



Facultad de **Medicina**

GRADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

TRABAJO FIN DE GRADO

Establecimiento de valores de referencia en Cantabria para la presencia de cadenas ligeras libres en función del filtrado glomerular

Establishment of reference ranges in Cantabria for the presence of free light chains based on glomerular filtration rate

Autor/a: Andrea Tamayo Doce

Director/a: Marcos López Hoyos

Co-director/a: Juan Irure Ventura

Santander, 10 junio 2024

Índice

Resumen	2
Abstract	2
Palabras Clave	2
Resumen Gráfico	3
Introducción	4
Resultados	6
Análisis global y análisis por subgrupos de edad y TFG _e	6
Intervalos de referencia actuales para CLL κ , CLL λ y ratio κ/λ	7
Redefinición de los intervalos de referencia de CLL.....	7
Análisis multivariante de CLL, TFG _e , sexo y edad	8
Análisis estratificado en función del sexo	9
Discusión	10
Metodología	12
Agradecimientos	14
Bibliografía	15
Pies de Figuras	17
Pies de Figuras de la Información Suplementaria	18

Establecimiento de valores de referencia en Cantabria para la presencia de cadenas ligeras libres en función del filtrado glomerular

Andrea Tamayo Doce¹, Juan Irure Ventura^{2,3}, Marcos López Hoyos^{2,3*}

¹Facultad de Medicina (Universidad de Cantabria)

²Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL

³Departamento de Biología Molecular (Universidad de Cantabria)

* Autor para la correspondencia

Correo electrónico: marcos.lopez@scsalud.es

Resumen

La concentración sérica de las cadenas ligeras libres (CLL) se ve muy influenciada por la función renal. El objetivo de este estudio fue establecer nuevos rangos de referencia para las CLL en personas con enfermedad renal crónica (ERC) en base a la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe) utilizando una cohorte de 1.553 pacientes del Servicio Cántabro de Salud seleccionada desde 01/01/2019 a 31/12/2023. Para ello, se determinaron los intervalos de referencia central al 95% de los siguientes seis grupos estratificados en función de sus valores de TFGe: (G1 [≥ 90], G2 [60-89], G3a [45-59], G3b [30-44], G4 [15-30] y G5 [<15 ml/min/1,73 m²]) y se establecieron los nuevos intervalos de referencia renal: 0,67-2,10 (G1); 0,48-2,42 (G2); 0,67-2,85 (G3a); 0,65-2,78 (G3b); 0,77-2,67 (G4) y 0,80-2,42 (G5). Se concluye que los intervalos de referencia actual para la cuantificación de CLL Kappa y Lambda y el ratio Kappa/Lambda son inexactos y se propone la implementación de estos nuevos intervalos de referencia basados en la TFGe.

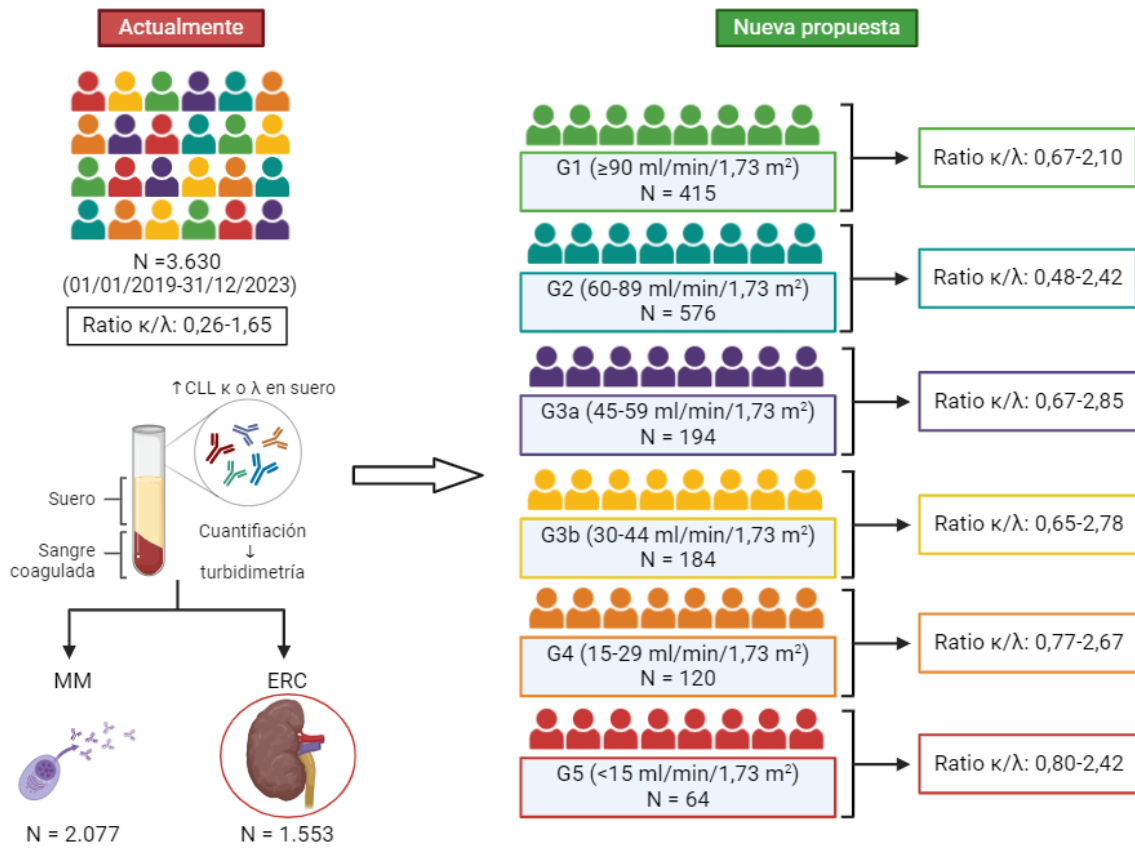
Abstract

The serum concentration of free light chains (FLC) is strongly influenced by renal function. The aim of this study was to establish new reference ranges for FLC in people with chronic kidney disease (CKD) based on estimated glomerular filtration rate (eGFR) using a cohort of 1553 patients from the Cantabrian Health Service selected from 01/01/2019 to 12/31/2023. For this purpose, central 95% reference intervals were determined for the following six groups stratified according to their eGFR values: (G1 [≥ 90], G2 [60-89], G3a [45-59], G3b [30-44], G4 [15-30] and G5 [<15 ml/min/1.73 m²]) and the new renal reference intervals were established: 0.67-2.10 (G1); 0.48-2.42 (G2); 0.67-2.85 (G3a); 0.65-2.78 (G3b); 0.77-2.67 (G4) and 0.80-2.42 (G5). It is concluded that the current reference intervals for the quantification of Kappa and Lambda FLC and Kappa/Lambda ratio are inaccurate and it is propose the implementation of these new reference intervals based on eGFR.

Palabras clave

Cadenas ligeras libres (CLL), enfermedad renal crónica (ERC), tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe), ratio κ/λ e intervalo de referencia.

Resumen Gráfico



Introducción

Las cadenas ligeras libres de inmunoglobulinas (CLL) son subproductos de la síntesis de inmunoglobulinas que se liberan a la circulación en pequeñas cantidades.¹ En sujetos sanos estas cadenas ligeras libres de inmunoglobulinas se eliminan rápidamente por el sistema retículo-endotelial, pero principalmente a través del sistema renal con una vida media de 2-6 horas.² Sin embargo, en pacientes con proliferación clonal de las células plasmáticas, como el mieloma múltiple (MM), pueden producirse cantidades de CLL miles de veces superiores a lo normal.^{3,4} Asimismo, en los pacientes con enfermedad renal crónica (caracterizados por una tasa de filtrado glomerular <60 ml/min/1,73 m²), a medida que se reduce la tasa de filtrado glomerular (TFG), disminuye el aclaramiento renal de las CLL y aumenta su concentración sérica.⁵ La diferencia entre ambas situaciones es que el aumento de síntesis se debe a un componente monoclonal, mientras que en la insuficiencia renal el aumento es de ambas cadenas, manteniéndose el ratio entre las cadenas kappa y lambda.

Frecuentemente, la concentración de las CLL de inmunoglobulinas circulantes se observa alterada en distintas patologías renales. En concreto, el MM es la neoplasia maligna hematológica más comúnmente asociada con la insuficiencia renal aguda (IRA).⁶

Actualmente, los inmunoensayos que miden la concentración de CLL se encuentran automatizados, lo cual permite el análisis y presentación de resultados de forma rápida y eficaz.⁷ Inicialmente, la producción anormal de CLL se indica cuando el ratio de CLL séricas kappa (κ) y lambda (λ) se encuentra fuera del rango de referencia de 0,26 a 1,65. Este rango de referencia se estableció en el año 2002 por Katzmán *et al.* en una cohorte pequeña (N=282) con función renal normal.⁸ La presencia de una proporción anormal de CLL, debido a un componente monoclonal, puede ocurrir tanto en el caso de mieloma múltiple de inmunoglobulina intacta como en el de cadena ligera única. Para los pacientes que presentan IRA, un diagnóstico más rápido de MM puede desembocar en la realización de intervenciones de forma temprana con mejores resultados.⁹

No obstante, los pacientes con insuficiencia renal (IR) pueden tener ratios de CLL κ/λ ligeramente superiores al rango de referencia sin otra evidencia de proteínas monoclonales.¹⁰ Este hecho refleja un cambio en el aclaramiento de las CLL séricas en sujetos con IR.¹¹ En sujetos sanos, la eliminación de las CLL del suero se debe, principalmente, al aclaramiento renal de las mismas, con preferencia de las CLL κ monoméricas más pequeñas. Por ello, las CLL κ poseen una vida media más corta y el ratio de CLL κ/λ es de, aproximadamente, 0,6. Sin embargo, a medida que la función renal se deteriora, la ruta retículo-endotelial no preferencial forma una proporción cada vez mayor del aclaramiento de CLL. El resultado es una vida media en suero más similar para los dos tipos de CLL y, por tanto, el ratio de CLL se encuentra cada vez más influenciado por las tasas de producción subyacentes de células plasmáticas.¹ En este tipo de patologías, existe el doble de células productoras de CLL κ que de CLL λ , lo cual conlleva un aumento del ratio total de CLL κ/λ en suero de 1,8, aproximadamente.²

Más adelante, en el año 2008, en un estudio realizado por Hutchison *et al.* se analizaron 688 sueros procedentes de pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) previa a diálisis sin evidencia de producción de inmunoglobulinas monoclonales y se demostró que las concentraciones séricas de CLL κ y λ aumentaban con la disminución de la función renal, siendo los rangos de CLL κ y CLL λ 3-251 mg/L y 1-251 mg/L, respectivamente.¹ Además, el ratio κ/λ aumentaba en cada etapa de la enfermedad renal crónica. En esta población, la mediana del ratio κ/λ fue de 1,12 con un rango del 100% de 0,37 a 3,10.⁹ Esta modificación en el rango de referencia de CLL séricas κ/λ de 0,26-1,65 a 0,37-3,10 puede suponer una mejora de la especificidad diagnóstica en pacientes con insuficiencia renal.²

Sin embargo, hasta el año 2022 con el estudio de Long *et al.*, no se había realizado ningún estudio de validación del ratio κ/λ en pacientes en etapas más tempranas de ERC o con presencia de otras gammopatías monoclonales. Para ello, analizaron 6.503 sueros procedentes de la cohorte islandesa iStopMM y establecieron nuevos rangos de referencia para el ratio κ/λ en función de las distintas categorías de la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe), debido al papel relevante de la función renal en el aclaramiento de las CLL séricas.¹²

Considerando el significativo número de pacientes con mieloma múltiple (MM) que presentan insuficiencia renal (IR), así como su influencia en la interpretación del ratio de CLL κ/λ , sería de gran utilidad establecer un rango de referencia que garantice una alta sensibilidad y especificidad en pacientes con insuficiencia renal en función del estadio de ERC.⁹

Por ello, este estudio analiza retrospectivamente las concentraciones séricas de CLL y las tasas de filtración glomerular de 1.553 pacientes del Servicio Cántabro de Salud sin evidencia de gammopatía monoclonal (seleccionados desde 01/01/2019 a 31/12/2023) con el fin de determinar la influencia del estadio de la ERC en los niveles de CLL séricas y definir un rango óptimo ajustado al nivel de la función renal.

Resultados

Análisis global y análisis por subgrupos de edad y TFGe

En este estudio, se evaluó una cohorte de 1.553 participantes mediante la cuantificación de cadenas ligeras libres séricas kappa (κ) y lambda (λ) en el analizador de proteínas especiales Optilite® (The Binding Site Group Ltd., Birmingham, Reino Unido) en el Servicio de Inmunología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) realizados entre el 01/01/2019 y 31/12/2023. Inicialmente, se recopilaron datos de 3.630 pacientes, pero se decidió excluir de los análisis aquellos pacientes cuyas peticiones de determinaciones procedieran del Servicio de Hematología o similares (Consultas externas de Hematología, Enfermería Hematología o Técnicas Hematología), con el fin de seleccionar una muestra representativa de la población sin evidencia de mieloma múltiple u otro tipo de gammapatía monoclonal. Después de la aplicación de este criterio de exclusión, se incluyeron 1.553 (42,78%) participantes, mencionados previamente, en el análisis del estudio.

La población sometida a estudio fue dividida en distintos subgrupos en función de la edad y la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe) que representa los estadios 1-5 de ERC según las guías KDIGO. El número de participantes para los subgrupos de edad (años) divididos en aquellos <50, 50-59, 60-69, 70-79 y ≥ 80 fue de 126, 185, 337, 425 y 480 participantes, respectivamente. Asimismo, el número de participantes para los subgrupos de TFGe divididos en ≥ 90 (G1), 60-89 (G2), 45-59 (G3a), 30-44 (G3b), 15-29 (G4) y <15 (G5) ml/min/1,73 m² fue de 415, 576, 194, 184, 120 y 64 participantes, respectivamente.

La distribución de la cohorte en los distintos subgrupos de edad y estadio de ERC, así como su distribución en función del sexo, se muestra en la Tabla 1.

Entre los 1.553 participantes, la mediana (rango intercuartílico [RIQ]) de los valores de cadenas ligeras libres kappa fue de 28,14 mg/L (18,98-48,66), el de cadenas ligeras libres lambda fue de 21,63 mg/L (14,99-36,72) y el ratio de cadenas ligeras libres kappa/lambda (ratio κ/λ) fue de 1,29 (1,04-1,60).

En la Tabla 2 se muestra la mediana (RIQ) de los niveles séricos de CLL kappa y lambda y el ratio de CLL κ/λ estratificado por edad y TFGe.

Los niveles de CLL séricas aumentaron con la disminución de la TFGe, con una correlación negativa entre la TFGe y los niveles séricos de CLL κ ($\rho=-0,584$, $p<0,001$), CLL λ ($\rho=-0,518$, $p<0,001$) y el ratio κ/λ ($\rho=-0,219$, $p<0,001$). Además, la edad avanzada se asoció con un aumento de las CLL séricas con una correlación positiva entre la edad y las CLL κ ($\rho=0,305$, $p<0,001$), CLL λ ($\rho=0,268$, $p<0,001$) y el ratio κ/λ ($\rho=0,145$, $p<0,001$).

La representación gráfica de las concentraciones de CLL kappa y CLL lambda y el ratio de CLL κ/λ respecto a la tasa de filtrado glomerular y, por consiguiente, en función del estadio de ERC, se muestra en la Figura 1.

Intervalos de referencia actuales para CLL κ , CLL λ y ratio κ/λ

Un intervalo de referencia central del 99% bien calibrado debería dividir una muestra no seleccionada de una población objetivo de forma que el 0,5% de las personas se encuentre por debajo del límite inferior y el 0,5% por encima del límite superior. Utilizando el intervalo de referencia actual en la cohorte de estudio para las CLL kappa en suero (3,3-19,4 mg/L), 1.140 (73,41%) participantes tenían un nivel de CLL kappa por encima del límite de referencia superior y solo 3 (0,19%) tenían un nivel de CLL kappa por debajo del límite de referencia inferior. De forma similar, utilizando el intervalo de referencia actual para las CLL lambda en suero (5,7-26,3 mg/L), 610 (39,28%) participantes tenían un nivel de CLL lambda por encima del límite de referencia superior y solo 10 (0,64%) participantes por debajo del límite de referencia inferior. Por último, utilizando el rango de referencia estándar del ratio κ/λ (0,26-1,65), 342 (22,02%) participantes tuvieron un ratio κ/λ por encima del límite de referencia superior y 24 (1,55%) participantes tuvieron valores por debajo del límite de referencia inferior. No obstante, utilizando el rango de referencia actual para el ratio κ/λ (0,37-3,10), 48 (3,09%) participantes tuvieron un ratio κ/λ por encima del límite de referencia superior y 35 (2,25%) participantes tuvieron valores por debajo del límite de referencia inferior.

Por ello, cabe destacar que, aunque ninguno de los dos rangos de referencia para el ratio κ/λ divide correctamente a la población estudio, si es cierto que el rango de referencia actual (0,37-3,10) se ajusta de manera más cercana a lo esperado que el rango de referencia estándar (0,26-1,65).

Redefinición de los intervalos de referencia de CLL

Si se construyera un único intervalo de referencia para todos los participantes de la cohorte y se aplicara en la práctica clínica, su uso daría como resultado que una gran proporción de participantes en subgrupos basados en la edad o la TFG_e fueran diagnosticados de trastornos en la producción de cadenas ligeras al obtener resultados anormales de CLL siguiendo los intervalos de referencia actuales. Por tanto, debido a que el uso de un intervalo de referencia para todo el grupo daría como resultado que una proporción excesivamente alta de participantes fueran clasificados erróneamente, se decidió dividir los nuevos intervalos de referencia por categorías de la TFG_e (≥ 90 [G1], 60-89 [G2], 45-59 [G3a], 30-44 [G3b], 15-30 [G4] y <15 [G5] ml/min/1,73 m²).

En la Tabla 3 se muestran los nuevos intervalos de referencia centrales al 95% para las CLL kappa, CLL lambda y el ratio κ/λ que se determinaron por separado para los participantes cuyas tasas de TFG_e son ≥ 90 , 60-89, 45-59, 30-55, 15-30 y <15 ml/min/1,73 m²; siendo los valores para el ratio κ/λ : 0,67-2,10; 0,48-2,42; 0,67-2,85; 0,65-2,78; 0,77-2,67 y 0,80-2,42; respectivamente.

Utilizando los nuevos rangos de referencia en función de la TFG_e asociada a los distintos estadios de ERC, se obtienen los siguientes resultados: en el subgrupo

G1 (0,67-2,10), 19 (4,58%) participantes tuvieron un ratio κ/λ por encima del límite de referencia superior y 18 (4,34%) participantes tuvieron valores por debajo del límite de referencia inferior; en el subgrupo G2 (0,48-2,42), 28 (4,86%) participantes tuvieron un ratio κ/λ por encima del límite de referencia superior y 26 (4,51%) participantes tuvieron valores por debajo del límite de referencia inferior; en el subgrupo G3a (0,67-2,85), 9 (4,64%) participantes tuvieron un ratio κ/λ por encima del límite de referencia superior y 9 (4,64%) participantes tuvieron valores por debajo del límite de referencia inferior; en el subgrupo G3b (0,65-2,78), 9 (4,89%) participantes tuvieron un ratio κ/λ por encima del límite de referencia superior y 9 (4,89%) participantes tuvieron valores por debajo del límite de referencia inferior; en el subgrupo G4 (0,77-2,67), 5 (4,17%) participantes tuvieron un ratio κ/λ por encima del límite de referencia superior y 5 (4,17%) participantes tuvieron valores por debajo del límite de referencia inferior y en el subgrupo G5 (0,80-2,42), 3 (4,69%) participantes tuvieron un ratio κ/λ por encima del límite de referencia superior y 3 (4,69%) participantes tuvieron valores por debajo del límite de referencia inferior.

De esta forma, se observa cómo estos nuevos rangos de referencia al 95% dividen de forma homogénea la población estratificada en los distintos grupos basados en el nivel de función renal (estadios 1-5 ERC).

Análisis multivariante de CLL, TFGe, sexo y edad

A continuación, se decidió desarrollar un análisis multivariante entre los niveles de CLL kappa, CLL lambda y el ratio κ/λ junto con la TFGe, el sexo y la edad. Para ello, se realizó un análisis de regresión lineal multivariante en el cual se observa que los niveles de filtrado glomerular y el sexo se asocian de manera independiente con los niveles de CLL kappa y lambda ($p < 0,001$ en ambos casos). En concreto, el sexo se asocia de forma independiente con los niveles de CLL kappa ($p = 0,000$) y CLL lambda ($p = 0,000$) en el grupo G1; con los niveles de CLL kappa ($p = 0,002$) y CLL lambda ($p = 0,035$) en el grupo G2; con los niveles de CLL kappa ($p = 0,010$) y CLL lambda ($p = 0,018$) en el grupo G3a y con los niveles de CLL kappa ($p = 0,002$) y CLL lambda ($p = 0,000$) en el grupo G4. No obstante, los valores obtenidos en los grupos G3b y G5, indican que, en estos dos grupos, el sexo no se asocia de forma independiente a las CLL kappa ($p = 0,215$ y $p = 0,180$) y CLL lambda ($p = 0,542$ y $p = 0,285$), respectivamente. La representación gráfica de las CLL κ , CLL λ y el ratio κ/λ en función del sexo y del estadio de ERC se muestra en la Figura Suplementaria 1 (Figura S1).

Sin embargo, esta relación entre la TFGe y el sexo con los niveles de CLL kappa y CLL lambda, no ocurre con la edad; de forma que la edad no se asocia de manera independiente a los niveles de CLL kappa y CLL lambda, siendo sus valores de significancia $p = 0,050$ y $p = 0,720$; respectivamente.

La distribución gráfica de los distintos subgrupos de TFGe (estadios 1-5 de ERC) respecto a la edad se muestra en la Figura 2. Los participantes con edades superiores a 70 años representan el 58,28% de la cohorte, mientras que los participantes menores de 50 años suponen el 8,11% de la muestra. Además, la mediana de edad del subgrupo de TFGe G1 y G2 es de 60 y 76 años,

respectivamente; mientras que la mediana de edad en los subgrupos G3a, G3b, G4 y G5 es de 78, 82, 77 y 74 años, respectivamente. Estos valores se muestran en la Tabla Suplementaria 1 (Tabla S1) y representan cómo la mediana de edad inicialmente asciende junto con el estadio de ERC (estadios G1-G3b) y después desciende progresivamente (estadios G4-G5). Por tanto, el aumento de los niveles séricos de CLL kappa y CLL lambda en función de la edad se debe, principalmente, a la influencia de la edad en la función renal; siendo la función renal menor a medida que la edad aumenta, lo cual se encuentra influenciado con el desarrollo de estadios avanzados de ERC.

Análisis estratificado en función del sexo

Como consecuencia de la relación independiente entre el filtrado glomerular y el sexo con los niveles de CLL kappa y CLL lambda, se decidió realizar de nuevo el análisis de los datos en dos grupos distintos (hombres y mujeres).

Entre los 785 (50,55%) hombres participantes, la mediana (RIQ) de los valores de CLL kappa fue de 31,98 mg/L (21,57-56,80), la mediana (RIQ) de CLL lambda fue de 24,40 mg/L (16,94-42,49) y la mediana (RIQ) del ratio κ/λ fue de 1,31 (1,06-1,63).

Entre las 768 (49,45%) mujeres participantes, la mediana (RIQ) de los valores de CLL kappa fue de 24,83 mg/L (16,65-41,96), la mediana (RIQ) de CLL lambda fue de 19,21 mg/L (13,69-31,61) y la mediana (RIQ) del ratio κ/λ fue de 1,26 (1,02-1,56).

Estos datos muestran que la mediana de CLL kappa, CLL lambda y el ratio κ/λ es superior en el grupo de hombres e inferior en el grupo de mujeres respecto a los datos del análisis conjunto de los dos grupos mostrado anteriormente, siendo las medianas de las CLL kappa, CLL lambda y ratio κ/λ 28,14 mg/L, 21,63 mg/L y 1,29; respectivamente.

Asimismo, se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres para los niveles de CLL kappa en los subgrupos G1 ($p<0,001$), G2 ($p=0,002$), G3a ($p<0,01$) y G4 ($p=0,002$); para los niveles de CLL lambda en los subgrupos G1 ($p<0,001$), G2 ($p=0,035$), G3a ($p=0,018$) y G4 ($p<0,001$) y para el ratio κ/λ en el subgrupo G2 ($p=0,045$).

La representación gráfica de los distintos valores obtenidos para las CLL kappa, CLL lambda y el ratio κ/λ en función del sexo se muestran la Figura 3, así como las diferencias estadísticamente significativas entre los distintos subgrupos. Además, el resumen de resultados en función del sexo y la TFGe (estadios ERC) se encuentra en la Tabla Suplementaria 2 (Tabla S2).

Discusión

Este estudio basado en una población de 1.553 participantes en Cantabria muestra como la mayoría de personas con ERC y sin evidencia de gammapatía monoclonal en el momento del análisis tienen niveles séricos de CLL kappa o CLL lambda fuera de los intervalos de referencia actuales. Además, aunque la proporción de participantes cuyos valores de ratio κ/λ se encontraban fuera del intervalo de referencia estándar (0,26-1,65) era demasiado grande (23,57%), la proporción de los mismos que se encontraba fuera del intervalo de referencia renal publicado anteriormente (0,37-3,10) era menor (5,34%).

Cabe mencionar, de nuevo, que los niveles de CLL kappa y CLL lambda, así como el ratio κ/λ aumentaron con la disminución de la TFGe y el aumento de la edad. Por tanto, este estudio propone nuevos intervalos de referencia renal para las CLL séricas kappa, CLL séricas lambda y el ratio κ/λ en base al nivel de función renal. Por ello, se sugiere adaptar estos nuevos rangos de referencia renal para la evaluación de gammapatías monoclonales en personas con ERC.

Las CLL séricas kappa y lambda y el ratio κ/λ aumentan significativamente con el deterioro de la función renal.¹³ Las CLL se eliminan principalmente por los riñones y, por tanto, la función renal es un determinante muy importante de los niveles séricos de CLL kappa y lambda. En condiciones normales, las CLL kappa se forman, aproximadamente, el doble de rápido que las CLL lambda.¹⁴ Las CLL lambda son más propensas a formar dímeros, lo cual aumenta su peso molecular y ralentiza su eliminación renal. La disminución de la función renal alarga la vida media sérica de las CLL y aumenta las concentraciones de CLL aún en ausencia de un trastorno patológico de células plasmáticas.¹⁵ Este efecto se demuestra en el estudio, puesto que el 23,57% de los participantes tenían un ratio κ/λ fuera del intervalo de referencia estándar (0,26-1,65), lo cual recalca la necesidad de un nuevo rango de referencia renal. Esto se puede comparar con el estudio de Hutchison *et al.* en el año 2008 donde se definió el rango de referencia actual para el ratio κ/λ (0,37-3,10) en una cohorte de 688 participantes con ERC.² Sin embargo, los niveles de CLL fueron inferiores en nuestra cohorte de pacientes del Servicio Cántabro de Salud (mediana de CLL kappa de 28,14 frente a 43,8 mg/L y mediana de CLL lambda de 21,63 frente a 38,0 mg/L). El motivo de esta discrepancia entre los dos estudios podría explicarse teniendo en cuenta que la mediana de la TFGe es de 72 ml/min/1,73 m² frente a los 51 ml/min/1,73 m² de su estudio, lo cual sugiere una mejor función renal de la cohorte y, por consiguiente, niveles menores de CLL kappa y CLL lambda. En especial, teniendo en cuenta que el 63,81% de los participantes tienen unos valores de TFGe >60 ml/min/1,73 m² (G1 y G2).

Es importante tener en cuenta que, en la cohorte del estudio, tanto los niveles de CLL kappa como los niveles de CLL lambda aumentaron con la edad. No obstante, cuando se realizó al análisis de regresión lineal multivariante entre las concentraciones de CLL kappa y lambda y la edad, se concluyó que estos dos grupos de variables no se asociaban de manera independiente. Este hecho representa la disminución de la función renal que se produce de forma natural con el envejecimiento. Estos resultados son comparables con un estudio anterior

de Katzmann *et al.* donde se demuestra que el aumento de los niveles de las CLL kappa y lambda relacionado con la edad disminuye cuando se estratifica con los niveles de cistatina C, una proteína de bajo peso molecular propuesta como marcador de función renal.⁸

Las posibles implicaciones clínicas de estos hallazgos, similares a los mostrados en el estudio de Long *et al.*¹², son relevantes. Por ello, se propone implementar los nuevos intervalos de referencia en la práctica clínica en la evaluación de las CLL kappa y CLL lambda en función del estadio de ERC en el que se encuentre; siendo estos los siguientes intervalos para el ratio kappa/lambda: 0,67-2,10; 0,48-2,42; 0,67-2,85; 0,65-2,78; 0,77-2,67 y 0,80-2,42; para los subgrupos G1, G2, G3a, G3b, G4 y G5, respectivamente.

Una fortaleza de este estudio reside en los 1.553 participantes de la Comunidad Autónoma de Cantabria. Todas las mediciones de CLL séricas se realizaron en el mismo laboratorio (Laboratorio de Inmunología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla) utilizando el mismo analizador de proteínas (Optilite®) y los mismos reactivos, disminuyendo así el efecto de variabilidad entre ensayos. El tamaño de la cohorte permitió dividir los intervalos de referencias en distintos subgrupos según la función renal, lo cual supuso una determinación más precisa de los nuevos intervalos.

Una limitación del estudio comprende el origen de la población seleccionada, ya que existe homogeneidad genética y étnica en la cohorte, por lo que es posible que existan problemas en la extrapolación de los nuevos rangos de referencia a otras poblaciones distintas a la población cántabra. Asimismo, los nuevos rangos de referencia se han calculado con un intervalo de confianza del 95%, de forma que, si se calculasen aplicando un intervalo de confianza del 99%, el número de participantes de la cohorte cuyos valores se encuentran fuera de los nuevos intervalos de referencia para el ratio κ/λ sería todavía menor. Otra posible limitación reside en la falta de datos clínicos que permitan excluir que parte de los individuos de nuestra cohorte puedan estar al inicio del desarrollo de una gammapatía monoclonal. Dado que el estudio es únicamente de carácter analítico y no se solicitó permiso al Comité de Ética para la revisión de historias clínicas, este aspecto queda fuera del alcance del trabajo.

En conclusión, utilizando los datos obtenidos de la cohorte sometida a estudio que comprende un amplio grupo sin evidencia de gammapatía monoclonal y con una cuidadosa evaluación de la función renal, se estableció que los intervalos de referencia actuales para la cuantificación de CLL kappa y lambda y el ratio κ/λ son inexactos. Además, se proponen nuevos intervalos de referencia de las CLL séricas kappa y CLL séricas lambda y el ratio κ/λ basados en el nivel de función renal (≥ 90 [G1], 60-89 [G2], 45-59 [G3a], 30-44 [G3b], 15-30 [G4] y <15 [G5] ml/min/1,73 m²). Los nuevos intervalos de referencia para el ratio κ/λ 0,67-2,10; 0,48-2,42; 0,67-2,85; 0,65-2,78; 0,77-2,67 y 0,80-2,42; para los subgrupos G1, G2, G3a, G3b, G4 y G5, respectivamente, aumentarán la utilidad del ensayo para el diagnóstico de gammapatías monoclonales en personas con ERC.

Metodología

Consideraciones éticas

El tratamiento de los datos de los pacientes fue totalmente anonimizado por números consecutivos de la base de datos del Servicio de Inmunología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Asimismo, en ningún momento se accedió ni se recopiló información procedente de su historia clínica.

Participantes y recopilación de datos

Este estudio recoge el análisis de todas las peticiones realizadas en el Servicio de Inmunología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) para la cuantificación de cadenas ligeras libres (CLL) desde el 01/01/2019 al 31/12/2023 que además dispongan de mediciones de la tasa de filtrado glomerular (TFG). En este periodo de tiempo se recopilaron un total de 17.283 peticiones, las cuales se corresponden con 3.630 pacientes distintos.

Además, se quiso descartar las peticiones de pacientes con mieloma múltiple u otro tipo de gammopatía monoclonal. Para ello, únicamente se seleccionaron aquellas peticiones de pacientes que nunca hubieran sido solicitadas por el Servicio de Hematología o similares (Consultas externas de Hematología, Enfermería Hematología o Técnicas Hematología). De esta forma, se obtuvo un total de 1.553 pacientes sin evidencia de gammopatía monoclonal en el periodo de tiempo de los últimos cinco años (01/01/2019 - 31/12/2023).

Las concentraciones séricas de CLL se midieron con reactivos de The Binding Site (The Binding Site Group Ltd., Birmingham, Reino Unido) utilizando el analizador de proteínas Optilite®. Este sistema de cuantificación basado en turbidimetría fue sometido a un control de calidad de entrada basado en dos niveles de muestras (HQC [High Quality Control] y LQC [Low Quality Control]) proporcionados por The Binding Site antes de la realización de la prueba. El ratio κ/λ se calculó a partir de los resultados de cadenas ligeras libres séricas.

Optilite® es un analizador de proteínas especiales basado en turbidimetría. Esta técnica se basa en la medición de partículas en suspensión en una solución, siendo, en este estudio, las cadenas ligeras libres en suero. El turbidímetro mide la cantidad de luz que se transmite a través de la solución, la cual depende de la cantidad de proteínas presentes en el suero. La concentración de las CLL se calcula a partir de la medida de la turbidez de la muestra tras la reacción Antígeno-Antisuero de forma automática por el analizador, siendo la cantidad de luz que se transmite inversamente proporcional a la turbidez de la muestra y, por consiguiente, inversamente proporcional a la concentración de CLL.

Análisis estadístico y configuración de datos

La distribución de las variables continuas se ha evaluado mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. En base a estos resultados, las variables continuas se han

representado como mediana y rango intercuartílico y las variables categóricas como número absoluto y porcentaje. Los percentiles 5 y 95 de las distribuciones de CLL κ , CLL λ y ratio κ/λ se han evaluado en los distintos subgrupos según edad, sexo y TFGe que representa los estadios 1-5 de ERC según las guías KDIGO. También se evaluaron los valores atípicos (outliers). Los estudios de correlación se han llevado a cabo empleando el coeficiente de correlación de Spearman. Asimismo, para establecer las comparaciones entre variables continuas que presentan una distribución no paramétrica se ha empleado el test U de Mann-Whitney. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) y $p < 0,001$ (***).

Todo el análisis estadístico y la visualización de datos se realizaron utilizando los programas SPSS v.19.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) y GraphPad Prism 6 v.6.01 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA).

Agradecimientos

En primer lugar, quiero dar las gracias a mis tutores, Juan y Marcos, por guiarme y acompañarme en el desarrollo de este trabajo. Por enseñarme y permitir que participara desde el primer día en el laboratorio. También me gustaría agradecer al resto de adjuntos, residentes y técnicos del Servicio de Inmunología por su dedicación e implicación en el desarrollo del periodo del Practicum.

Por último, me gustaría dar un agradecimiento especial a mi familia por el apoyo incondicional durante esta etapa de mi vida. En especial, a mis padres, mi tía, hermanos y novio. Gracias por creer en mí y estar siempre a mi lado en cada paso de este camino.

Bibliografía

1. Hutchison, C.A., Plant, T., Drayson, M., Cockwell, P., Kountouri, M., Basnayake, K., Harding, S., Bradwell, A.R., and Mead, G. (2008). Serum free light chain measurement aids the diagnosis of myeloma in patients with severe renal failure. *BMC Nephrol* 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-9-11>.
2. Hutchison, C.A., Harding, S., Hewins, P., Mead, G.P., Townsend, J., Bradwell, A.R., and Cockwell, P. (2008). Quantitative assessment of serum and urinary Polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 3, 1684–1690. <https://doi.org/10.2215/CJN.02290508>.
3. Morales-García, L.J., and Pacheco-Delgado, M.S. (2021). Rangos de referencia de cadenas ligeras libres en suero de Trimerio Diagnostic por turbidimetría. ¿Pueden ser universales los puntos de corte? *Revista de Medicina de Laboratorio*. <https://doi.org/10.20960/revmedlab.00061>.
4. Yadav, P., Cockwell, P., Cook, M., Pinney, J., Giles, H., Aung, Y.S., Cairns, D., Owen, R.G., Davies, F.E., Jackson, G.H., et al. (2018). Serum free light chain levels and renal function at diagnosis in patients with multiple myeloma. *BMC Nephrol* 19. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-0962-x>.
5. Hutchison, C.A., Burmeister, A., Harding, S.J., Basnayake, K., Church, H., Jesky, M.D., White, K., Green, C.E., Stringer, S.J., Bassett, P., et al. (2014). Serum polyclonal immunoglobulin free light chain levels predict mortality in people with chronic kidney disease. *Mayo Clin Proc* 89, 615–622. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2014.01.028>.
6. Lameire, N.H., Flombaum, C.D., Moreau, D., and Ronco, C. (2005). Acute renal failure in cancer patients. Preprint, <https://doi.org/10.1080/07853890510007205> <https://doi.org/10.1080/07853890510007205>.
7. Katzmman, J.A., Abraham, R.S., Dispenzieri, A., Lust, J.A., and Kyle, R.A. (2005). Diagnostic performance of quantitative κ and λ free light chain assays in clinical practice. *Clin Chem* 51, 878–881. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.046870>.
8. Katzmman, J.A., Clark, R.J., Abraham, R.S., Bryant, S., Lymp, J.F., Bradwell, A.R., and Kyle, R.A. (2002). Serum Reference Intervals and Diagnostic Ranges for Free and Free Immunoglobulin Light Chains: Relative Sensitivity for Detection of Monoclonal Light Chains.
9. Molina-Andújar, A., Robles, P., Cibeira, M.T., Montagud-Marrahi, E., Guillen, E., Xipell, M., Blasco, M., Poch, E., Rosiñol, L., Bladé, J., et al. (2020). The renal range of the κ/λ sFLC ratio: Best strategy to evaluate multiple myeloma in patients with chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 21. <https://doi.org/10.1186/s12882-020-01771-3>.
10. Hill, P.G., Forsyth, J.M., Rai, B., and Mayne, S. (2006). Serum free light chains: An alternative to the urine bence jones proteins screening test for monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 52, 1743–1748. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.069104>.
11. Galvani, L., Flanagan, J., Sargazi, M., and Neithercut, W.D. (2016). Validation of serum free light chain reference ranges in primary care. *Ann Clin Biochem* 53, 399–404. <https://doi.org/10.1177/0004563215620441>.

12. Long, T.E., Indridason, O.S., Palsson, R., Rognvaldsson, S., Love, T.J., Thorsteinsdottir, S., Sverrisdottir, I.S., Vidarsson, B., Onundarson, P.T., Agnarsson, B.A., et al. (2022). Defining new reference intervals for serum free light chains in individuals with chronic kidney disease: Results of the iStopMM study. *Blood Cancer J* 12, 133. <https://doi.org/10.1038/s41408-022-00732-3>.
13. Waldmann, T.A., Strober, W., and Mogielnicki, R.P. (1972). The renal handling of low molecular weight proteins: II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrome, or uremia. *Journal of Clinical Investigation* 51, 2162. <https://doi.org/10.1172/JCI107023>.
14. Nakayama, S., Yokote, T., Hirata, Y., Iwaki, K., Akioka, T., Miyoshi, T., Nishiwaki, U., Masuda, Y., Hiraoka, N., Takayama, A., et al. (2012). Immunohistological analysis in diagnosis of plasma cell myeloma based on cytoplasmic kappa/lambda ratio of CD38-positive plasma cells. *Hematology* 17, 317–320. <https://doi.org/10.1179/1024533212Z.000000000146>.
15. Miettinen, T.A., and Kekki, M. (1967). Effect of impaired hepatic and renal function on [131] bence jones protein catabolism in human subjects. *Clinica Chimica Acta* 18, 395–407. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(67\)90036-8](https://doi.org/10.1016/0009-8981(67)90036-8).

Pies de Figuras

Figura 1. Representación gráfica de los niveles de cadenas ligeras libres (CLL) Kappa y Lambda y el ratio Kappa/Lambda en función de la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe), así como la correlación entre los niveles de CLL y el ratio Kappa/Lambda con el filtrado glomerular. (A) Niveles medianos de CLL Kappa con (izquierda) y sin outliers (medio), así como la correlación entre las CLL Kappa y el filtrado glomerular (derecha). (B) Niveles medianos de CLL Lambda con (izquierda) y sin outliers (medio), así como la correlación entre las CLL Lambda y el filtrado glomerular (derecha). (C) Niveles medianos de ratio Kappa/Lambda con (izquierda) y sin outliers (medio), así como la correlación entre el ratio Kappa/Lambda y el filtrado glomerular (derecha).

Figura 2. Distribución de las edades de los pacientes en los distintos subgrupos de enfermedad renal crónica (ERC) en función de la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe).

Figura 3. Representación gráfica de los niveles de cadenas ligeras libres Kappa y Lambda y el ratio Kappa/Lambda en función del sexo y la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe), así como sus diferencias estadísticamente significativas. (A) Niveles medianos de CLL Kappa con (izquierda) y sin outliers (derecha). (B) Niveles medianos de CLL Lambda con (izquierda) y sin outliers (derecha). (C) Niveles medianos de ratio Kappa/Lambda con (izquierda) y sin outliers (derecha).

Tabla 1. Características demográficas de la población sometida a estudio.

Tabla 2. Niveles medianos (rango intercuartílico) de cadenas ligeras libres (CLL) Kappa y Lambda y ratio Kappa/Lambda en distintos subgrupos en función de la edad y tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe).

Tabla 3. Intervalos de referencia centrales al 95% para las CLL Kappa, CLL Lambda y ratio κ/λ .

Pies de Figuras de la Información Suplementaria

Figura S1. Representación gráfica de los niveles de cadenas ligeras libres Kappa y Lambda y el ratio Kappa/Lambda en dos subgrupos en función del sexo (hombres y mujeres) y la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe). (A) Niveles medianos sin outliers de CLL Kappa en hombres (izquierda) y mujeres (derecha). (B) Niveles medianos sin outliers de CLL Lambda en hombres (izquierda) y mujeres (derecha). (C) Niveles medianos sin outliers de ratio Kappa/Lambda en hombres (izquierda) y mujeres (derecha).

Tabla S1. Niveles medianos (rango intercuartílico) de cadenas ligeras libres (CLL) Kappa y Lambda y ratio Kappa/Lambda en función de la tasa de tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe), así como el número de muestra (mujeres) y la mediana de edad por cada subgrupo de enfermedad renal crónica (ERC).

Tabla S2. Niveles medianos (rango intercuartílico) de cadenas ligeras libres (CLL) Kappa y Lambda y ratio Kappa/Lambda en función del sexo y la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe).

Figura 1

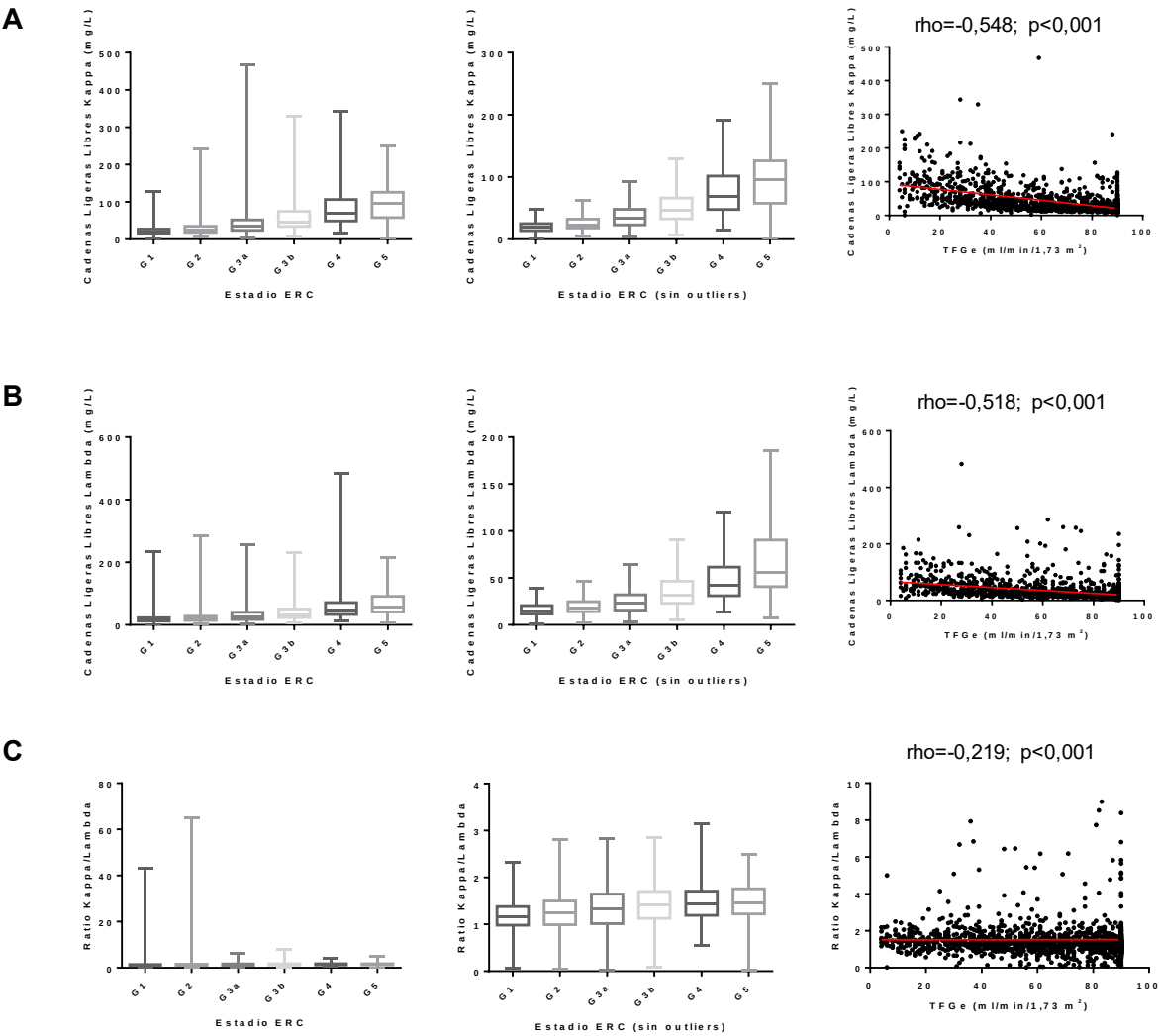


Figura 2

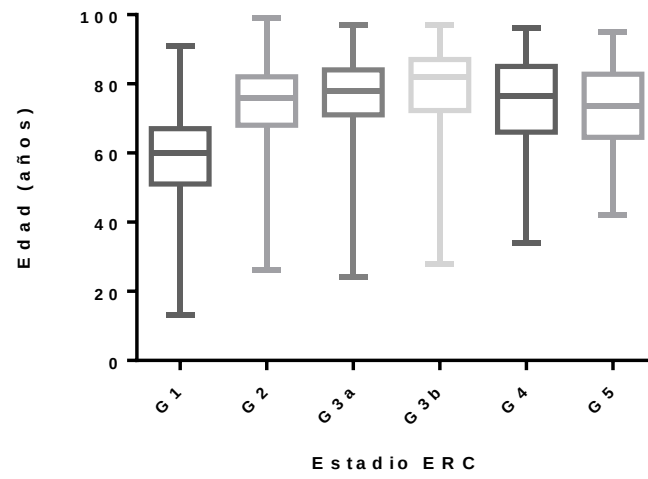
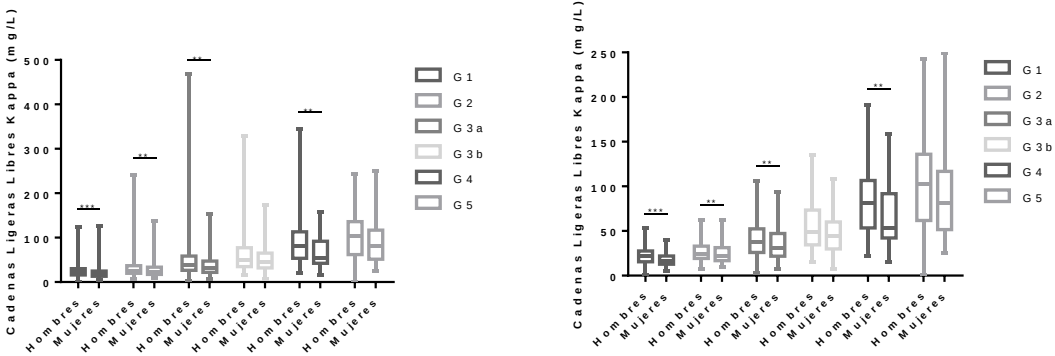
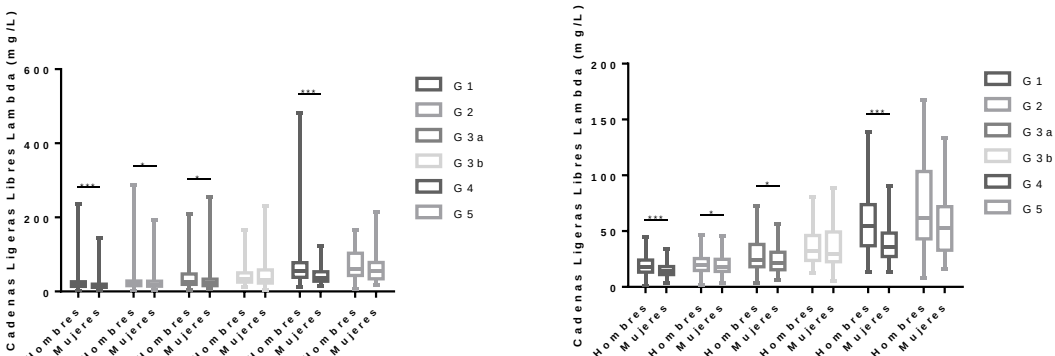


Figura 3

A



B



C

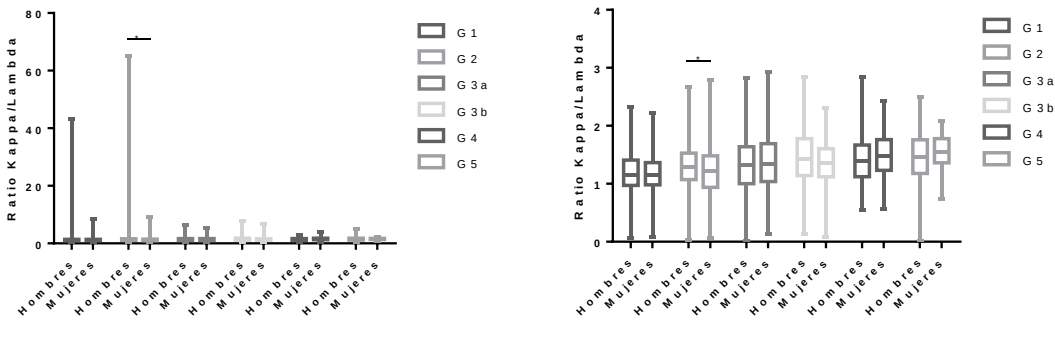


Figura S1

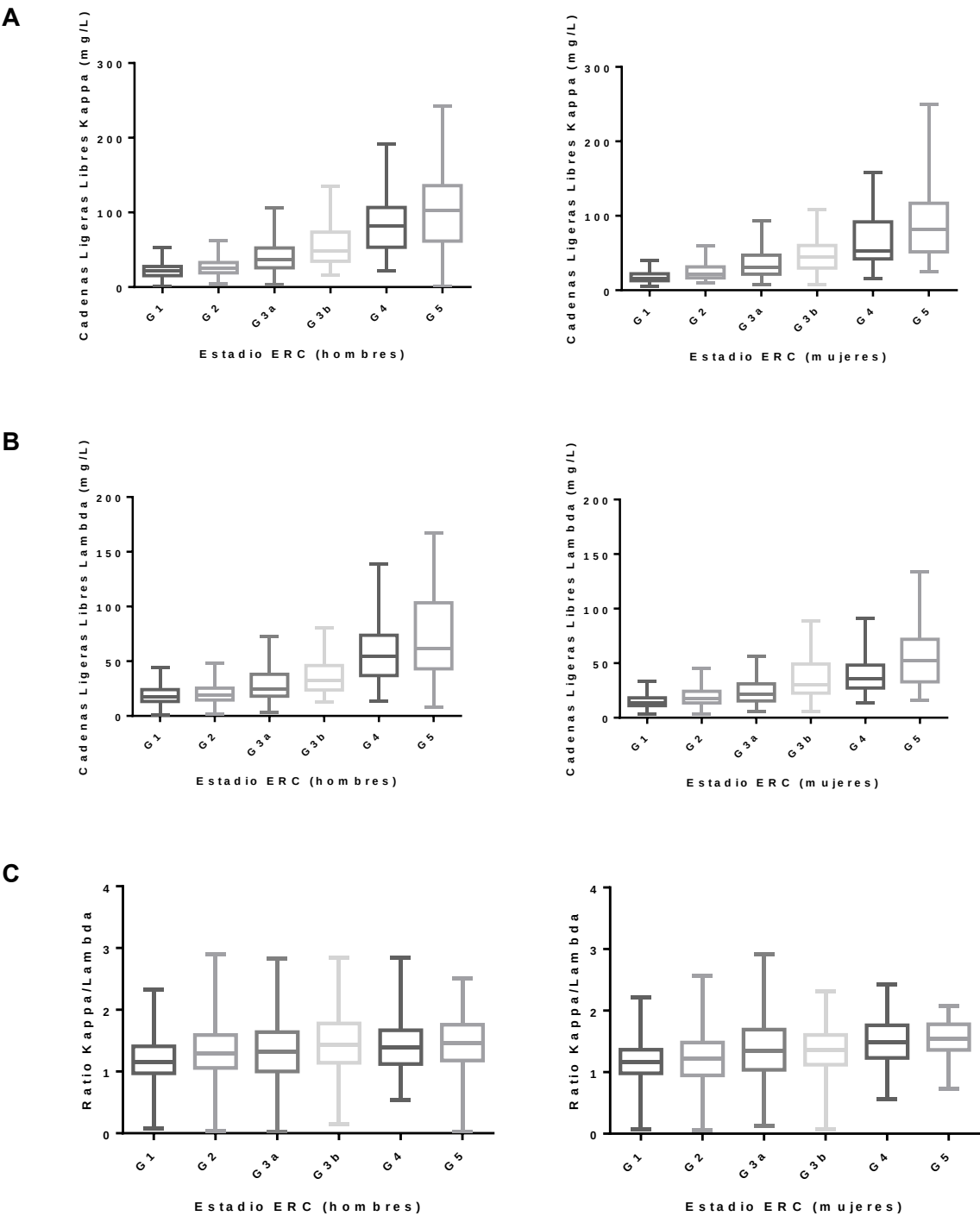


Tabla 1

Características demográficas de la población sometida a estudio.

	N total (%)	N hombres (%)	N mujeres (%)
Población estudio	1553 (100)	785 (50,55)	768 (49,45)
Edad (años)			
< 50	126 (8,11)	59 (7,52)	67 (8,72)
50-59	185 (11,91)	91 (11,59)	94 (12,24)
60-69	337 (21,70)	169 (21,53)	168 (21,88)
70-79	425 (27,37)	230 (29,30)	195 (25,39)
≥ 80	480 (30,91)	236 (30,06)	244 (31,77)
TFGe (ml/min/1,73 m²)			
G1 (≥ 90)	415 (26,72)	179 (22,80)	236 (30,73)
G2 (60-89)	576 (37,09)	285 (36,31)	291 (37,89)
G3a (45-59)	194 (12,49)	97 (12,36)	97 (12,63)
G3b (30-44)	184 (11,85)	117 (14,90)	67 (8,72)
G4 (15-29)	120 (7,73)	71 (9,04)	49 (6,38)
G5 (< 15)	64 (4,12)	36 (4,59)	28 (3,65)

Tabla 2

Niveles medianos (rango intercuartílico) de cadenas ligeras libres (CLL) Kappa y Lambda y ratio Kappa/Lambda en distintos subgrupos en función de la edad y tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe).

	Cadenas ligeras Kappa (mg/L)	Cadenas ligeras Lambda (mg/L)	Ratio Kappa/Lambda
Edad (años)			
< 50	18,15 (13,78-28,28)	15,66 (12,84-23,43)	1,11 (0,98-1,37)
50-59	22,20 (15,30-35,59)	16,61 (12,08-30,27)	1,28 (1,05-1,51)
60-69	23,27 (17,31-42,45)	20,15 (14,34-33,28)	1,22 (0,98-1,49)
70-79	29,00 (20,02-48,68)	21,26 (15,15-36,84)	1,30 (1,07-1,65)
≥ 80	37,36 (24,86-56,43)	26,90 (19,24-45,12)	1,39 (1,08-1,73)
TFGe (ml/min/1,73 m²)			
G1 (≥ 90)	19,39 (14,22-27,46)	16,09 (12,00-22,63)	1,17 (0,98-1,41)
G2 (60-89)	24,55 (18,45-34,70)	19,15 (14,45-27,91)	1,27 (1,00-1,57)
G3a (45-59)	34,44 (23,75-51,99)	25,10 (17,33-40,08)	1,35 (1,04-1,70)
G3b (30-44)	46,70 (34,35-74,92)	33,13 (23,79-50,66)	1,44 (1,15-1,76)
G4 (15-29)	70,11 (48,95-106,61)	46,65 (33,36-71,30)	1,44 (1,21-1,75)
G5 (< 15)	96,10 (57,94-126,12)	56,84 (41,18-91,02)	1,47 (1,23-1,78)

Tabla 3

Intervalos de referencia centrales al 95% para las CLL Kappa, CLL Lambda y ratio κ/λ .

TFGe (ml/min/1,73 m ²)	Intervalo 95% CLL Kappa	Intervalo 95% CLL Lambda	Intervalo 95% Ratio κ/λ
G1 (≥ 90)	9,46-57,33	7,94-50,80	0,67-2,10
G2 (60-89)	11,73-73,23	9,79-69,30	0,48-2,42
G3a (45-59)	14,57-102,67	11,59-105,47	0,67-2,85
G3b (30-44)	21,22-128,80	15,77-99,08	0,65-2,78
G4 (15-29)	28,68-176,42	22,09-132,64	0,77-2,67
G5 (< 15)	25,61-235,10	17,57-166,82	0,80-2,42

Tabla S1

Niveles medianos (rango intercuartílico) de cadenas ligeras libres (CLL) Kappa y Lambda y ratio Kappa/Lambda en función de la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe), así como el número de muestra (mujeres) y la mediana de edad por cada subgrupo de enfermedad renal crónica (ERC).

TFGe (ml/min/1,73 m ²)	Número muestra (M)	Mediana de edad (RIQ)	Cadenas ligeras Kappa (mg/L)	Cadenas ligeras Lambda (mg/L)	Ratio Kappa/Lambda
G1 (≥ 90)	415 (236)	60 (51-75)	19,39 (14,22-27,46)	16,09 (12,00-22,63)	1,17 (0,98-1,41)
G2 (60-89)	576 (291)	76 (68-82)	24,55 (18,45-34,70)	19,15 (14,45-27,91)	1,27 (1,00-1,57)
G3a (45-59)	194 (97)	78 (71-84)	34,44 (23,75-51,99)	25,10 (17,33-40,08)	1,35 (1,04-1,70)
G3b (30-44)	184 (67)	82 (73-87)	46,70 (34,35-74,92)	33,13 (23,79-50,66)	1,44 (1,15-1,76)
G4 (15-29)	120 (49)	77 (66-85)	70,11 (48,95-106,61)	46,65 (33,36-71,30)	1,44 (1,21-1,75)
G5 (< 15)	64 (28)	74 (65-83)	96,10 (57,94-126,12)	56,84 (41,18-91,02)	1,47 (1,23-1,78)

Tabla S2

Niveles medianos (rango intercuartílico) de cadenas ligeras libres (CLL) Kappa y Lambda y ratio Kappa/Lambda en función del sexo y la tasa de filtrado glomerular estimada (TFGe).

	Cadenas ligeras Kappa (mg/L)	Cadenas ligeras Lambda (mg/L)	Ratio Kappa/Lambda
Hombres			
TFGe (ml/min/1,73 m ²)			
G1 (≥ 90)	22,20 (15,94-30,26)	18,25 (13,81-26,03)	1,16 (0,97-1,41)
G2 (60-89)	25,83 (19,73-37,55)	19,94 (15,49-28,55)	1,30 (1,07-1,63)
G3a (45-59)	38,25 (26,55-58,68)	26,01 (19,09-47,48)	1,35 (1,02-1,71)
G3b (30-44)	50,64 (34,86-77,11)	33,64 (25,45-50,30)	1,46 (1,15-1,81)
G4 (15-29)	82,29 (53,73-113,32)	55,45 (38,09-77,84)	1,39 (1,12-1,67)
G5 (< 15)	102,83 (61,68-135,85)	61,92 (43,04-103,37)	1,46 (1,19-1,78)
Mujeres			
TFGe (ml/min/1,73 m ²)			
G1 (≥ 90)	17,31 (13,22-24,78)	14,48 (11,29-19,86)	1,19 (1,00-1,41)
G2 (60-89)	22,60 (17,10-33,88)	18,47 (14,00-27,18)	1,23 (0,97-1,51)
G3a (45-59)	30,84 (21,73-47,45)	22,81 (15,53-33,08)	1,35 (1,05-1,70)
G3b (30-44)	45,74 (32,08-65,39)	31,45 (22,79-58,30)	1,38 (1,12-1,62)
G4 (15-29)	52,94 (42,09-91,78)	37,26 (27,52-53,30)	1,50 (1,26-1,81)
G5 (< 15)	81,60 (51,65-116,87)	54,94 (34,38-78,49)	1,55 (1,36-1,78)