

---

# Nástrahy ve vyšetřování monoklonálních gamapatií u nemocných s CKD

---

**Romana Ryšavá**  
**Klinika nefrologie 1.LF UK a VFN**  
**Praha**



# Poškození ledvin při monoklonálních gammopatiích

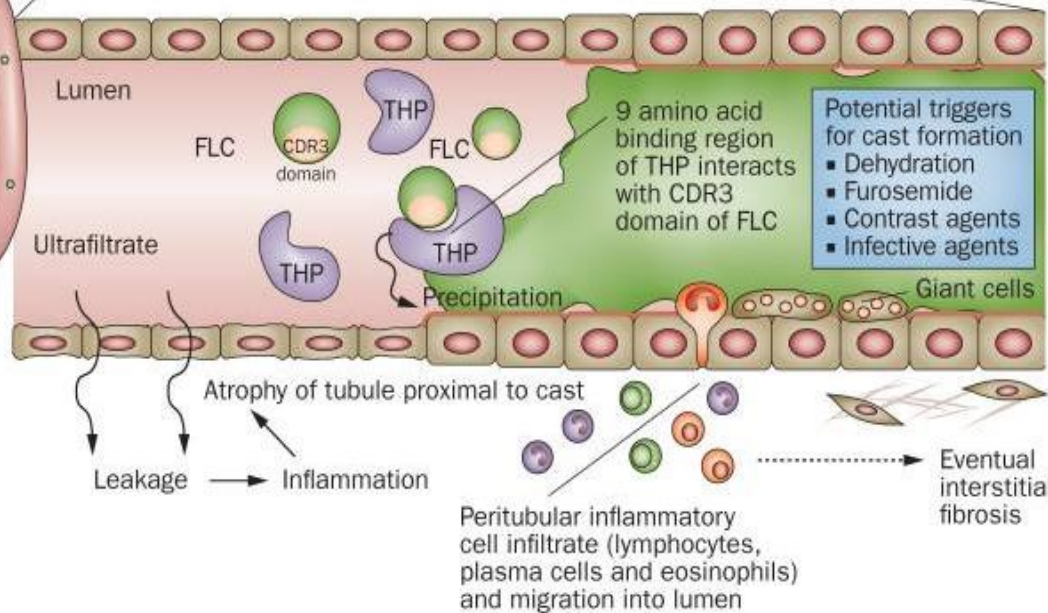
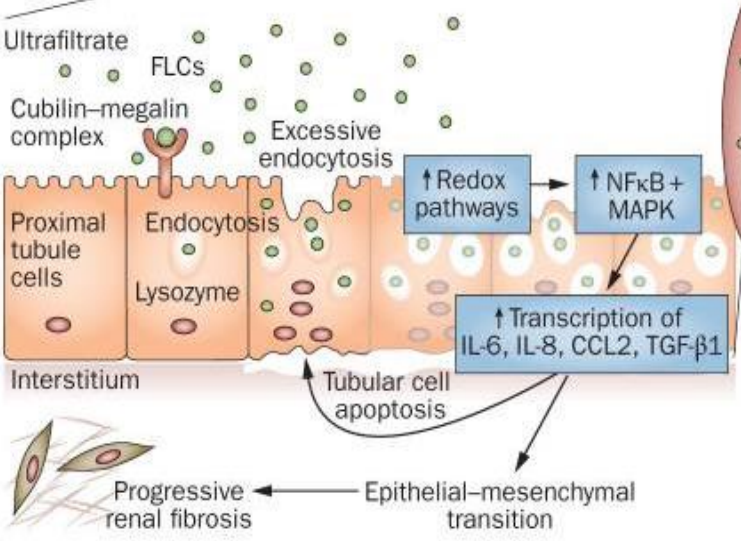
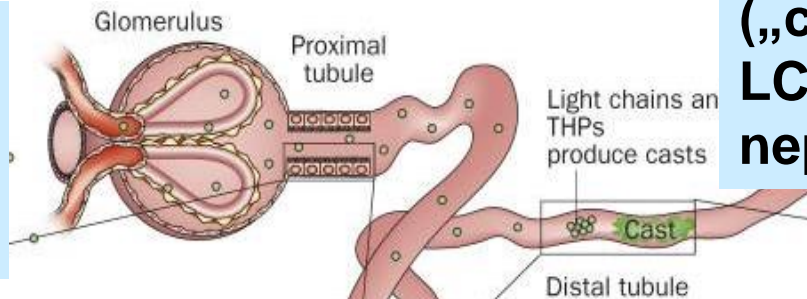
- **Poškození při mnohočetném myelomu**
  - Poškození ledvin způsobené monoklonálním M-proteinem, který je produkován **maligním** klonem plazmatických buněk
  - Většinou se manifestuje jako AKI s minimálními močovými nálezy
- **MGRS - monoclonal gammopathy of renal significance**
  - Všechny typy poškození ledvin způsobené monoklonálním M-proteinem, který je produkován **nemaligním** klonem plazmatických buněk
  - Poškození ledvin s proteinurií až nefrotickým syndromem, renální insuficience, (*hematurii*)
- Musí být prokázána přítomnost M-proteinu v séru (IELFO, FLC, Hevylite) či v moči stejného typu, jako se deponuje v ledvinách

# Poškození ledvin při MM

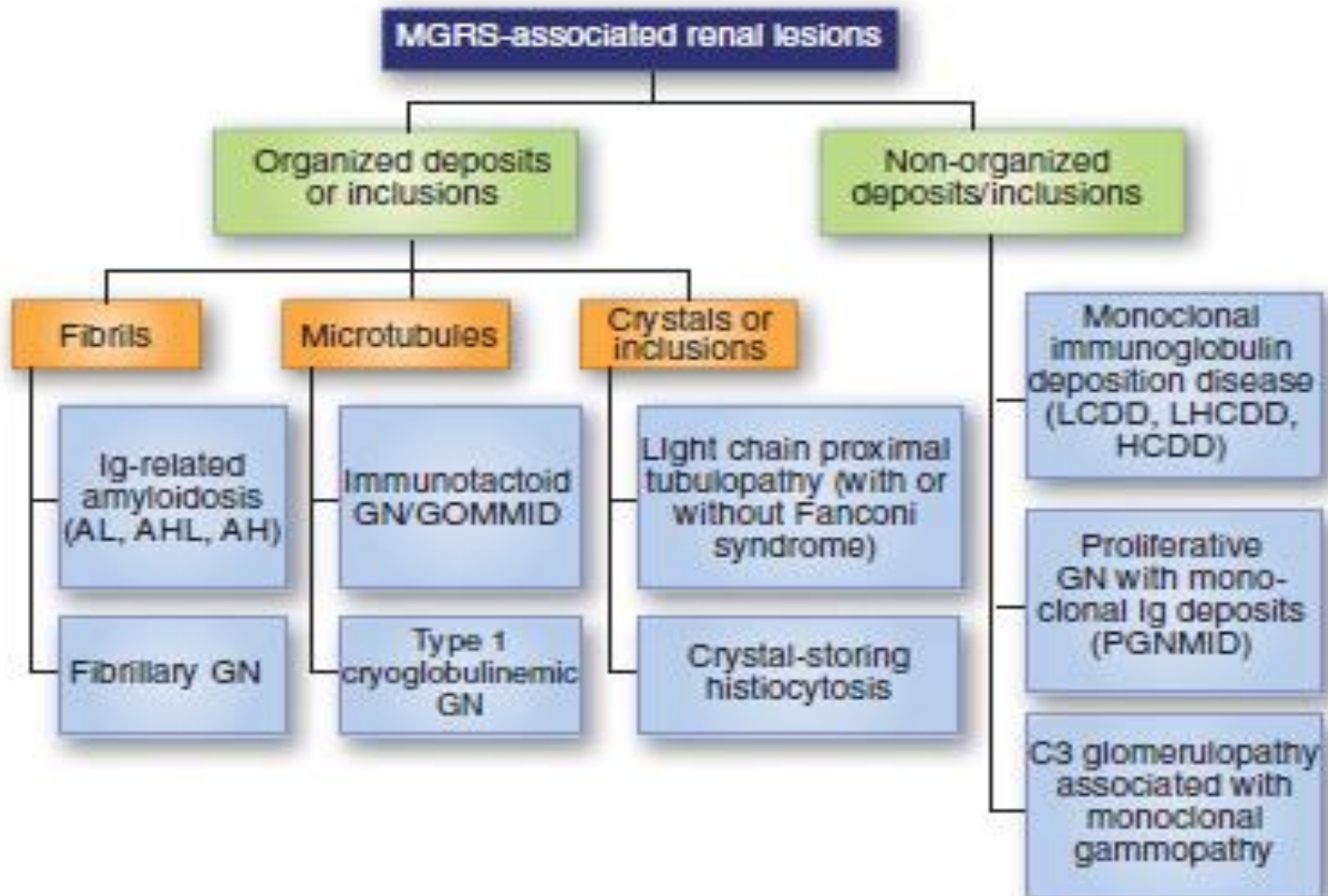
(Hutchison CA. *Nat Rev Nephrol* 2012;8:43-51).

**LCPT – light chain proximal tubulopathy**

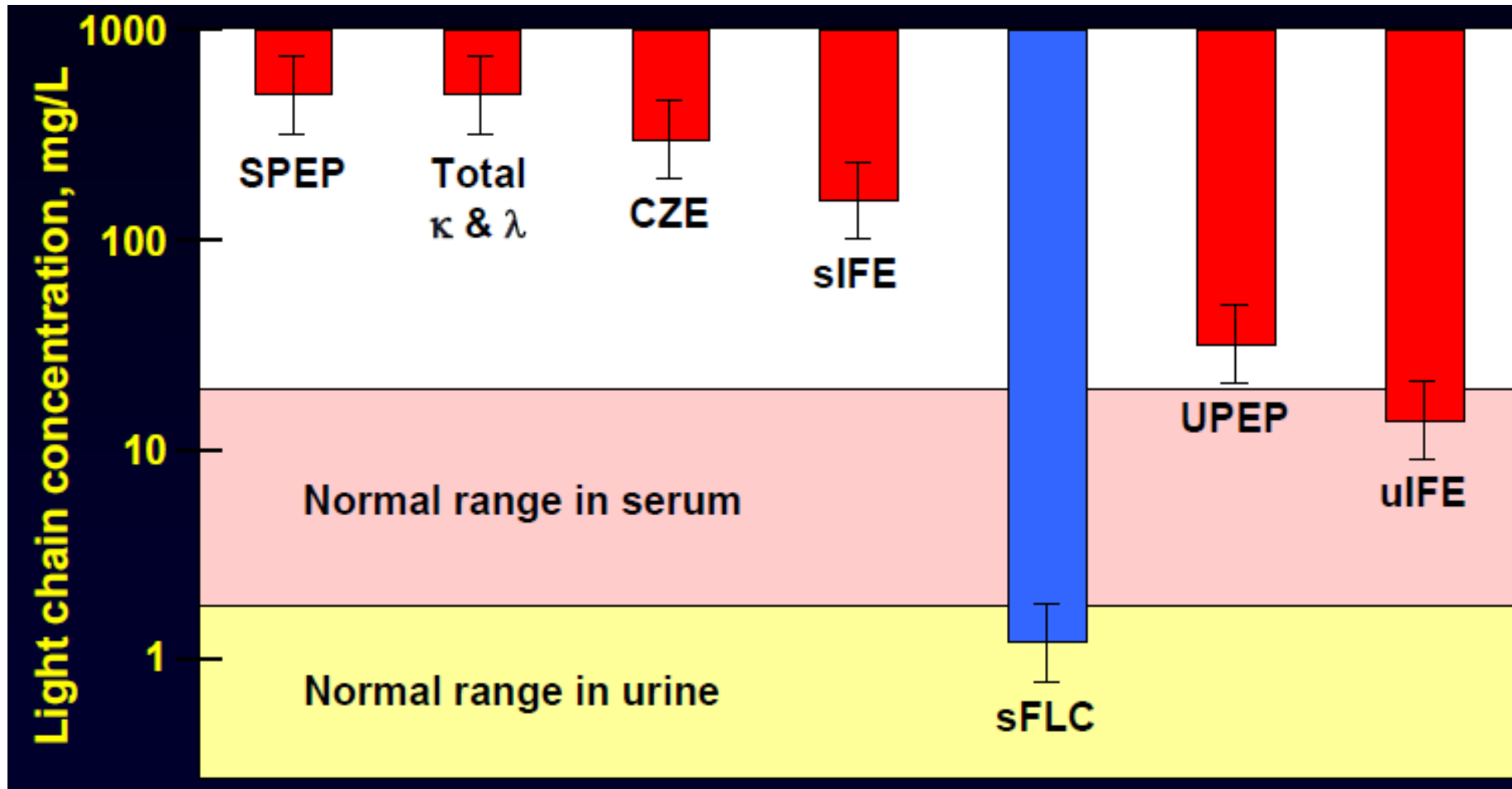
**Myelomová ledvina („cast nephropathy“, LCCN – light chain cast nephropathy)**



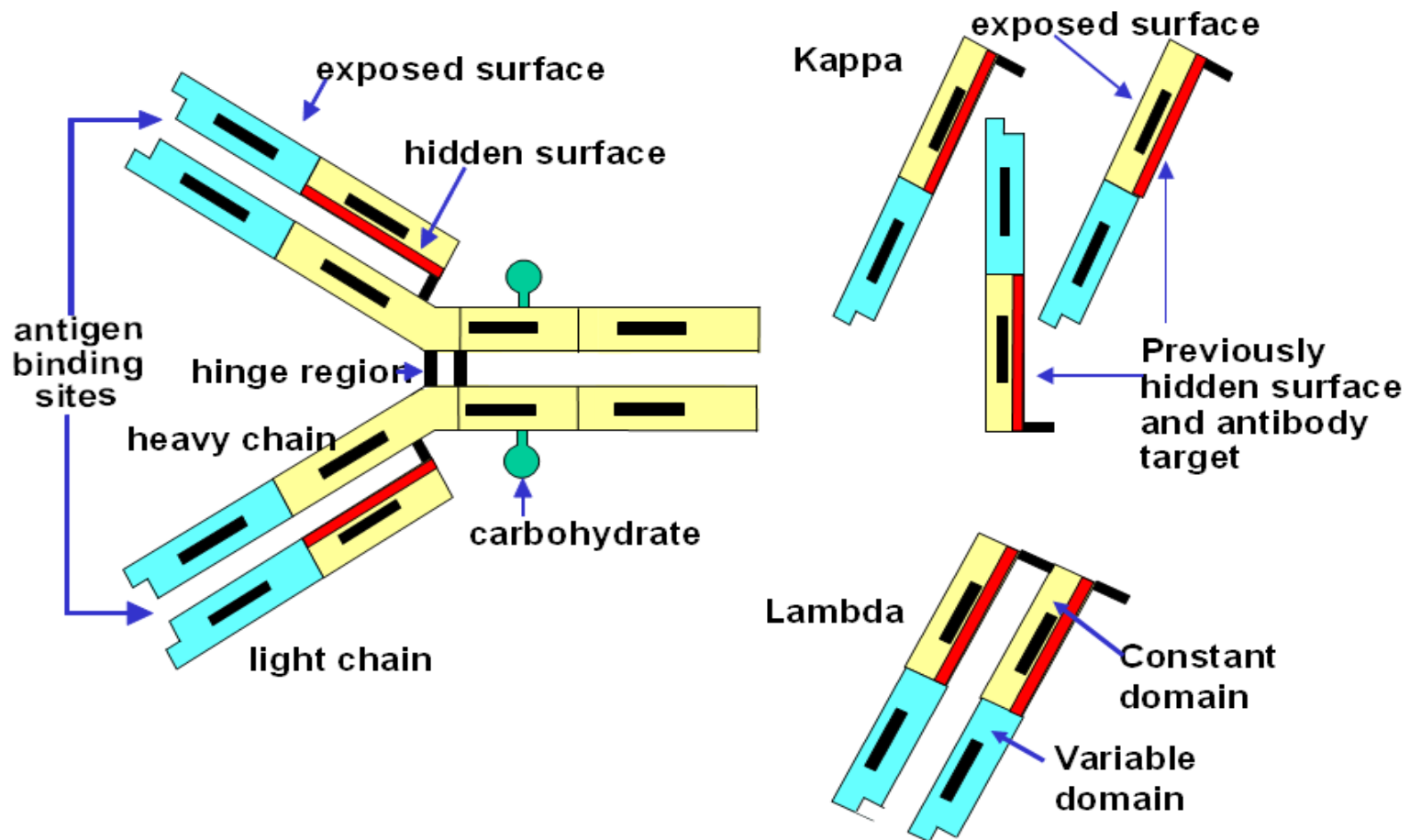
# Poškození ledvin při MGRS



# Porovnání senzitivity jednotlivých testů pro průkaz M-proteinu



# Struktura imunoglobulinů a možnosti detekce volných lehkých řetězců (FLC)



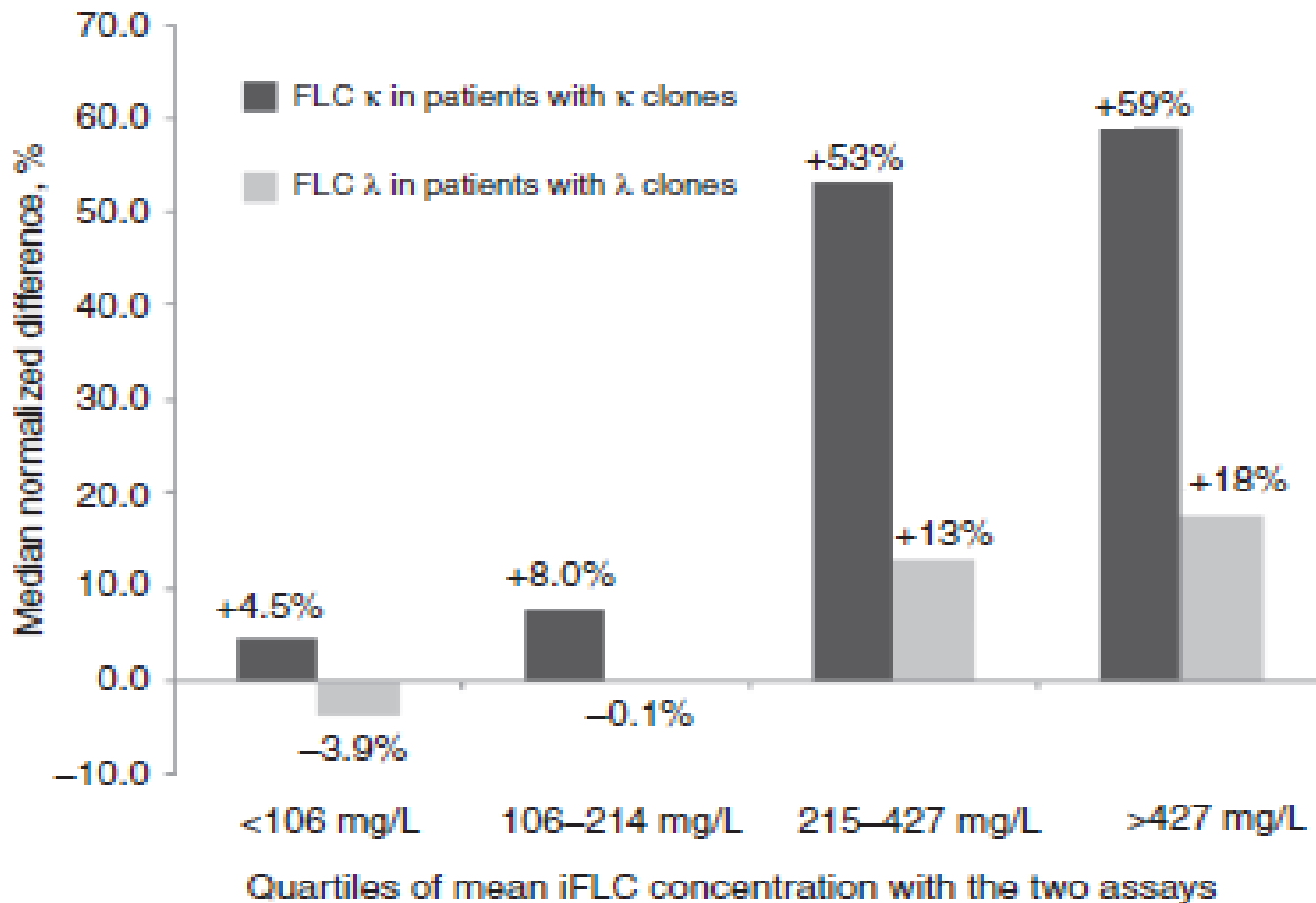
# Senzitivita jednotlivých testů pro detekci M prot. u AL amyloidózy za použití metody Freelite

IFE	Mayo clinic [7]	Pavia [8]	Pavia [8]	Heidelberg [9]	Brisbane [10]	Boston [11]
	Standard	Standard	High resolution	Standard	Standard	Standard
n	581	115	115	133	31	169
%	%	%	%	%	%	%
SPEP	65.9	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated
SPEP+IFE	73.8	80	95	69	67	76
UPEP+IFE	Not stated	67	95	86	83	88
FLC ratio	88.3	76	76	87 <sup>c</sup>	97	75
SPEP and FLC ratio	96.2	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated
SPEP+IFE and FLC ratio	97.1 <sup>a</sup>	96 <sup>b</sup>	Not stated	Not stated	Not stated	Not stated
SPEP+IFE and UPEP+IFE	94.2	Not stated	100	92	90	96
SPEP+IFE and UPEP+IFE and FLC ratio	98.1	100	100	98	97	Not stated

## Senzitivita jednotlivých testů pro detekci M-prot. u AL amyloidózy (srovnání Freelite a N-Latex)

	Brisbane [12]			Pavia [13]		
	$\kappa$	$\lambda$	All	$\kappa$	$\lambda$	All
n	18	44	62	67	271	338
	%	%	%	%	%	%
SPEP+IFE	56	73	68	82	96	93
UIFE	89	80	82	81	88	87
SPEP+IFE+UIFE	89	89	89	84	97	94
Freelite FLC ratio	100	80	85	97	80	82
Freelite FLC ratio+SPEP+IFE+UIFE	100	98	98	100	97	98
N Latex FLC ratio	100	70	79	89	83	84
N Latex FLC ratio+SPEP+IFE+UIFE	100	98	98	95	99	98

# Rozdíl mezi metodami Freelite a N-Latex



**Figure 2:** Median percent difference in involved (amyloidogenic) FLC (iFLC) between measurements obtained with the Freelite and N latex FLC assays according to quartiles of mean of iFLC value with the two assays.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Journal of Immunological Methods

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jim](http://www.elsevier.com/locate/jim)



Research paper

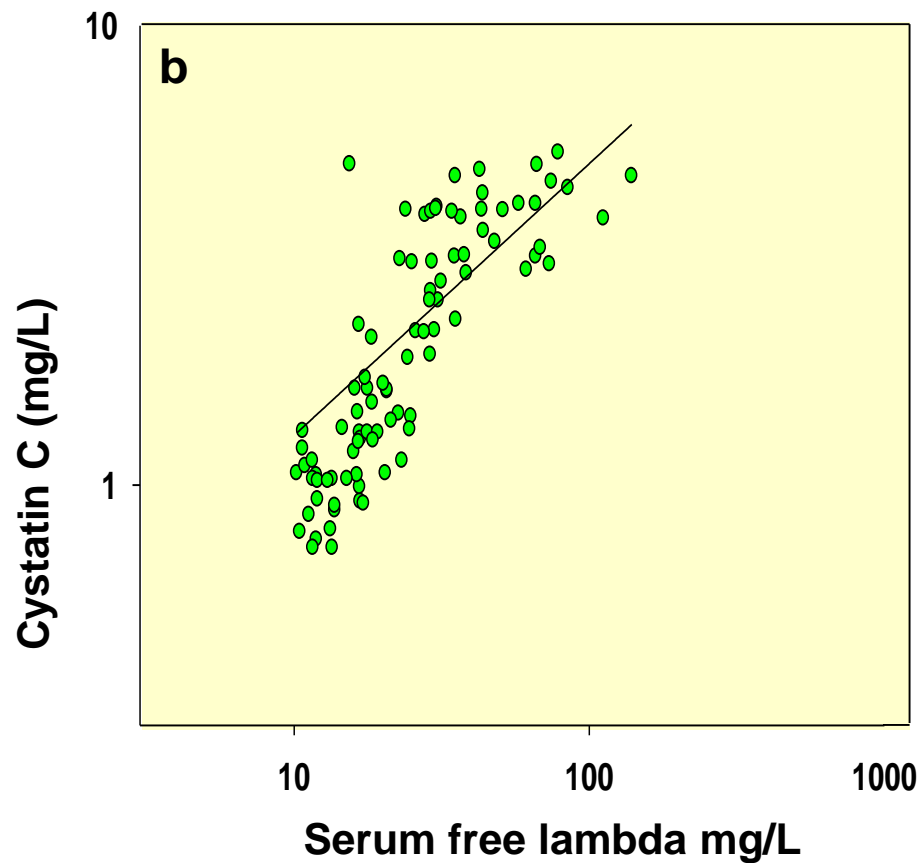
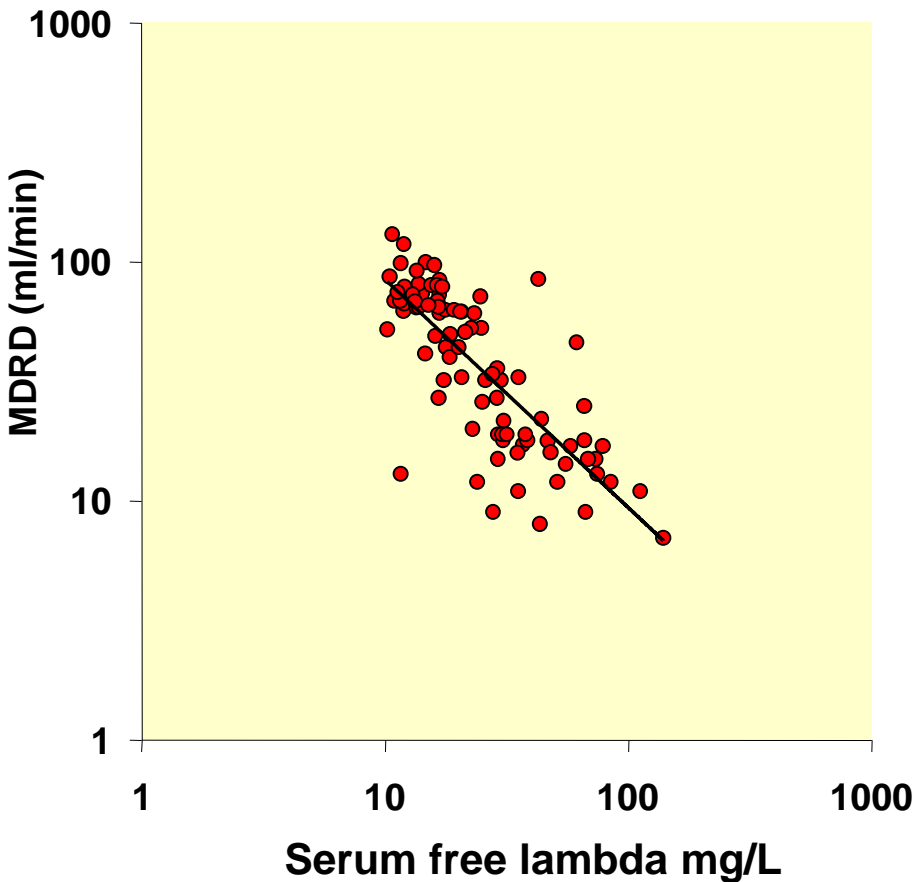
## Development of a highly-sensitive multi-plex assay using monoclonal antibodies for the simultaneous measurement of kappa and lambda immunoglobulin free light chains in serum and urine

John P. Campbell, Mark Cobbold, Yanyun Wang, Margaret Goodall, Sarah L. Bonney, Anita Chamba, Jane Birtwistle, Timothy Plant, Zaheer Afzal, Roy Jefferis, Mark T. Drayson \*

- Mouse anti-human FLC monoclonal antibodies (mAbs)
- Anti- $\kappa$  and anti- $\lambda$  FLC mAbs were, separately, covalently coupled to polystyrene Xmap® beads and assayed, simultaneously, in a multi-plex format by Luminex® (mAb assay)
- The assay gives good linearity and sensitivity (<1 mg/l)
- The mAbs displayed good concordance with Freelite™
- The mAb assay identified all monoclonal FLC in serum and all FLC in a large cohort of urine samples

# Korelace mezi sérovým FLC $\lambda$ a GF měřenou pomocí MDRD či cystatinu C

*(Bradwell AR. Serum Free Light Chain Analysis. 4<sup>th</sup> Edition. Binding Site. 2006)*



# Vliv CKD na koncentrace FLC a poměr $\kappa/\lambda$

- Krátký poločas FLC v plasmě ( $\kappa$  2-4 hod,  $\lambda$  3-6 hod)
  - 2-3 dny u nemocných s renálním selháním!
    - 20-30x vyšší hladiny sFLC u nemocných s CKD 5 v porovnání se zdravými
- **7-10% nemocných s CKD má MGUS**
  - Nejsou ale známky manifestního onemocnění (AL, MM)
- **8-10% nemocných po Tx ledviny má MGUS**
- *U CKD a nefrotického syndromu je v abnormálním močovém nálezu nutno počítat s falešně vyššími hladinami FLC z důvodu blokování zpětné resorpce FLC jinými proteiny (albumin...)*

# Vliv CKD na koncentrace FLC a poměr $\kappa/\lambda$

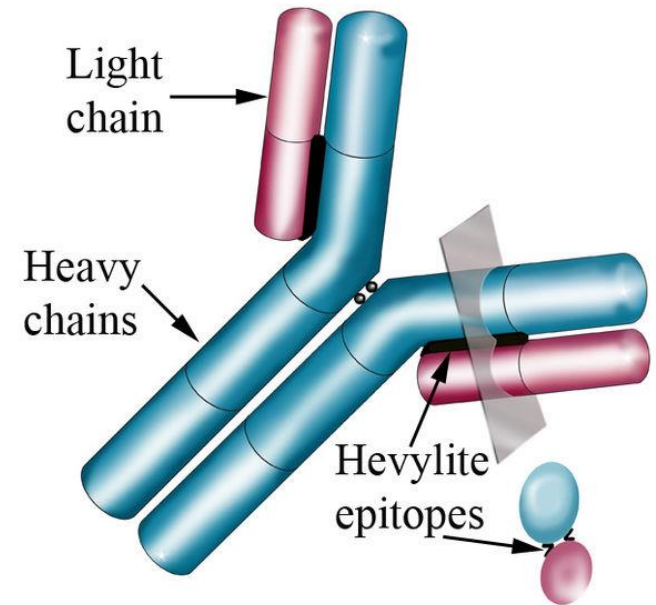
- Mění se poměr  $\kappa/\lambda$ 
  - **Zvyšuje** se v důsledku pomalejší degradace  $\kappa$  řetězců
    - U nemocných bez CKD je poměr  $\kappa/\lambda$  0,58 (0,26-1,65)

## Renální referenční interval

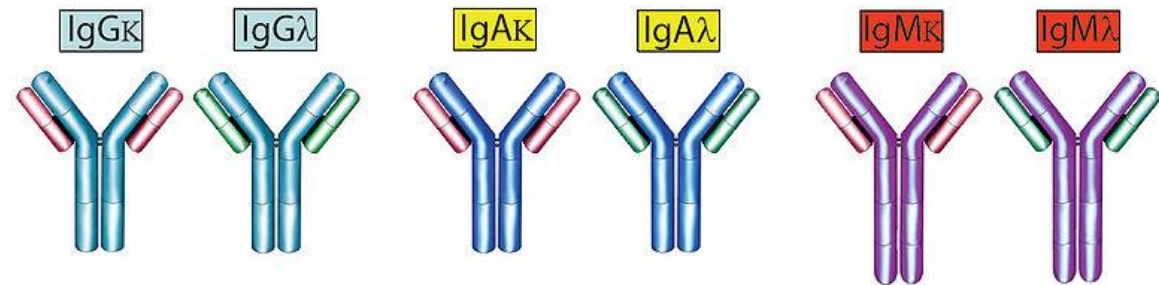
poměr $\kappa/\lambda$ sFLC	
0,37-3,1	<b>U pacientů s poškozením ledvin</b> svědčí hodnoty mimo rozsah ( $<0,37$ nebo $>3,1$ ) o přítomnosti monoklonálních FLC

# Metoda Hevylite

- Umožňuje identifikaci, typizaci a především **kvantifikaci** MG
- Unikátní junkční epitopy; identifikace pomocí ovčích protilátek
- Je schopna detekovat všechny typy MG, nejen FLCs; přínosem zejména u IgA a IgM
- Indexy nejsou zkresleny změnou objemu krve, HTC ani variabilitou produkce IgG
  - Schopen odlišit produkci monoklonálních Ig od fyziologické polyklonální produkce
  - Není ovlivněna úrovní CKD



# Hevylite



HLC	Mean	Median	95% range
IgGκ (g/L)	7.10	6.75	3.84-12.07
IgGλ (g/L)	3.95	3.90	1.91-6.74
IgGκ/IgGλ ratio	1.84	1.74	1.12-3.21
IgAκ (g/L)	1.35	1.37	0.57-2.08
IgAλ (g/L)	1.18	1.25	0.44-2.04
IgAκ/IgAλ ratio	1.20	1.18	0.78-1.94
IgMκ (g/L)	0.71	0.63	0.19-1.63
IgMλ (g/L)	0.39	0.35	0.12-1.01
IgMκ/IgMλ ratio	1.85	1.81	1.18-2.74

# Kdy vyšetřovat močovou IFE či FLC u nemocných s CKD

*(Yadav P et al. Kidney Int 2015; 87, 692–697)*

Chronic kidney disease  
with proteinuria and/or declining kidney function

SPEP/IFE and serum FLC\*\*

\*\*UPEP/UIFE if serum FLC negative and any clinical suspicion of a paraprotein related kidney disease or if SPEP/IFE positive and serum FLC negative

Paraprotein  
absent

Paraprotein  
present

- 
- U kterých diagnóz je nutné monitorovat FLC či jiné parametry?

# Diagnostická kritéria MGUS, SMM, MM

Srovnání diagnostických kritérií pro MGUS, SMM a MM; upraveno dle Myelomové sekce České hematologické společnosti a České myelomové skupiny (Hájek, 2016) a doporučení IMWG z 2014 (Rajkumar *et al.*, 2014).

	MGUS <sup>a</sup>	SMM	MM
Sérový monoklonální protein	< 30 g/l <sup>b</sup> nebo Abnormální κ/λ FLC (<0,26 či >1,65) <sup>c</sup> Zvýšená hladina odpovídajícího iFLC <sup>c</sup> Nepřítomnost HC při imunofixaci <sup>c</sup>	IgG or IgA ≥ 30 g/l	není součástí kritérií <sup>d</sup>
Močový monoklonální protein	< 500 mg/24 h <sup>c</sup> a zároveň	≥ 500 mg/ 24 h nebo	není součástí kritérií <sup>d</sup>
Klonální PC v kostní dřeni	< 10 % <sup>b</sup> a zároveň	10-60 % a/nebo	≥ 10 % anebo prokázaný plazmocytom biopsií tkáně
Projevy definující myelom	nepřítomny a zároveň	nepřítomny a zároveň	≥ 1 z následujících (sedmi) kritérií: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Příznaky postižení koncových orgánů („CRAB kritéria“) přisouditelné klonální proliferaci plazmatických buněk (4 kritéria)</li> <li>• Biomarkery malignity (3 kritéria)</li> </ul>
Jiná poškození přisouditelná lymfoproliferaci	Není jiná B-lymfoproliferativní choroba, AL amyloidóza nebo LHCDD anebo jiný typ poškození organismu monoklonálním proteinem	nepřítomnost amyloidózy	

# Kritéria pro symptomatický myelom

**Projevy definující myelom;** upraveno dle Myelomové sekce České hematologické společnosti a České myelomové skupiny (Hájek, 2016) a doporučení IMWG z roku 2014 (Rajkumar *et al.*, 2014).

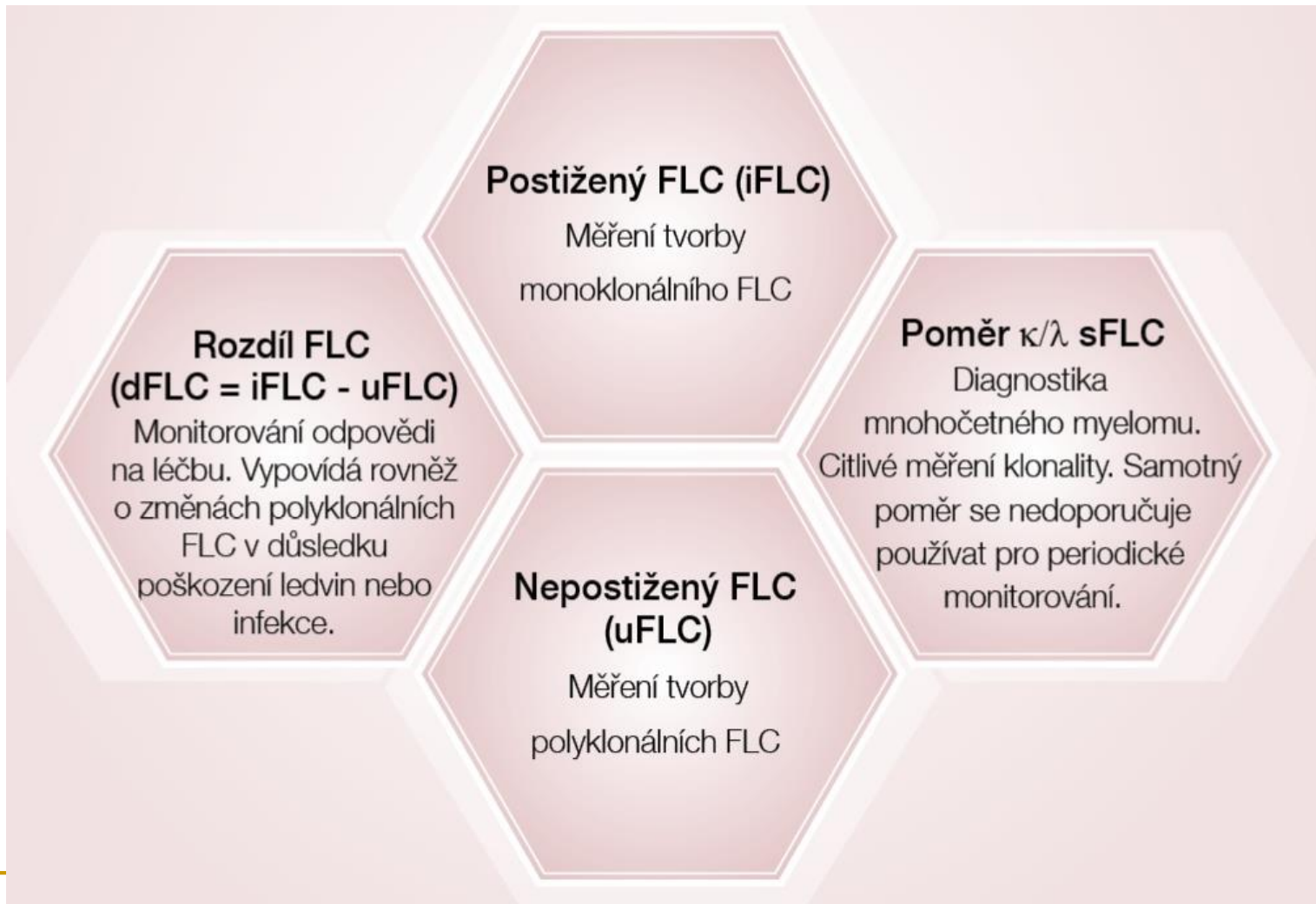
## Příznaky postižení orgánu a tkání („CRAB kritéria“) přisouditelné klonální proliferaci PC:

- |                           |  |
|---------------------------|--|
| C – hyperkalcemie:        | S-Ca > 2,75 mmol/l<br>nebo o 0,25 mmol/l nad horní hranici normálního rozmezí                    |
| R – renální insuficience: | S-krea > 177 μmol/l<br>nebo clearance kreatininu < 40 ml/min (< 0,67 ml/s)                       |
| A – anemie:               | Hgb < 100 g/l<br>nebo 20 g/l pod dolní hranici normálního rozmezí                                |
| B – kostní změny:         | Jedno či více osteolytických ložisek prokázané radiologickým vyšetřením, CT či PET/CT vyšetřením |

## Biomarkery malignity:

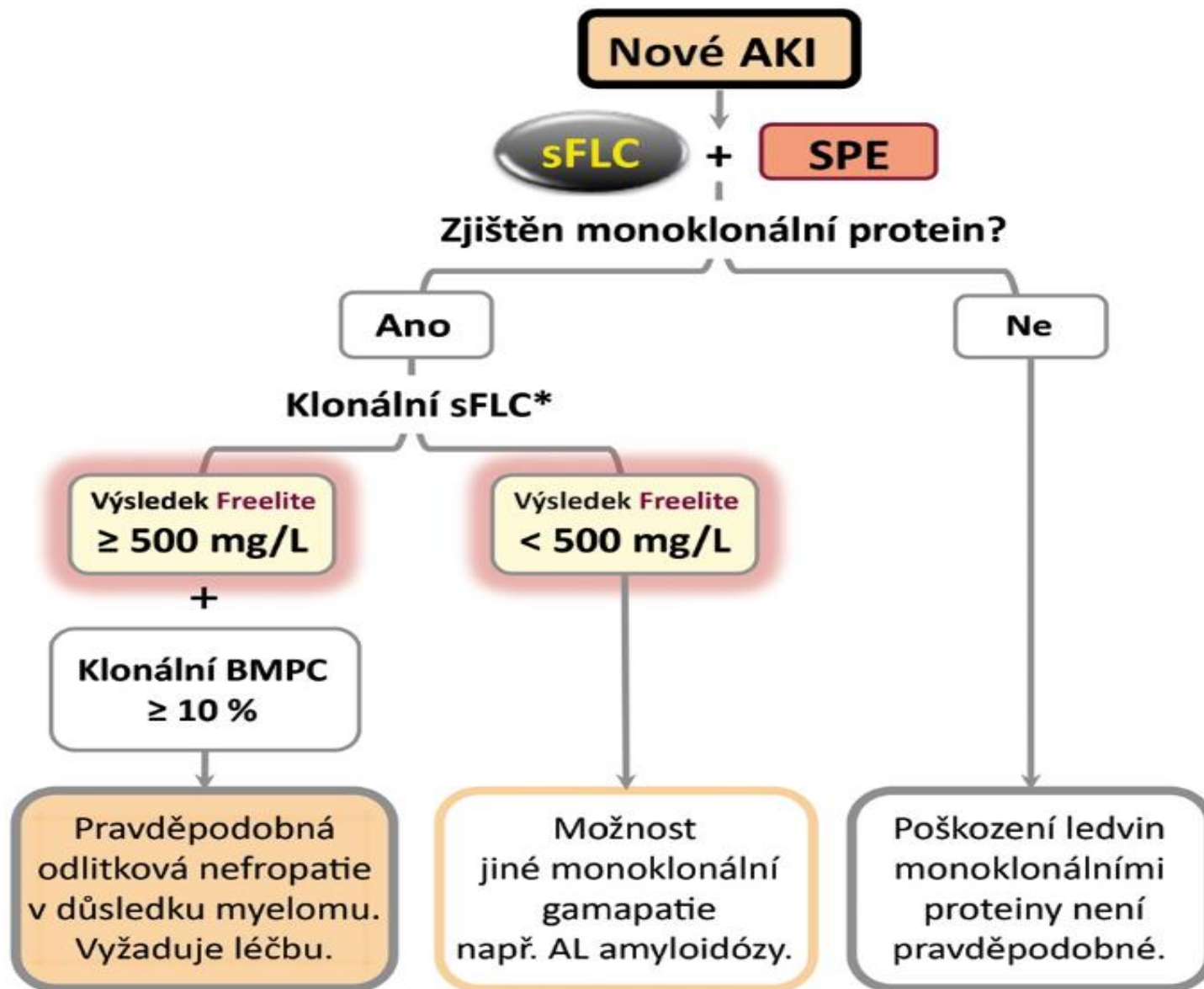
1. Klonální PC v kostní dřeni > 60 %
2. Poměr iFLC/uFLC  $\geq 100$
3. > 1 fokální ložisko na MRI o velikosti  $\geq 5$  mm

# O čem nás informují jednotlivé výsledky testu Freelite?

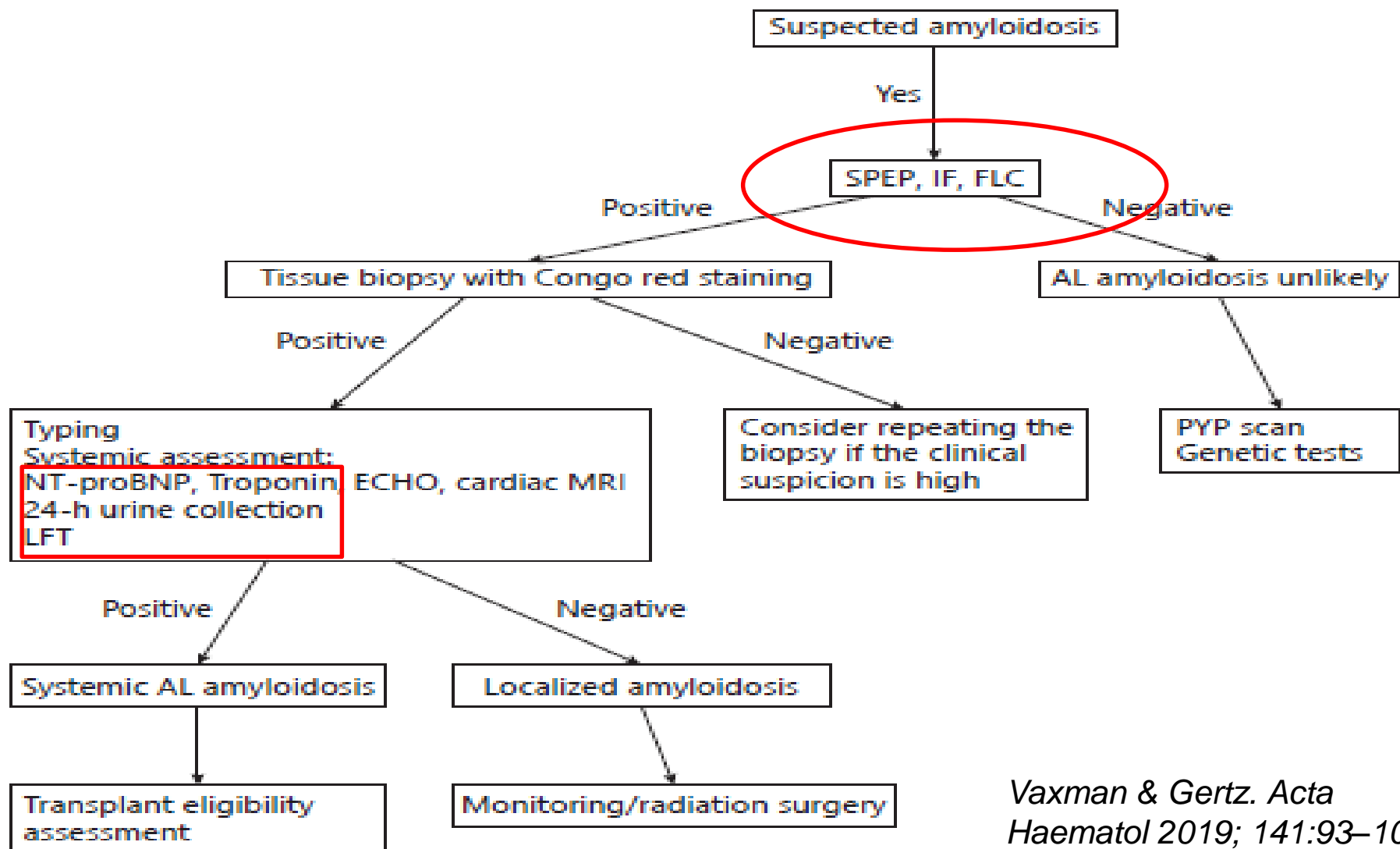


# Koncentrace FLC v difer. diag. nových a nejasných AKI

(Hutchison CA. *Nat Rev Nephrol* 2012;8:43-51)



# Diagnostický algoritmus při podezření na AL amyloidózu



# Definice hematologické odpovědi na léčbu

*(Palladini G et al. J Clin Oncol 2012;30(36):4541-4549)*

<i>Typ odpovědi</i>	<i>Zkratka</i>	<i>Kritérium</i>
Kompletní odpověď (remise)	CR	Negativní IF v séru i moči a normální poměr FLC κ/λ
Velmi dobrá odpověď	VGPR	dFLC < 40 mg/l
Parciální odpověď	PR	Pokles dFLC ≥ 50% proti baseline hodnotě
Bez odpovědi	NR	Ostatní

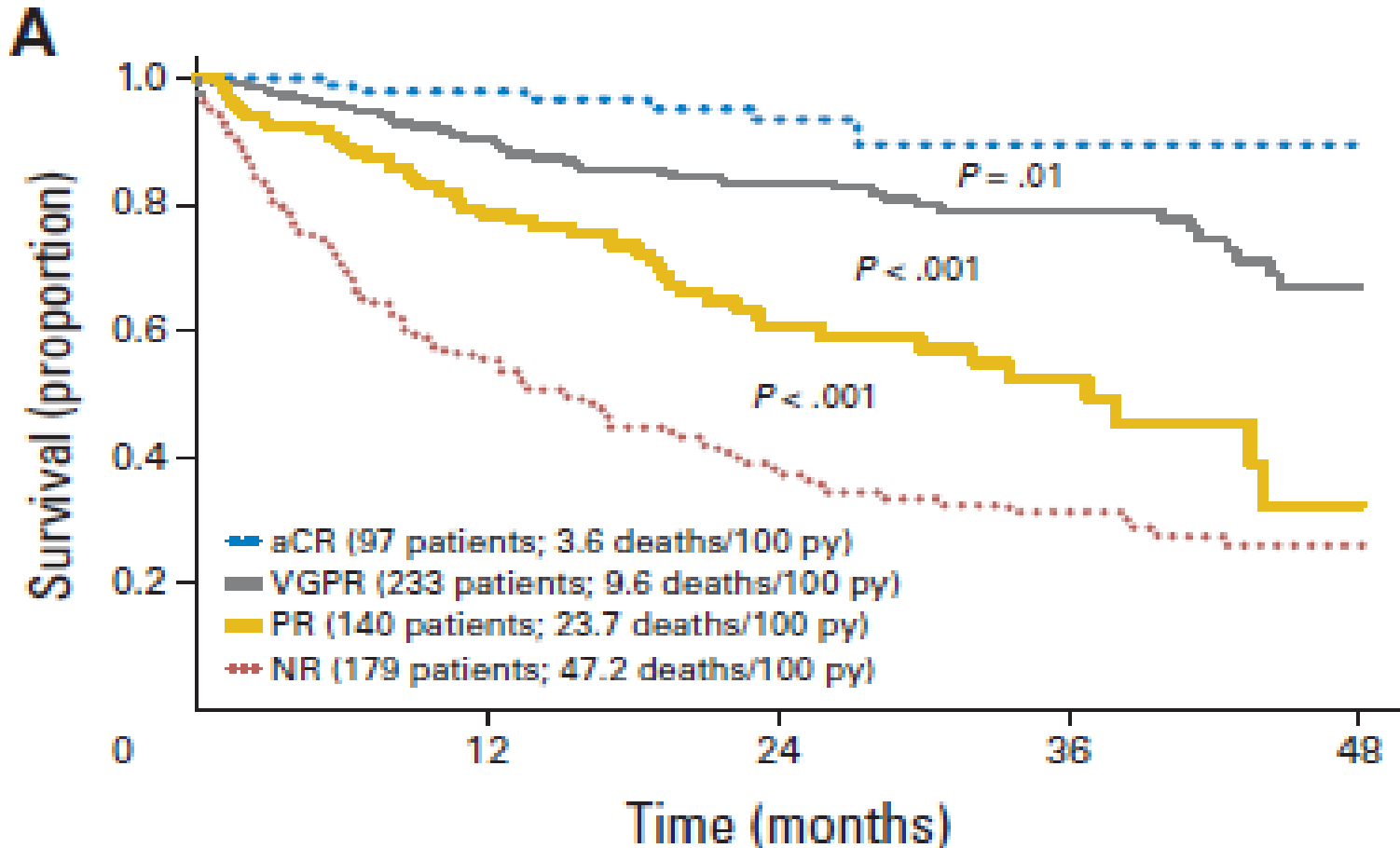
# Definice hematologické léčby

(Palladini G et al. J Clin Oncol 2012;30(36):4541-4549)

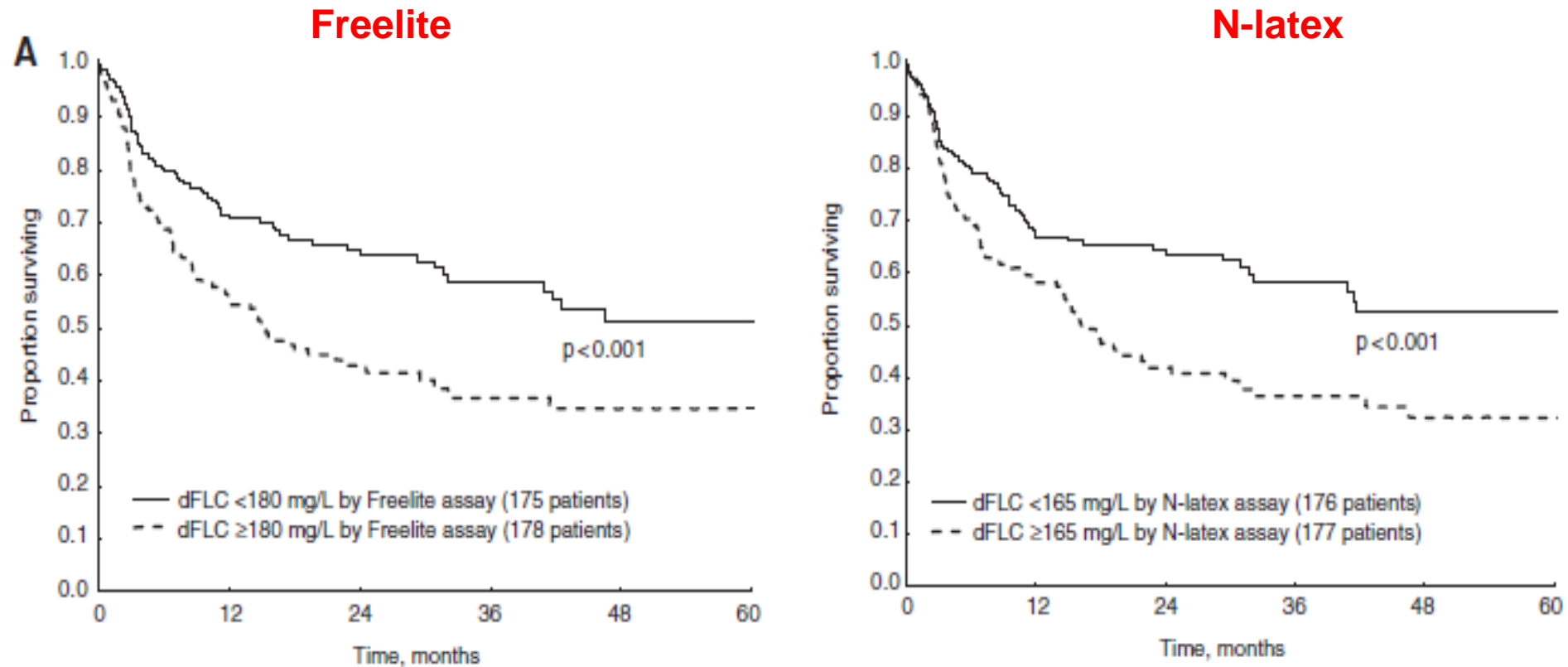
Při dosažení VGPR je  
pravděpodobnost OS  
v 3-letém sledování  
80-90%

<i>Typ odpovědi</i>	<i>Zkratka</i>	<i>Kritérium</i>
Kompletní odpověď (remise)	CR	Negativní IF v séru i moči a normální poměr FLC κ/λ
Velmi dobrá odpověď	VGPR	dFLC < 40 mg/l
Parciální odpověď	PR	Pokles dFLC ≥ 50% proti baseline hodnotě
Bez odpovědi	NR	Ostatní

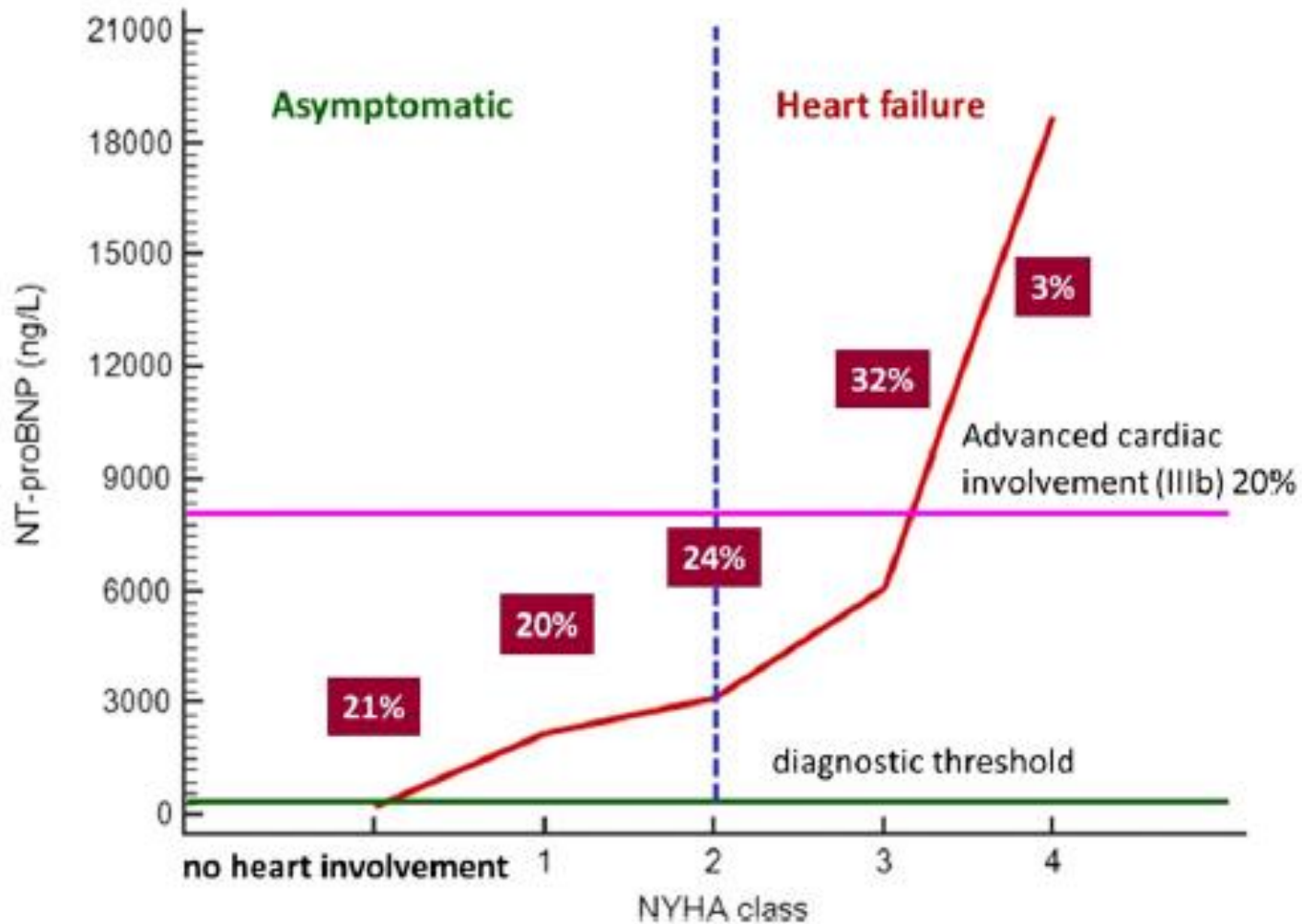
# Přežívání nemocných s AL amyloidózou v závislosti na hematologické odpovědi (649 nemocných, hodnocení po 6-měsících)



# Cut-off hodnoty pro přežívání nemocných vztahené k dFLC



# NT-proBNP jako marker srdečního postižení



# Markery kardiálního postižení a stádia choroby

## *Type of response*

## *Definition*

### Cardiac response and progression

<b>NT-proBNP response</b>	> 30% and > 300 ng/L decrease if baseline NT-proBNP $\geq$ 650 ng/L
<b>NT-proBNP progression</b>	> 30% and > 300 ng/L increase
<b>cTn progression</b>	$\geq$ 33% increase
<b>NYHA class response</b>	$\geq$ two-class decrease if baseline NYHA class 3 or 4
<b>EF progression</b>	$\geq$ 10% decrease

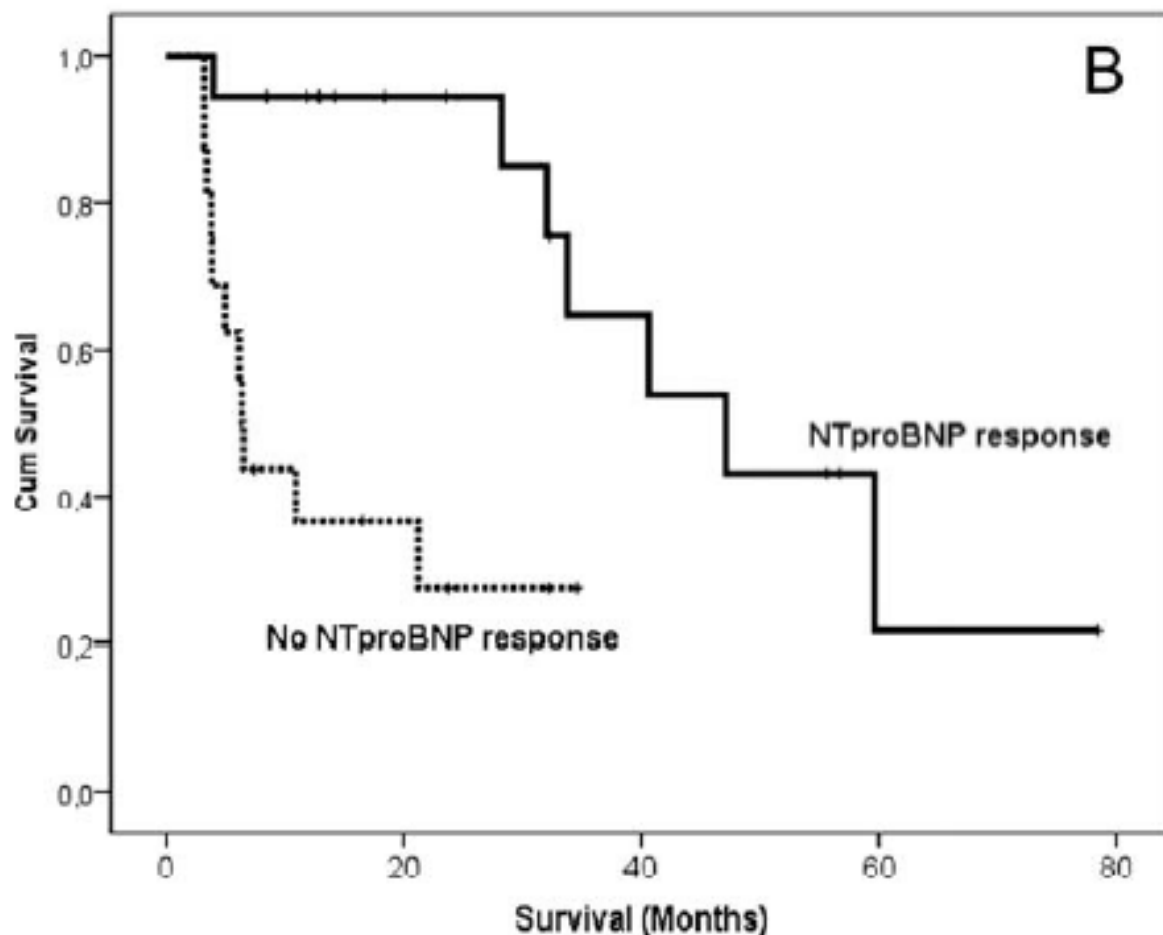
Revised staging system (Kumar et al,2012)

The revised staging system is based on NT-proBNP (cut-off point 1800 ng/L), cTnT (cut-off point 0.025 ng/mL), and dFLC (cut-off point 180 mg/L).

Stage I, II, III, and IV patients have none, one, two or three markers above the cut-off points, respectively

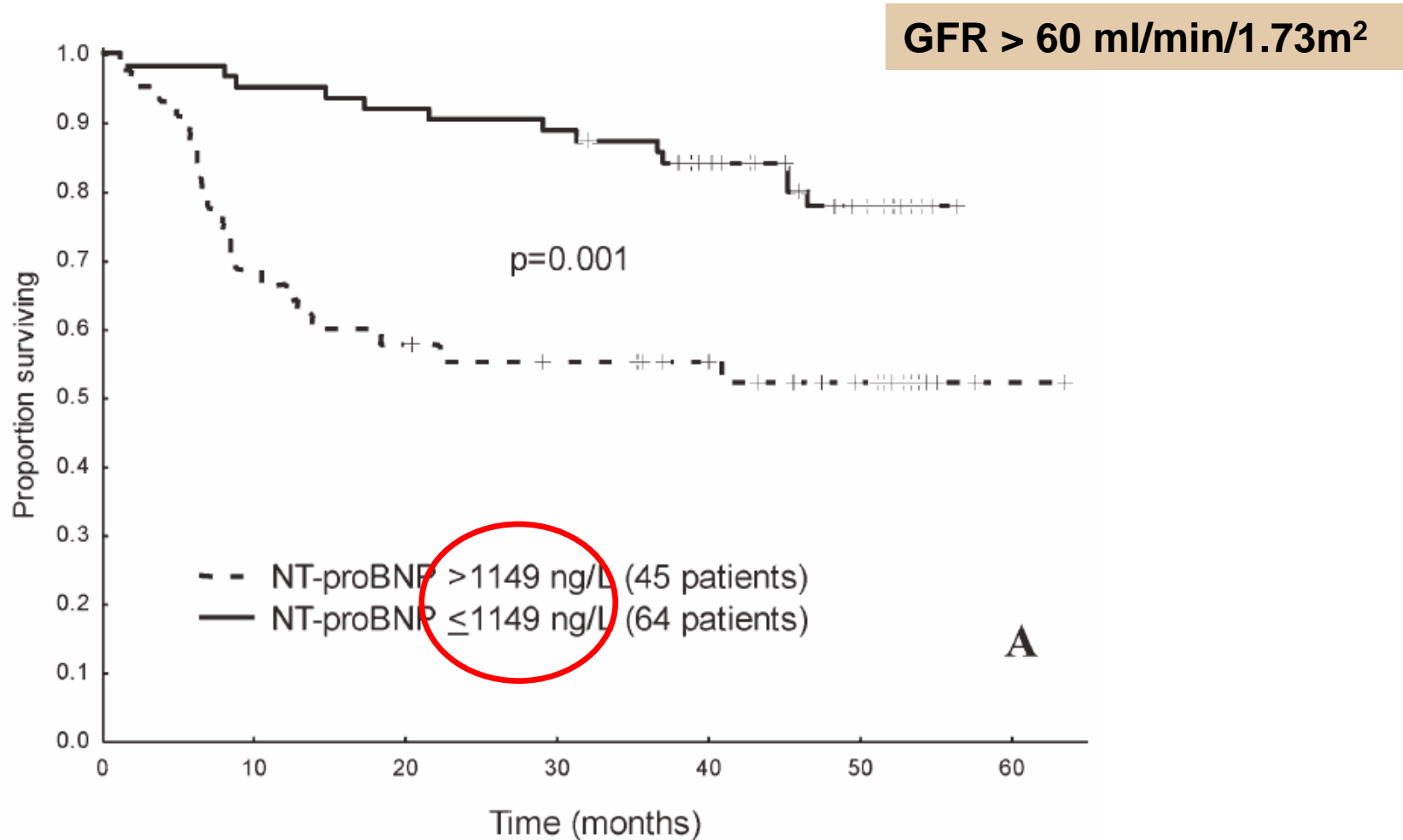
# Long-term outcomes of primary systemic light chain (AL) amyloidosis in patients treated upfront with bortezomib or lenalidomide and the importance of risk adapted strategies

Efstathios Kastritis,\* Maria Roussou, Maria Gavriatopoulou, Magdalini Migkou, Despina Kalapanida, Constantinos Pamboucas, Elisavet Kaldara, Argyrios Ntalianis, Erasmia Psimenou, Savvas T. Toumanidis, Anna Tasidou, Evangelos Terpos, and Meletios A. Dimopoulos



**3-měsíční přežití  
v závislosti na  
poklesu  
NT-proBNP**

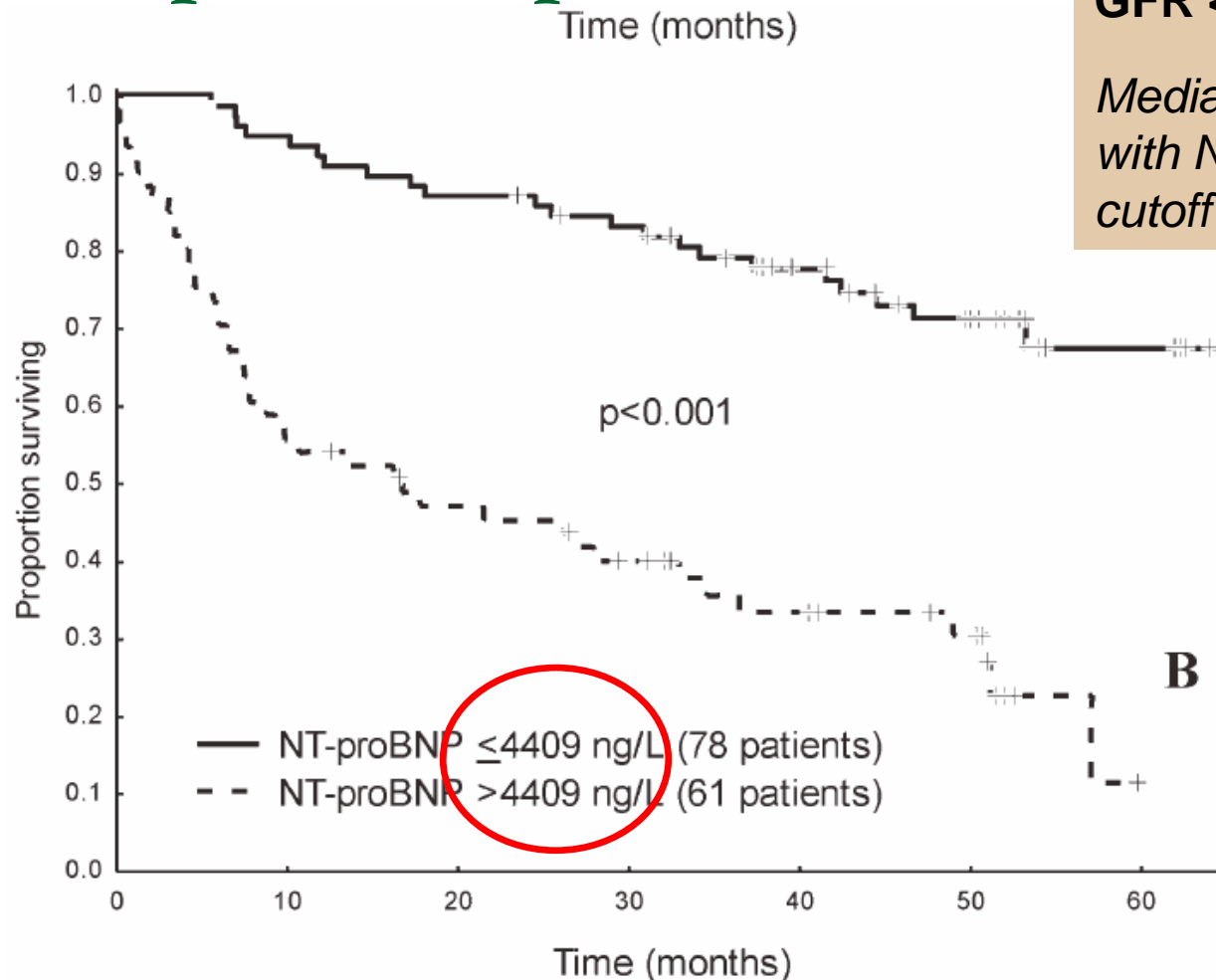
# Renální funkce ovlivňuje cutoff hodnotu NT-proBNP pro OS



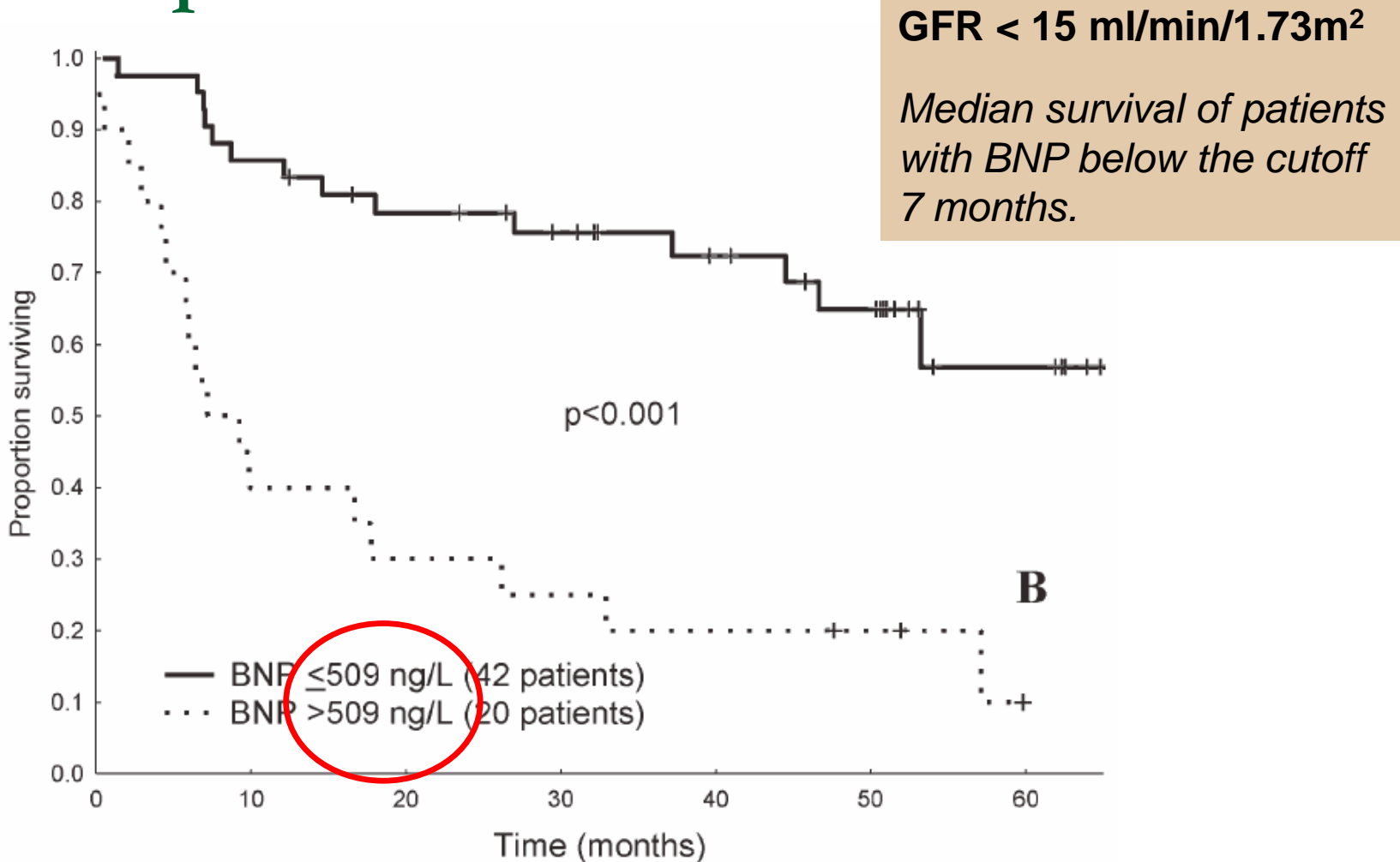
# Renální funkce ovlivňuje cutoff hodnotu NT-proBNP pro OS

GFR < 60 ml/min/1.73m<sup>2</sup>

*Median survival of patients with NT-proBNP below the cutoff 16 months.*



# Renální funkce ovlivňuje cutoff hodnotu BNP pro OS



---

# Best use of cardiac biomarkers in patients with AL amyloidosis and renal failure

Giovanni Palladini,<sup>1</sup> Andrea Foli,<sup>1</sup> Paolo Milani,<sup>1</sup> Paola Russo,<sup>1</sup> Riccardo Albertini,<sup>2</sup> Francesca Lavatelli,<sup>1</sup> Laura Obici,<sup>1</sup> Stefano Perlini,<sup>3</sup> Remigio Moratti,<sup>4</sup> and Giampaolo Merlini<sup>1,2\*</sup>

In AL amyloidosis prognosis depends on the severity of heart dysfunction which is best assessed by natriuretic peptides (BNP and NT-proBNP). However, their clearance relies on glomerular filtration rate (GFR) and their concentration increases with renal failure. We evaluated the diagnostic and prognostic performance of NT-proBNP and BNP in 248 patients with AL amyloidosis with different degrees of renal failure. Patients were grouped according to GFR. Group 1 comprised 109 patients with  $\text{GFR} \geq 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ , Group 2, 77 subjects with  $\text{GFR} < 60$  and  $\geq 15 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ , and Group 3, 62 patients with  $\text{GFR} < 15 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ . The ability of natriuretic peptides to detect heart involvement and to predict survival in the three groups was assessed. Decreasing eGFR required higher cutoffs of both NT-proBNP and BNP for detecting heart involvement and predicting survival. Both natriuretic peptides were independent prognostic markers in Groups 1 and 2, whereas in Group 3 only BNP independently predicted survival. Natriuretic peptides are powerful and useful markers of cardiac dysfunction and prognosis, provided that eGFR is considered in interpreting their clinical meaning. **BNP should be preferred in patients with end-stage renal failure.**

Am. J. Hematol. 87:465–471, 2012. © 2012 Wiley Periodicals, Inc.

---

# Stádia renálního postížení dle Mayo Clinic klasifikace

Stádium	Hodnoty proteinurie a eGFR
I	Proteinurie < 5g/den a současně eGFR > 50 ml/min
II	Proteinurie > 5g/den a nebo eGFR < 50 ml/min
III	Proteinurie > 5g/den a současně eGFR < 50 ml/min

# Kategorie renální odpovědi s ohledem na celkové přežívání nemocných

Kategorie	Redukce proteinurie
Kompletní renální odpověď (CRenal)	> 95 % redukce v proteinurii za 24 hod
Parciální renální odpověď (PRenal)	> 75 % redukce v proteinurii za 24 hod
Minimální renální odpověď (MRenal)	> 50 % redukce v proteinurii za 24 hod

---

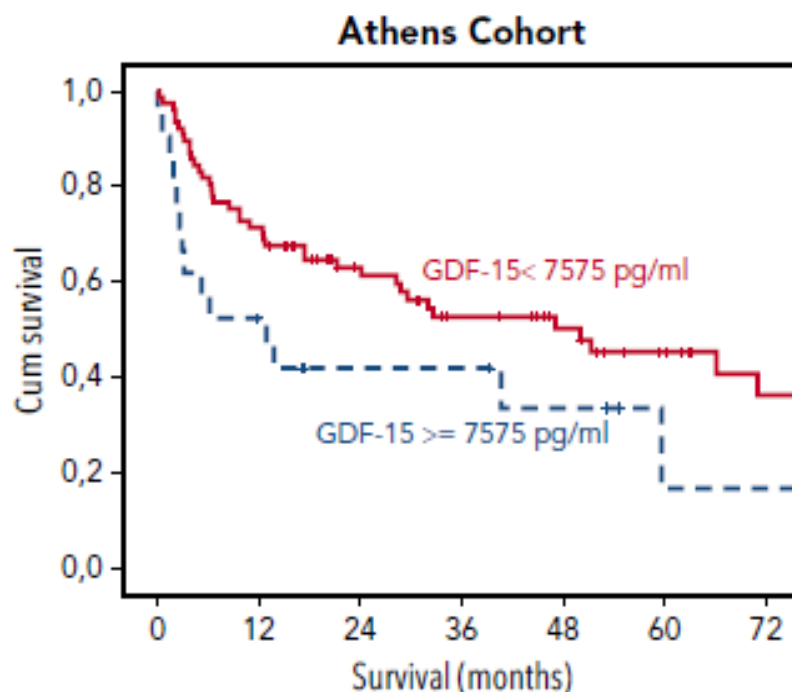
# Další biomarkery u AL amyloidózy

- Markery srdečního poškození
    - Soluble suppression of tumorigenicity 2 (sST2)
      - *Dispenzieri A et al. Am J Hematol. 2015; 90(6):524–528.*
    - Midregional proadrenomedullin (MR-proADM)
      - *Palladini G et al. Amyloid. 2011;18(4):216–221.*
  - Marker mortality a renálního poškození
    - Growth differentiation factor 15 (GDF-15)
-

# Growth differentiation factor-15 is a new biomarker for survival and renal outcomes in light chain amyloidosis

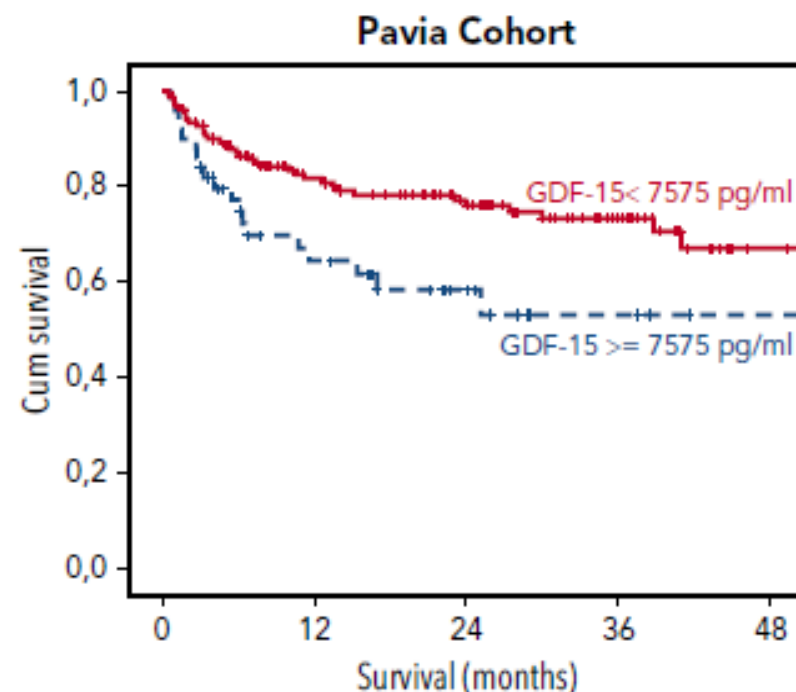
Efstathios Kastiris,<sup>1</sup> Ioannis Papassotiriou,<sup>2</sup> Giampaolo Merlini,<sup>3,4</sup> Paolo Milani,<sup>3,4</sup> Evangelos Terpos,<sup>1</sup> Marco Basset,<sup>3,4</sup> Athanasios Akalestos,<sup>2</sup> Francesca Russo,<sup>3,4</sup> Erasmia Psimenou,<sup>1</sup> Filia Apostolaki,<sup>2</sup> Maria Roussou,<sup>1</sup> Maria Gavriatopoulou,<sup>1</sup> Evangelos Eleutherakis-Papaiakovou,<sup>1</sup> Despina Fotiou,<sup>1</sup> Dimitrios C. Ziogas,<sup>1</sup> Elektra Papadopoulou,<sup>1</sup> Constantinos Pamboucas,<sup>1</sup> Meletios A. Dimopoulos,<sup>1</sup> and Giovanni Palladini<sup>3,4</sup>

**A**



GDF-15 < 7575 pg/ml	83	56	47	33	24	17	9
GDF-15 >= 7575 pg/ml	24	12	7	6	5	2	1

**B**

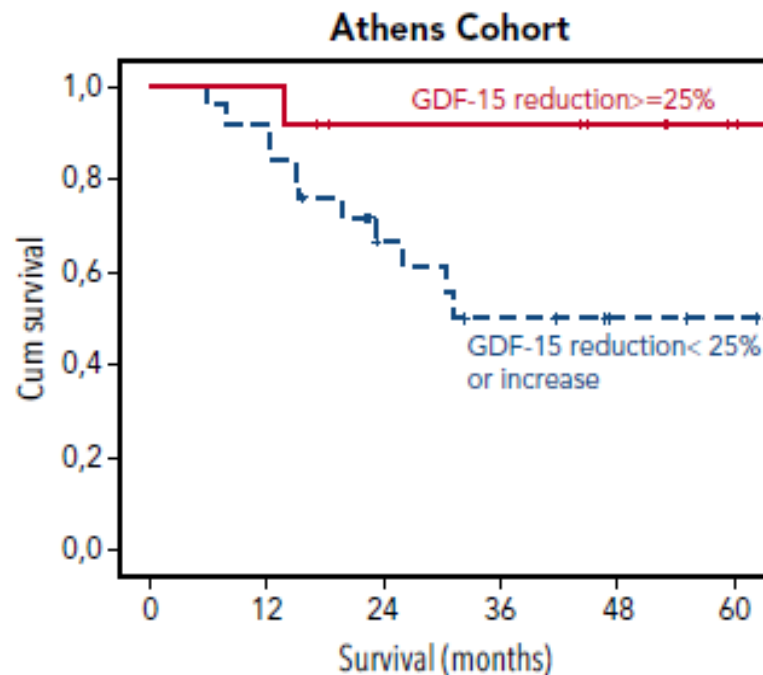


GDF-15 < 7575 pg/ml	152	81	33	15	1
GDF-15 >= 7575 pg/ml	50	19	8	3	1

# Growth differentiation factor-15 is a new biomarker for survival and renal outcomes in light chain amyloidosis

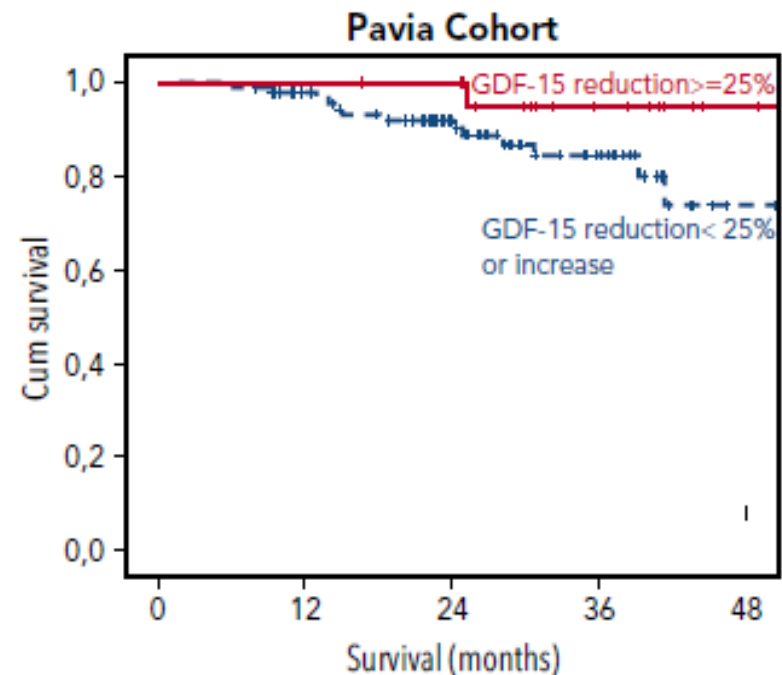
Efstathios Kastiris,<sup>1</sup> Ioannis Papassotiriou,<sup>2</sup> Giampaolo Merlini,<sup>3,4</sup> Paolo Milani,<sup>3,4</sup> Evangelos Terpos,<sup>1</sup> Marco Basset,<sup>3,4</sup> Athanasios Akalestos,<sup>2</sup> Francesca Russo,<sup>3,4</sup> Erasmia Psimenou,<sup>1</sup> Filia Apostolaki,<sup>2</sup> Maria Roussou,<sup>1</sup> Maria Gavriatopoulou,<sup>1</sup> Evangelos Eleutherakis-Papaiakovou,<sup>1</sup> Despina Fotiou,<sup>1</sup> Dimitrios C. Ziogas,<sup>1</sup> Elektra Papadopoulou,<sup>1</sup> Constantinos Pamboucas,<sup>1</sup> Meletios A. Dimopoulos,<sup>1</sup> and Giovanni Palladini<sup>3,4</sup>

**C**



GDF-15 reduction $\geq 25\%$	26	24	21	20	17	12
GDF-15 reduction $< 25\%$ or increase	50	43	33	20	12	7

**D**

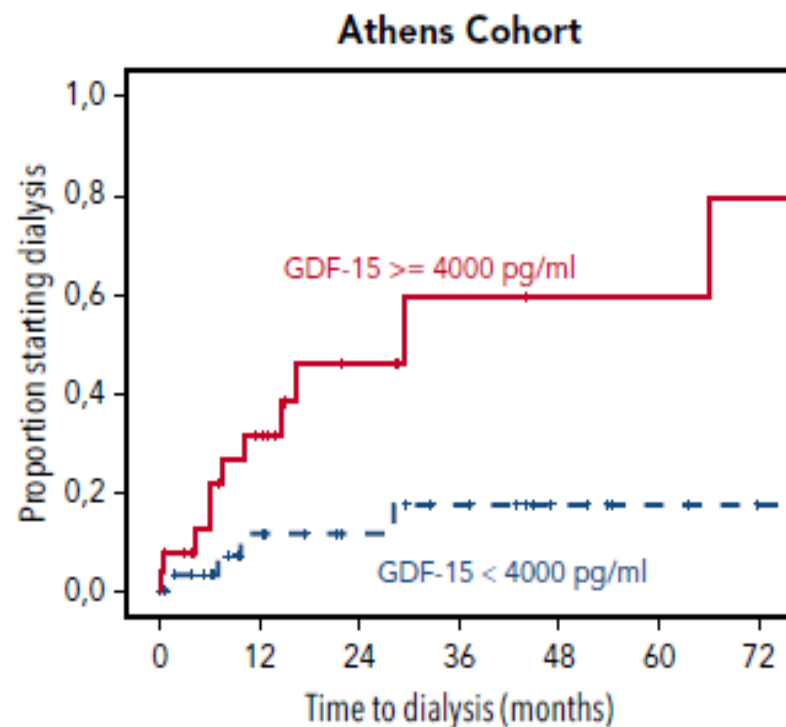


GDF-15 reduction $\geq 25\%$	21	18	9	4	2
GDF-15 reduction $< 25\%$ or increase	89	64	27	11	0

# Growth differentiation factor-15 is a new biomarker for survival and renal outcomes in light chain amyloidosis

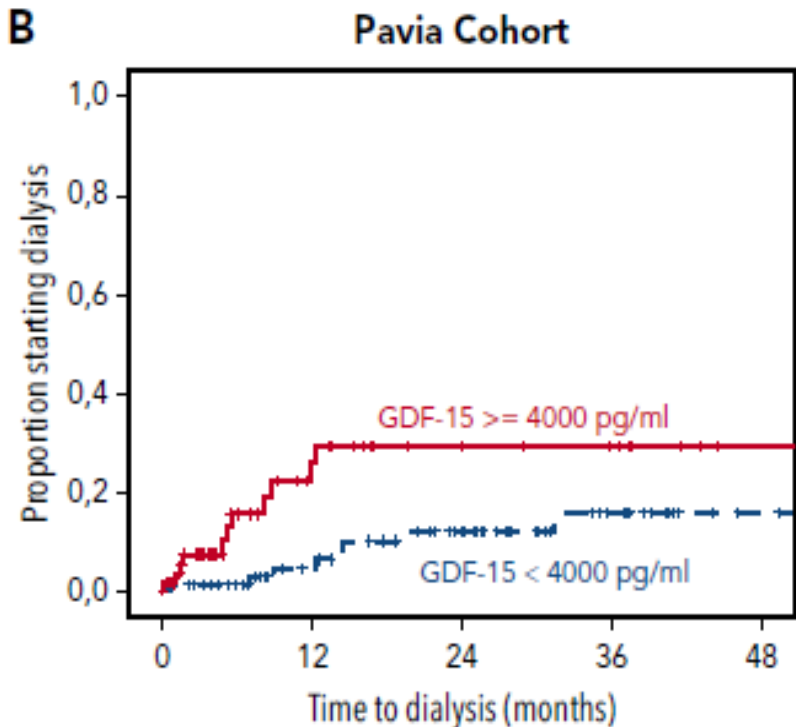
Efstathios Kastiris,<sup>1</sup> Ioannis Papassotiriou,<sup>2</sup> Giampaolo Merlini,<sup>3,4</sup> Paolo Milani,<sup>3,4</sup> Evangelos Terpos,<sup>1</sup> Marco Basset,<sup>3,4</sup> Athanasios Akalestos,<sup>2</sup> Francesca Russo,<sup>3,4</sup> Erasmia Psimenou,<sup>1</sup> Filia Apostolou,<sup>2</sup> Maria Roussou,<sup>1</sup> Maria Gavriatopoulou,<sup>1</sup> Evangelos Eleutherakis-Papaiakovou,<sup>1</sup> Despina Fotiou,<sup>1</sup> Dimitrios C. Ziogas,<sup>1</sup> Elektra Papadopoulou,<sup>1</sup> Constantinos Pamboucas,<sup>1</sup> Meletios A. Dimopoulos,<sup>1</sup> and Giovanni Palladini<sup>3,4</sup>

**A**



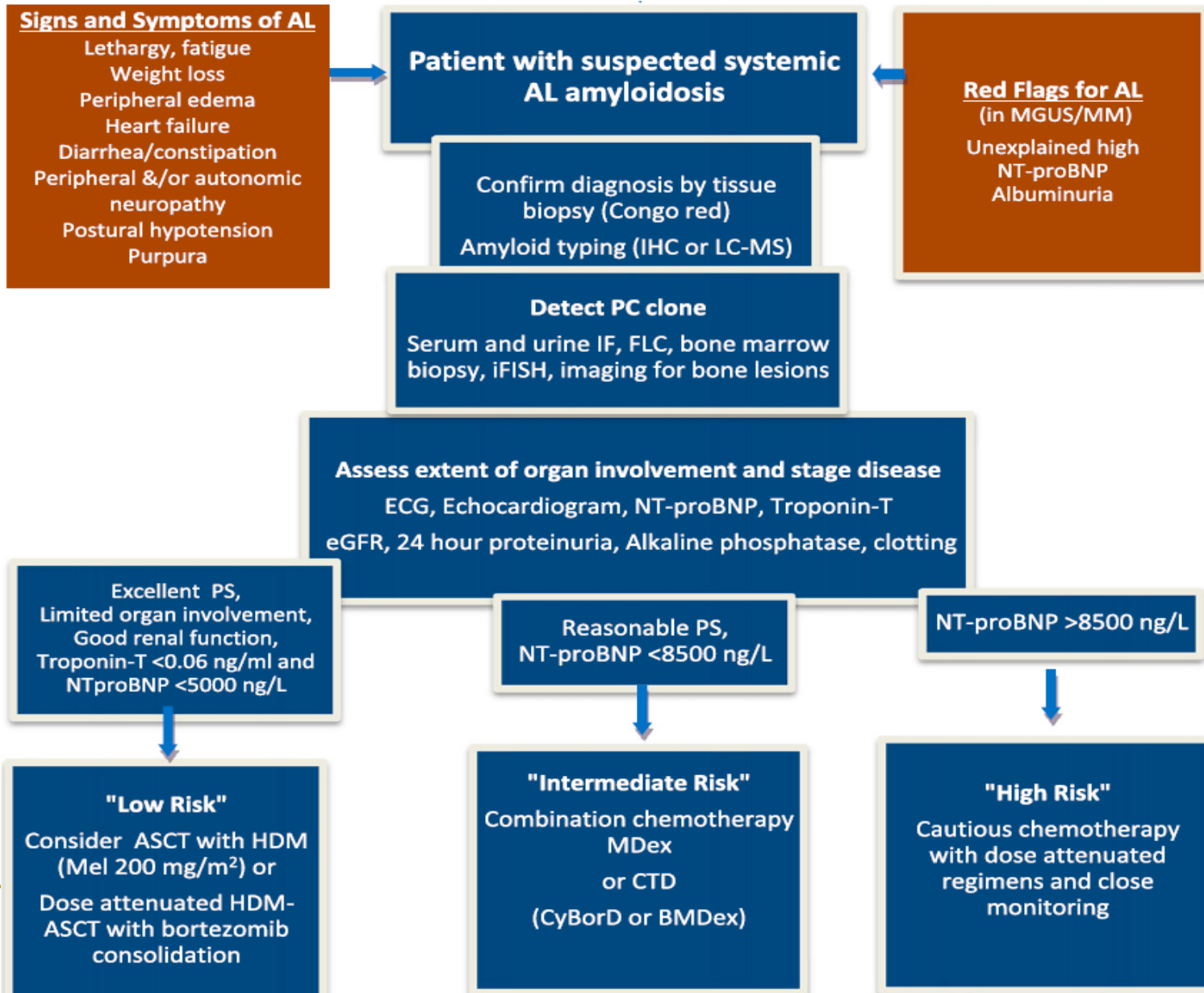
GDF-15 <4000 pg/ml	32	20	15	12	7	4	2
GDF-15 ≥4000 pg/ml	27	13	6	3	2	2	1

**B**



GDF-15 <4000 pg/ml	76	55	38	19	5
GDF-15 ≥4000 pg/ml	56	20	12	9	3

# Léčba podle „rizikovosti“



# „Take home message“

- Poškození ledvin u paraproteinémií (i „benigních“) je velmi časté
- K detekci přítomnosti M-proteinu je nezbytná:
  - Imunofixace séra
  - Koncentrace sFLC kappa i lambda a jejich poměr
  - *Imunofixace moči jen jsou-li předchozí dva testy negativní*
  - **ELFO séra pro diagnostiku nestačí**
- Vždy vyšetřit hodnoty S-kreatininu, eGF a proteinurie
- Měření sFLC je:
  - doporučováno pro **skríníng** všech monokl. gamapatií
  - hladiny sFLC mají **prognostickou hodnotu** a lze je použít pro detekci a monitoring relapsu
- Hladiny FLC a jejich poměr vždy interpretovat v kontextu změřené či kalkulované GF