

Cadenas ligeras: ¿totales o libres? Qué medir y por qué

RESUMEN

Encontrar el esquema diagnóstico más eficiente para asegurar la mayor sensibilidad y especificidad posible en la detección de proteínas monoclonales en pacientes con mieloma múltiple puede presentar algunas controversias. Es el caso de los inmunoensayos para la cuantificación de cadenas ligeras que sigue generando debate actualmente, aun cuando las evidencias clínicas son muy fuertes. Existen dos tipos de ensayo comercialmente disponibles en la actualidad para la determinación de cadenas ligeras κ y λ . Un tipo de inmunoensayo cuantifica las cadenas ligeras totales κ y λ (libre y unidas a las cadenas pesadas). Otro tipo de inmunoensayo cuantifica solamente las formas libres de κ y λ en forma específica, sin reaccionar con las formas unidas. El uso actual del ensayo de cadenas totales ocurre a pesar de las recomendaciones internacionales que indican que el método no es suficientemente sensible para su uso en la rutina clínica. Por ende, las muestras que contengan grandes cantidades de cadenas ligeras libres pueden ser completamente ignoradas usando la técnica de cadenas ligeras totales. Varios estudios compararon la sensibilidad de los métodos de cadenas ligeras totales y libres, con el fin de evaluar el efecto clínico. El objetivo de este artículo es aclarar algunos conceptos de los fundamentos del ensayo de cadenas ligeras libres en suero, distinguiéndolo del ensayo de cadenas ligeras totales en suero y comparar la utilidad clínica de ambas pruebas.

Palabras clave: inmunoensayos para cadenas ligeras en suero, mieloma múltiple, diagnóstico.

Light chains: Total or free? Which ones should be measured

ABSTRACT

Finding the most efficient diagnostic scheme that ensures the highest possible sensitivity and specificity for detection of monoclonal proteins in patients with multiple myeloma may present some controversy. This is the case of immunoassays for the quantification of light chains, which are still generating discussion although clinical endorsements are very strong. There are two types of assays commercially available currently that measure κ and λ light chains in serum. One type measures total (free and bound to heavy chains) light chains. The other type measures only free light chains. The current use of total light chain assay occurs in spite of international warnings that indicate the method is not sensitive enough for routine clinical use. Indeed, samples containing large amounts of free light chains may be completely missed using the total light chain technique. Different studies had compared the sensitivity

Florencia Delgado

Directora de Asuntos Científicos en Latinoamérica,
The Binding Site, Inc., San Diego, CA, Estados Unidos.

Recibido: 22 de enero 2015

Aceptado: 25 de marzo 2015

Correspondencia: Florencia Delgado PhD
The Binding Site Inc., 5889
92121 Oberlin Drive, San Diego, CA, USA
florencia.delgado@bindingsite.com.ar

Este artículo debe citarse como

Delgado F. Cadenas ligeras: ¿totales o libres? Qué medir y por qué. Rev Mex Hematol 2015;16:143-151.

between methods, both total and free light chain assays, in order to evaluate the clinical impact. The aim of this review article is to clarify some concepts about the foundations of the free light chain assay, distinguishing it from the total light chain assay and to compare the clinical utility of both tests.

Key words: immunoassays for serum light chains, multiple myeloma, diagnosis.

GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

Las gammapatías monoclonales tienen su origen en clones de células plasmáticas con proliferación descontrolada que producen inmunoglobulinas idénticas en exceso, lo que se observa generalmente como un “pico” en la zona gamma de las electroforesis de proteínas en suero. Este pico monoclonal, paraproteína o proteína M, que por lo general, aunque no universalmente se observa en estos pacientes, puede corresponder a un exceso de inmunoglobulina intacta, a un exceso exclusivo de cadenas ligera κ o λ producidas sin una cadena pesada asociada, o a ambas, tanto la inmunoglobulina intacta como su cadena ligera asociada, secretada de manera libre. Las gammapatías monoclonales más frecuentes incluyen: gammapatía monoclonal de significado incierto, mieloma múltiple y amiloidosis.¹

Cualquiera que sea el caso en cada una de estas enfermedades, la evaluación de la proteína monoclonal circulante es un pilar fundamental para diagnóstico, pronóstico y seguimiento y se ha convertido en una herramienta valiosa para el médico porque representa el marcador de producción tumoral.

Pruebas de laboratorio recomendadas

Con el objetivo de poner en evidencia esta producción de proteínas monoclonales y aclarar

el diagnóstico en pacientes con sospecha de mieloma múltiple, además del examen físico y el estudio de la médula ósea se debe realizar un minucioso estudio proteico que permita identificar el tipo y la cantidad de proteína monoclonal producida por el tumor.

Los estudios proteicos habitualmente utilizados para este fin incluyen:

- Electroforesis de proteínas en suero y orina.
- Medición de IgG, IgA e IgM en suero.
- Inmunofijación en suero y orina.
- Concentración y relación de cadenas ligeras libres en suero.

En 2009, el Grupo Internacional de Trabajo de Mieloma (*International Myeloma Working Group, IMWG*) elaboró un conjunto de recomendaciones acerca del esquema de diagnóstico inicial referido a la evaluación de la producción de proteína monoclonal por parte del paciente.² En estas guías, actualmente aceptadas y utilizadas en gran parte del mundo, se recomienda la realización de una electroforesis de proteínas en suero junto a la medición de cadenas ligeras libres sobre la misma muestra de suero y como reflejo (es decir, si una o ambas pruebas diera positivo) una inmunofijación en suero para tipificar la gammapatía monoclonal encontrada. Este esquema, que utiliza sólo suero como

fuente de investigación, ha demostrado ser el más eficiente y simple para cubrir el diagnóstico, considerando los diversos tipos de producción proteica que pudiera tener un potencial paciente con una gammapatía monoclonal. Tiene la ventaja adicional de no requerir análisis de las proteínas en orina de 24 horas *a priori* en todos los pacientes (excepto los casos de amiloidosis). Una actualización de estas recomendaciones internacionales la publicó recientemente el IMWG,³ dando un paso más hacia la identificación adecuada y temprana de pacientes con mieloma múltiple. En esta actualización, Rajkumar y su grupo sugieren utilizar una serie de biomarcadores de malignidad definidos junto al análisis de médula ósea del paciente para realizar el diagnóstico de mieloma múltiple. Entre estos biomarcadores establecen la relación de cadenas ligeras libres ≥ 100 como criterio de malignidad (relación cadena involucrada-cadena no involucrada). Las guías del IMWG establecen claramente que esa medición se debe realizar con el ensayo de cadenas ligeras libres en suero.³

Éste es el esquema y escenario diagnóstico actual; sin embargo, en algunos laboratorios se plantea la duda acerca del tipo de ensayo a realizar para la determinación de las cadenas ligeras en suero. En los próximos apartados se hablará de los fundamentos de cada uno de los ensayos y de su utilidad clínica.

Ensayo de cadenas ligeras libres en suero

Las células plasmáticas son las responsables de la producción de inmunoglobulinas intactas (IgG, IgA, IgM, IgD e IgE), además y aun en condiciones fisiológicas, estas células producen y secretan un exceso de cadenas ligeras κ o λ .⁴ Ambas cadenas, tanto κ como λ , circulan de manera libre, aunque en general, κ circula en forma de monómero (aproximadamente 25 kDa) mientras que λ lo hace como dímero (aproximadamente 50 kDa). Las concentracio-

nes en suero de las inmunoglobulinas intactas rondan los g/L; por ejemplo, el valor normal de IgG es de aproximadamente 7 a 17 g/L (o, lo que es igual, 700 a 1,700 mg/dL o 7,000 a 17,000 mg/L), mientras que las cadenas ligeras libres circulan en sangre en condiciones normales en valores muy inferiores, unas 1,000 veces menores (valores de hasta 20 o 25 mg/L o, lo que es igual, 2-2.5 mg/dL). Las concentraciones séricas de cadenas ligeras libres dependen del equilibrio entre la producción por las células plasmáticas y el metabolismo renal. Por ello, en circunstancias normales muy poca cantidad de κ y λ se encontrará en la orina, el riñón es muy eficiente en su función mientras no se vea sobrepasado en su capacidad de reabsorción por una excesiva producción.⁴ Alrededor de 30 gramos de proteínas pequeñas pueden ser metabolizadas al día por el riñón y, teniendo en cuenta que la producción normal de κ y λ es de alrededor de 0.5-1 gramo diario, es fácil comprender que muy poca proteína aparecerá en la orina.⁴ Las inmunoglobulinas intactas, por otro lado, tienen otro mecanismo de metabolización que no utiliza al riñón como órgano de filtrado.⁵

Sin olvidar que κ o λ también formarán parte de las inmunoglobulinas intactas, recordemos que hay enfermedades en las que sólo existe producción monoclonal de estas pequeñas proteínas. El 100% de los mielomas múltiples de cadena ligera,^{6,7} alrededor de 70% de los llamados mielomas múltiples no secretores⁸ (cuya denominación actual es mieloma múltiple oligosecretor) y la mayor parte de las amiloidosis producen sólo cadenas ligeras.⁹ Esto hace que sea fundamental contar con un método de laboratorio adecuado para su detección.

La medición de κ y λ ha evolucionado mucho desde su primera aparición en el mundo clínico, que data del año 1845.¹⁰ Estas “proteínas de Bence-Jones”, identificadas originalmente en la orina de pacientes con mieloma múltiple,

han recorrido un largo camino hasta hallar un método confiable, sensible y específico para su medición. La introducción en la última década del inmunoensayo de cadenas ligeras libres en suero que utiliza antisuero policlonal (Freelite, The Binding Site Group, Birmingham, UK) representó un gran avance en el tratamiento de las gammapatías monoclonales. Se trata de un ensayo que utiliza anticuerpos policlonales específicos para detectar cadenas ligeras κ y λ sólo cuando éstas se encuentren en forma libre, no unidas a las cadenas pesadas formando parte de las inmunoglobulinas (Figura 1).¹¹ La alta sensibilidad de este ensayo combinado con la posibilidad de calcular una relación κ/λ proporciona al médico la capacidad de medir la cantidad de cadena ligera libre producida por el tumor, identificar la existencia de la enfermedad monoclonal, evaluar las concentraciones de la cadena no implicada y también proporciona información del estado de recuperación inmunológico del paciente en tratamiento. Al medir directa y específicamente las formas libres se miden las formas clínicamente relevantes de las cadenas ligeras; por tanto, resulta una medición de mayor sensibilidad para la detección de la producción de estas proteínas asociadas con los trastornos de células plasmáticas, en comparación

con los ensayos de cadenas ligeras totales, acerca de los que se discutirá a continuación.

Los ensayos de medición de cadenas ligeras totales no son suficientemente sensibles para detectar los trastornos de células plasmáticas asociados con cadenas ligeras

Los ensayos de cadenas ligeras totales cuantifican las cadenas κ y λ libres y unidas (Figura 2) y, por tanto, tienen intervalos de referencia mucho mayores en suero que el ensayo de cadenas ligeras libres (Cuadro 1). Se ha reportado que el ensayo de cadenas ligeras totales detecta monoclonalidad de cadenas ligeras en muestras de suero cuando las concentraciones de estas proteínas son mayores a 4 o 5 g/L.^{12,13} Sin embargo, las mediciones de κ y λ totales y su relación no concuerdan de manera consistente con los resultados de la electroforesis o de la inmunofijación y, por tanto, no es una prueba recomendada para la clasificación o la vigilancia de los pacientes

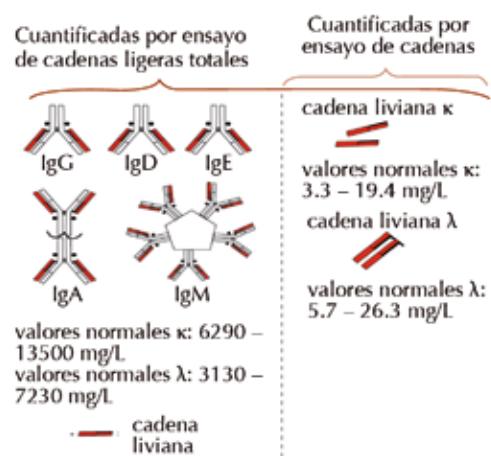
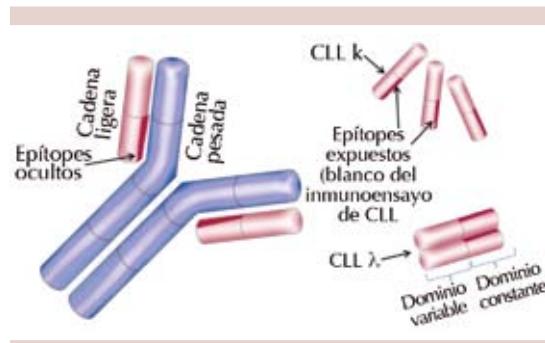


Figura 1. A. Diagrama de una inmunoglobulina intacta que muestra la estructura de las cadenas pesadas y ligeras. **B.** Diagrama de las cadenas ligeras libres κ y λ , que representan los distintos dominios sobre las cadenas ligeras y los epitopos que son reconocidos por el ensayo de cadenas ligeras libres en suero.

Figura 2. Esquematización de la medición de las cadenas ligeras κ y λ con los ensayos de cadenas ligeras totales y libres. El ensayo de cadenas ligeras totales cuantifica las cadenas ligeras libres y las unidas a las cadenas pesadas formando parte de las inmunoglobulinas. El ensayo de cadenas ligeras libres cuantifica sólo las formas libres de las cadenas ligeras.

Cuadro 1. Intervalos de referencia y valores límites inferiores de sensibilidad para los ensayos de cadenas ligeras libres y cadenas ligeras totales en suero

Parámetro	Intervalo de referencia kappa (mg/L)	Sensibilidad kappa (mg/L)	Intervalo de referencia lambda (mg/L)	Sensibilidad lambda (mg/L)
Cadenas ligeras libres (The Binding Site)	3.3-19.4	0.3	5.7-26.3	0.4
Cadenas ligeras totales (Beckman Coulter)	6,290-13,500	111	3,130-7,230	300
Cadenas ligeras totales (Roche)	1,380-3,750	300	930-2,420	300

con mieloma.¹² Debido a la concentración relativamente alta de inmunoglobulinas policlonales circulantes, la cuantificación de las formas libres monoclonales puede quedar completamente enmascarada. Los ensayos de cadenas ligeras totales son menos sensibles para la detección de trastornos de células plasmáticas asociados con las cadenas ligeras debido a la “interferencia” que ocasionan las inmunoglobulinas intactas cuyo aporte puede ocultar la detección de estas proteínas monoclonales. Uno de los mayores efectos negativos al utilizar el ensayo de cadenas totales se pone de manifiesto durante la vigilancia del tratamiento. El hecho de tener valores normales mayores no permite detectar pequeñas alteraciones de cadenas ligeras, por ejemplo, en una recaída o en la enfermedad residual.

La sensibilidad de ambos ensayos (cadenas ligeras libres en suero, Freelite® versus cadenas ligeras totales) se comparó en un estudio donde se evaluaron 16 muestras de suero de pacientes con cadenas ligeras monoclonales.¹⁴ Las 16 muestras arrojaron resultados anormales utilizando el ensayo de cadenas ligeras libres en suero, mientras que el ensayo de cadenas ligeras totales sólo detectó una anormalidad en 5 de las 16 muestras. Además, una muestra que contenía proteína monoclonal λ se clasificó erróneamente como κ por el ensayo de cadenas ligeras totales (Figura 3). Estos datos indican que el ensayo de cadenas ligeras totales no es capaz de discriminar de manera consistente muestras con mieloma de muestras normales de suero.¹⁴

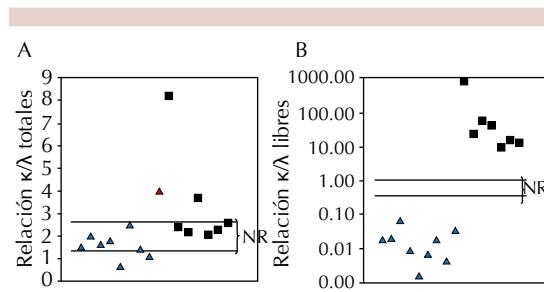


Figura 3. Comparación de la relación κ/λ de cadenas ligeras totales en suero (A) y la relación κ/λ de cadenas ligeras libres en suero (B) para la identificación de pacientes con producción de proteínas monoclonales de cadena ligera κ y λ .

Triángulos azules: pacientes λ ; cuadrados negros: pacientes κ ; triángulo rojo: paciente κ mal clasificado como λ por el ensayo de cadenas ligeras totales. NR: valor normal.

Significado clínico de cadenas ligeras libres vs totales

Las cadenas ligeras libres en suero se pueden detectar en concentraciones tan bajas como 0.3 mg/L (kappa) y 0.4 mg/L (lambda) utilizando el inmunoensayo de cadenas ligeras libres (Freelite®).¹¹ Asimismo, las mínimas concentraciones de cadenas ligeras totales detectadas son 111 mg/L y 300 mg/L (kappa) y 300 mg/L (lambda) con los ensayos de cadenas totales (otras dos compañías).

Las cadenas ligeras totales ofrecen poco valor clínico para el diagnóstico y vigilancia de gamma-

patías monoclonales. Según algunos autores, los beneficios del procedimiento de detección de cadenas ligeras totales son limitados y no se recomienda su uso.¹⁵ Se advierte que el método de medición de cadenas ligeras totales para la identificación de pacientes con mieloma múltiple de cadena ligera no es suficientemente sensible para su utilización clínica.¹⁵ Las mediciones de cadenas ligeras totales no están incluidas en las guías de criterios de respuesta ni de diagnóstico para pacientes con mieloma múltiple y enfermedades relacionadas.^{2,3,16,17}

Recientemente, un estudio mexicano efectuado de muestras de pacientes con mieloma múltiple mostró la poca capacidad de la cuantificación de cadenas ligeras totales en el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes.¹⁸ En este estudio, Zamora-Ortiz y su grupo evaluaron mediante las técnicas serológicas de laboratorio convencionales (electroforesis de proteínas en suero, inmunofijación en suero y determinación de cadenas totales en suero) la existencia de proteína monoclonal durante la presentación (62 pacientes) y el seguimiento (29 pacientes) del tratamiento contra mieloma múltiple. Este estudio encontró que la inmunofijación en suero diagnosticó 92% de los casos, evidenciando la existencia de la proteína monoclonal; en segundo lugar, la electroforesis de proteínas en suero mostró sensibilidad de 58%, mientras que la determinación de cadenas ligeras totales sólo logró identificar 45% de las alteraciones en la producción de proteína monoclonal. La baja sensibilidad diagnóstica de la determinación de cadenas ligeras totales en suero para estos pacientes proporciona una evidencia clínica adicional de la falta de valor clínico de esta prueba, en este caso, evaluada en una población de pacientes mexicanos.¹⁸ En este estudio se insiste en que el método usado para la cuantificación de cadenas ligeras (totales) no corresponde al más adecuado debido a que se miden cadenas totales y no libres; la medición de cadenas ligeras libres es considerablemente superior a la medición de

cadenas totales.¹⁸ Esta evidencia local no hace más que validar la recomendación internacional de desestimar el uso del ensayo de cadenas ligeras totales en el laboratorio de rutina para pacientes con discrasias de células plasmáticas; conclusiones que se avalaron y ampliaron en una carta al editor referida al mismo trabajo mexicano.^{18,19}

Asimismo, la utilidad del ensayo de cadenas ligeras libres en suero para el diagnóstico, pronóstico y vigilancia de gammapatías monoclonales ha sido extensamente estudiada por hematólogos y líderes en mieloma en todo el mundo y se ha incorporado en guías internacionales de manejo de pacientes:

Diagnóstico

El ensayo de cadenas ligeras libres en suero detecta:

- 94% de los pacientes con mieloma múltiple de inmunoglobulina intacta,²⁰
- 100% de los pacientes con mieloma múltiple de cadena ligera al momento de la aparición,^{6,7,21,22}
- 68% de los pacientes con mieloma múltiple no secretor, que no pueden ser diagnosticados por métodos tradicionales de laboratorio,⁸
- 98% de los pacientes con amiloidosis.^{1,9,23}

El ensayo de cadenas ligeras libres en suero tiene mayor sensibilidad que la inmunofijación en orina de 24 horas para la detección de mielomas.²⁴

Vigilancia

El ensayo de cadenas ligeras libres en suero se utiliza para medir la respuesta clínica al tratamiento de mieloma múltiple^{2,7,25,26} y amiloidosis.^{2,9,23,27,28}

El ensayo de cadenas ligeras libres en suero predice recaídas en mieloma múltiple de manera más temprana que la inmunofijación.²⁵

En amiloidosis, una reducción de 50% en la concentración de las cadenas ligeras libres involucradas tiene un importante valor pronóstico y se asocia con mejoría de la función orgánica.^{9,23}

Guías de manejo de pacientes

Las mediciones de cadenas ligeras libres en suero se han incorporado en muchas guías internacionales y nacionales en distintos países con directrices generales de manejo de pacientes; algunas de ellas son:

- Criterios actualizados para el diagnóstico del mieloma múltiple del Grupo Internacional de Estudio de Mieloma.³
- Lineamientos para el análisis de cadenas ligeras libres en suero del Grupo Internacional de Estudio de Mieloma.²
- The International Uniform Response Criteria in Multiple Myeloma.¹⁷
- Criterios de Respuesta en Amiloidosis.^{16,28}
- Simposio Internacional en Amiloidosis por un panel de consenso de la Sociedad Internacional de Amiloidosis.²⁸
- Guías Hematológicas: Mieloma Múltiple-Sociedad Argentina de Hematología.²⁹
- Lineamientos en el diagnóstico y manejo de mieloma múltiple: Asociación Brasileña de Hematología, Hemoterapia y Terapia Celular. Asociación Médica Brasileña.³⁰
- Manual de manejo de Mieloma Múltiple-Sociedad Venezolana de Hematología.³¹

- Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y Tratamiento del Mieloma Múltiple. México: Secretaría de Salud³² y Guías mexicanas de diagnóstico y recomendaciones terapéuticas contra mieloma múltiple (2009).³³

Las cadenas ligeras totales pueden perder un diagnóstico

En los distintos estudios citados se ha demostrado que la sensibilidad del ensayo de cadenas ligeras totales no es suficiente para asegurar la correcta detección de una concentración anómala de las proteínas monoclonales producida por el tumor de células plasmáticas. Esto se debe, en gran parte, a la falta de especificidad de detección, porque en la misma determinación se incluye la detección de grandes masas de proteínas polyclonales no implicadas en el proceso tumoral. Este “enmascaramiento” hace que en muchas ocasiones las elevaciones anormales de κ , λ y la alteración de su relación no se detecten a tiempo. Un retraso en el diagnóstico repercutirá de manera negativa en el estado clínico del paciente y sus posibilidades terapéuticas, también podría llevar a profundizar las complicaciones del mieloma en sí, como daño renal, enfermedad ósea, anemias, etc.³⁴

Un estudio comparativo reciente efectuado en Lima, Perú, mostró que 3 de 17 pacientes fueron mal diagnosticados al utilizar el ensayo de cadenas ligeras totales. Por el contrario, el inmu-noensayo de cadenas ligeras libres en suero logró identificar correctamente a los 17 pacientes. La existencia de proteína monoclonal se confirmó en todos los casos mediante una inmunofijación en suero (observaciones no publicadas). Esto demuestra, una vez más, que la especificidad y sensibilidad del ensayo de cadenas ligeras totales no son suficientes para la detección de elevaciones anormales de las cadenas ligeras κ y

λ y que su uso debe desestimarse en la clínica de rutina que comprende las pruebas relacionadas con la búsqueda de un diagnóstico correcto de mieloma múltiple y otras discrasias de células plasmáticas.

CONCLUSIONES

La clara necesidad de valorar y cuantificar las cadenas ligeras libres en suero y evaluar la relación κ/λ ha llevado a intensas investigaciones durante más de 150 años. La complejidad de las proteínas monoclonales para identificar y cuantificar ha hecho que sólo recientemente se logre contar con un reactivo de laboratorio capaz de cumplir con estándares de sensibilidad y especificidad necesarios para asegurar la correcta evaluación de los pacientes con discrasias de células plasmáticas, principalmente pacientes con mieloma múltiple. En este contexto, es importante resaltar que el inmunoensayo de cadenas ligeras libres en suero que utiliza un antisuero policlonal es la única prueba recomendada por las directrices del Grupo Internacional de Trabajo en Mieloma para el tamizaje, diagnóstico, pronóstico y vigilancia de pacientes con discrasias de células plasmáticas.^{2,3} Resulta imperioso, entonces, considerar las alternativas disponibles y utilizar aquéllas que nuestro compromiso profesional dicte como las más adecuadas para realizar nuestro trabajo diario de la manera más eficiente y útil posible para los pacientes.

REFERENCIAS

1. Katzmann JA. Screening panels for monoclonal gammopathies: time to change. *Clin Biochem Rev* 2009;30:105-111.
2. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, Miguel JS, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009;23:215-224.
3. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15:538-548.
4. Waldmann TA, Strober W, Mogielnicki RP. The renal handling of low molecular weight proteins. II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrome, or uremia. *J Clin Invest* 1972;51:2162-2174.
5. Kim J, Hayton WL, Robinson JM, Anderson CL. Kinetics of FcRn-mediated recycling of IgG and albumin in human: pathophysiology and therapeutic implications using a simplified mechanism-based model. *Clin Immunol* 2007;122:146-155.
6. Abraham RS, Katzmann JA, Clark RJ, Bradwell AR, et al. Quantitative analysis of serum free light chains. A new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis. *Am J Clin Pathol* 2003;119:274-278.
7. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC, Drayson MT. Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet* 2003;361:489-491.
8. Drayson M, Tang LX, Drew R, Mead GP, et al. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 2001;97:2900-2902.
9. Lachmann HJ, Gallimore R, Gillmore JD, et al. Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy. *Br J Haematol* 2003;122:78-84.
10. Clamp JR. Some aspects of the first recorded case of multiple myeloma. *Lancet* 1967;2:1354-1356.
11. 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;47:673-680.
12. Laine ST, Soppi ET, Mörsky PJ. Critical evaluation of the serum kappa/lambda light-chain ratio in the detection of M proteins. *Clin Chim Acta* 1992;207:143-149.
13. Jones RG, Aguzzi F, Bienvenu J, Gasparro C, et al. Use of immunoglobulin heavy-chain and light-chain measurements in a multicenter trial to investigate monoclonal components: II. Classification by use of computer-based algorithms. *Clin Chem* 1991;37:1922-1926.
14. Mariën G, Oris E, Bradwell AR, Blanckaert N, Bossuyt X. Detection of monoclonal proteins in sera by capillary zone electrophoresis and free light chain measurements. *Clin Chem* 2002;48:1600-1601.
15. Kyle RA. Sequence of testing for monoclonal gammopathies. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:114-118.
16. Gertz MA, Comenzo R, Falk RH, Fernand JP, et al. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, 18-22 April 2004. *Am J Hematol* 2005;79:319-328.
17. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20:1467-1473.

18. Zamora-Ortiz G, Velázquez-Sánchez-de-Cima S, Hernández-Reyes J, Martagón-Herrera NA, et al. Poor performance of the total kappa/lambda light chain quantification in the diagnosis and follow-up of patients with multiple myeloma. *Rev Invest Clin* 2014;66:314-318.
19. Delgado F, Kuus K. Comparison of free kappa and lambda light chain immunoassays and total (bound and free) kappa and lambda light chain immunoassays. *Rev Invest Clin* 2014;66:473-474.
20. Mead GP, Carr-Smith HD, Drayson MT, Morgan GJ, et al. Serum free light chains for monitoring multiple myeloma. *Br J Haematol* 2004;126:348-354.
21. Drayson MT, Morgan GJ, Jackson GH, et al. Prospective study of serum FLC and other M-protein assays: when and how to measure response? *Clin Lymphoma Myeloma* 2009;9:56.
22. Hutchison C, Plant T, Drayson M, Cockwell P, et al. Serum free light chain measurement aids the diagnosis of myeloma in patients with acute renal failure. *BMC Nephrol* 2008;9:1-18.
23. Palladini G, Russo P, Bosoni T, Sarais G, et al. Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine. *Clin Chem* 2009;55:499-504.
24. Nowrouzian MR, Brandhorst D, Sammet C, Kellert M, et al. Serum free light chain analysis and urine immunofixation electrophoresis in patients with multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2005;11:8706-8714.
25. Hassoun H, Reich L, Klimek VM, Dhodapkar M, et al. Doxorubicin and dexamethasone followed by thalidomide and dexamethasone is an effective well tolerated initial therapy for multiple myeloma. *Br J Haematol* 2006;132:155-161.
26. Alyanakian MA, Abbas A, Delarue R, Arnulf B, Aucouturier P. Free immunoglobulin light-chain serum levels in the follow-up of patients with monoclonal gammopathies: correlation with 24-hr urinary light-chain excretion. *Am J Hematol* 2004;75:246-248.
27. Wechalekar AD, Hawkins PN, Gillmore JD. Perspectives in treatment of AL amyloidosis. *Br J Haematol* 2008;140:365-377.
28. Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, Kumar S, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J Clin Oncol* 2012;30:4541-4549.
29. Fanti D. Guía hematológica de mieloma múltiple-Sociedad Argentina de Hematología. *Sociedad Argentina de Hematología* 2013:289-316.
30. Hungria VT, Crusoe EQ, Quero AA, Sampaio M, et al. Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma treatment: Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia e Terapia Celular Project guidelines: Associação Médica Brasileira-2012. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2013;35:201-217.
31. Manual de manejo de mieloma múltiple. *Sociedad Venezolana de Hematología* 2013:1-158.
32. Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento del mieloma múltiple. México: Secretaría de Salud, 2010:1-80.
33. Gómez-Almaguer D, Cano-Castellanos Raúl CL, Garcés-Ruiz Oscar M, Gómez-Almaguer David, et al. Guías mexicanas de diagnóstico y recomendaciones terapéuticas para mieloma múltiple (2009). *Revista de Hematología* 2010;11:40-62.
34. Kariyawasan CC, Hughes DA, Jayatillake MM, Mehta AB. Multiple myeloma: causes and consequences of delay in diagnosis. *QJM* 2007;100:635-640.