.1200/EDBK_349643)
3. Danske Multidisciplinære Cancer Grupper, Regionernes Kliniske Kvalitetsudviklingsprogram (RKKP). Diagnostik og opfølgning af myelomatose, 2023. <https://www.dmcg.dk/Kliniske-retningslinjer/kliniske-retningslinjer-opdelt-paa-dmcg/myelomatose/diagnostik-og-opfolgning-af-myelomatose/> (17. juni 2024).
4. McTaggart MP, Lindsay J, Kearney EM. Replacing urine protein electrophoresis with serum free light chain analysis as a first-line test for detecting plasma cell disorders offers increased diagnostic accuracy and potential health benefit to patients. *Am J Clin Pathol.* 2013;140(6):890-7. <https://doi.org/10.1309/AJCP25IHYLEWCAHJ>
5. Sarto C, Intra J, Fania C et al. Monoclonal free light chain detection and quantification: performances and limits of available laboratory assays. *Clin Biochem.* 2021;95:28-33. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.05.006>
6. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia.* 2009;23(2):215-24. <https://doi.org/10.1038/leu.2008.307>
7. Hill PG, Forsyth JM, Rai B et al. Serum free light chains: an alternative to the urine Bence Jones proteins screening test for monoclonal gammopathies. *Clin Chem.* 2006;52(9):1743-8. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.069104>
8. Sandfeld-Paulsen B, Aggerholm-Pedersen N, Samson MH, Møller HJ. A cohort study of free light chain ratio in combination with serum protein electrophoresis as a first-line test in general practice. *Cancers (Basel).* 2022;14(12):2930. <https://doi.org/10.3390/cancers14122930>
9. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem.* 2001;47(4):673-80.
10. Drayson M, Tang LX, Drew R et al. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 2001;97:2900-2. <https://doi.org/10.1182/blood.v97.9.2900>
11. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP et al. Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet.* 2003;361(9356):489-91. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12457-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12457-9)
12. Katzmann JA, Dispenzieri A, Kyle RA et al. 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(12):1575-8. <https://doi.org/10.4065/81.12.1575>
13. Vermeersch P, Van Hoovels L, Delforge M et al. Diagnostic performance of serum free light chain measurement in patients suspected of a monoclonal B-cell disorder. *Br J Haematol.* 2008;143(4):496-502. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07369.x>
14. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A et al. International myeloma working group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014. 15(12):e538-48. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70442-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70442-5)
15. Kumar S, Paiva B, Anderson KC et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2016;17(8):e328-e346. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30206-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30206-6)
16. Mateos M-V, Kumar S, Dimopoulos MA et al. International Myeloma Working Group risk stratification model for smoldering multiple myeloma (SMM). *Blood Cancer J.* 2020;10(10):102. <https://doi.org/10.1038/s41408-020-00366-3>
17. Abildgaard N. M-komponentsygdomme, 2024. *Ugeskr Læger.* 2021;183:V03210258.

18. Danske Multidisciplinære Cancer Grupper. M-komponent analyser ved myelomatose, version 1.1, 2022. <https://www.dmcg.dk/Kliniske-retningslinjer/kliniske-retningslinjer-opdelt-paa-dmcg/myelomatose/m-komponent-analyser-ved-myelomatose/> (17. juni 2024).
19. Spanggaard MBL, Hansen CT, Michael Maiborg et al. Amyloidose er en sygdom med mange ansigter. Ugeskr Læger. 2023;185:V08220479.
20. Caponi L, Romiti N, Koni E et al. Inter-assay variability in automated serum free light chain assays and their use in the clinical laboratory. Crit Rev Clin Lab Sci. 2020;57(2):73-85. <https://doi.org/10.1080/10408363.2019.1670133>
21. Long TE, Indridason OS, Palsson R et al. Defining new reference intervals for serum free light chains in individuals with chronic kidney disease: results of the iStopMM study. Blood Cancer J. 2022;12(9):133. <https://doi.org/10.1038/s41408-022-00732-3>
22. Molina-Andújar A, Robles P, Cibeira MT et al. The renal range of the  $\kappa/\lambda$  sFLC ratio: best strategy to evaluate multiple myeloma in patients with chronic kidney disease. BMC Nephrol. 2020;21(1):111. <https://doi.org/10.1186/s12882-020-01771-3>
23. Singh G. Serum free light chain assay and  $\kappa/\lambda$  ratio performance in patients without monoclonal gammopathies high false-positive rate. Am J Clin Pathol. 2016;146(2):207-14. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqw099>
24. Xu L, Zhao B, Sun Y et al. Using two detection methods to observe the changes and significance of free light chain in serum and urine in patients with renal insufficiency. Biomed Res Int. 2022;2022:5536199. <https://doi.org/10.1155/2022/5536199>
25. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free  $\kappa$  and free  $\lambda$  immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. Clin Chem. 2002;48(2):1437-44.
26. Azimi V, Slade M, Fiala M et al. A single reference interval for interpreting serum free light chains across patients with varying renal function. Clin Chem. 2023;hvad043. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvad043>
27. Murray D, Dispenzieri A, Kumar S et al. Free light chain assay drift: potential for misdiagnosis? J Appl Lab Med. 2020;5(6):1411-3. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfaa093>
28. Rozenova K, Willrich M, Snyder M et al. Kappa free light chain drift prompts the need for a new upper limit of normal free light chain ratio to avoid an epidemic of kappa light chain monoclonal gammopathy of undermined significance. J Appl Lab Med. 2023;8(4):742-750. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfad027>
29. Gudowska-Sawczuk M, Mroczko B. Free light chains  $\kappa$  and  $\lambda$  as new biomarkers of selected diseases. Int J Mol Sci. 2023;24(11):9531. <https://doi.org/10.3390/ijms24119531>
30. Brebner JA, Stockley RA. Polyclonal free light chains: a biomarker of inflammatory disease or treatment target? F1000 Med Rep. 2013;5:4. <https://doi.org/10.3410/M5-4>