

Original

Marcadores pronósticos en pacientes con gammapatía monoclonal de significado incierto



Silvia Medina^{a,*}, Mercedes Espiño^a, María J. Blanchard^b, Raquel Alenda^a, Ernesto Roldán^a y Luisa M. Villar^a

^a Servicio de Inmunología, Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España

^b Servicio de Hematología, Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 4 de abril de 2013

Aceptado el 11 de octubre de 2013

On-line el 1 de noviembre de 2013

Palabras clave:

Mieloma múltiple

Gammapatía monoclonal

Inmunoglobulinas

R E S U M E N

Objetivo: El estudio de biomarcadores pronósticos en gammapatías monoclonales de significado incierto (MGUS) exige usar cohortes muy grandes y seguimientos prolongados, dada la baja tasa de conversión a mieloma múltiple (MM). Nuestro objetivo fue poner a punto un modelo que permita usar con alta fiabilidad cohortes menores y seguimientos más reducidos.

Pacientes y métodos: Estudiamos 64 pacientes con MGUS, seguidos prospectivamente durante $6 \pm 0,24$ años. Los clasificamos en fenotipo *evolving* y *non-evolving* dependiendo del aumento o no de los niveles de inmunoglobulina monoclonal a lo largo del tiempo. Evaluamos el riesgo de conversión a MM en función de estos fenotipos y si los factores que predicen la conversión a MM se asocian con la aparición de un fenotipo *evolving*.

Resultados: Once pacientes mostraron fenotipo *evolving* y 53 fenotipo *non-evolving*. Todos los pacientes que convirtieron a MM mostraron previamente un fenotipo *evolving* ($p=0,003$). Al diagnóstico el fenotipo *evolving* se asoció con proteínas monoclonales de isotipo IgA (27 vs. 9%), niveles de IgG monoclonal superiores a 1.500 mg/dl ($p=0,007$, OR 9,8) y cocientes kappa/lambda alterados ($p=0,001$, OR 11,7).

Conclusiones: Los factores de riesgo de desarrollar un fenotipo *evolving* en pacientes con MGUS coinciden con los que ya se han descrito para el desarrollo de MM. Estos datos muestran la validez del modelo *evolving/non-evolving* para estudiar marcadores que predigan la evolución de pacientes con MGUS, y confirman el papel de los niveles de inmunoglobulina monoclonal y la ratio de cadenas ligeras en el pronóstico de esta enfermedad.

© 2013 Sociedad Española de Inmunología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: silvia.medina@salud.madrid.org (S. Medina).

0213-9626/\$ – see front matter © 2013 Sociedad Española de Inmunología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.inmuno.2013.10.001>

Prognostic markers in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance

A B S T R A C T

Keywords:

Multiple myeloma
Monoclonal gammopathies
Immunoglobulins

Objective: The assessment of prognostic biomarkers in monoclonal gammopathies of uncertain significance (MGUS) requires using large cohorts and long follow-ups, due to the low rate of conversion to multiple myeloma (MM). The aim of this article is to develop a model that allows smaller cohorts and shorter follow-ups to be used with high reliability.

Patients and methods: A total of 64 MGUS patients were studied and followed-up prospectively for 6 ± 0.24 years. Patients were classified as *evolving* or *non-evolving*, depending on whether the monoclonal protein levels increased or not over time. The risk of conversion to MM was tested based on these phenotypes, and whether the factors that predict conversion to MM are also associated with the appearance of an *evolving* phenotype.

Results: Eleven patients showed an *evolving* phenotype, and 53 a *non-evolving* one. All patients who converted to MM previously showed *evolving* phenotype ($P = .003$). At diagnosis, *evolving* phenotype associated with monoclonal gammopathies of IgA isotype (27 vs. 9%), monoclonal IgG levels above 1,500 mg/dl ($P = .007$, OR 9.8) and altered kappa/lambda ratios ($P = .001$, OR 11.7).

Conclusions: Risk factors for developing an *evolving* phenotype in MGUS patients are the same as those already described for the development of MM. These data show the validity of the *evolving/non-evolving* model to study markers to predict the outcome of MGUS patients, and confirm the role of the levels of monoclonal IgG and the light chains ratio in the prognosis of this disease.

© 2013 Sociedad Española de Inmunología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Las gammopatías monoclonales son un grupo de desórdenes caracterizados por la proliferación de un clon de células plasmáticas (CP) que sintetiza una inmunoglobulina monoclonal¹. La gammapatía monoclonal de significado incierto (MGUS) es la alteración de CP más frecuente. Su incidencia aumenta con la edad y afecta aproximadamente al 3% de la población mayor de 50 años¹⁻³. Es un estado asintomático, de etiología no clara, caracterizado por presentar un porcentaje de CP menor del 10% en la médula ósea y una inmunoglobulina monoclonal menor de 3.000 mg/dl⁴⁻⁶.

Estos pacientes requieren un seguimiento indefinido debido al riesgo (1% al año) de progresión a mieloma múltiple (MM)⁷⁻⁹. En estos pacientes la progresión ocurre cuando el clon de CP escapa a los mecanismos reguladores. Se han descrito una serie de alteraciones genéticas que promueven la inestabilidad genómica de la célula, como traslocaciones que afectan a la cadena pesada de la inmunoglobulina, deleciones del cromosoma 13, desregulación de la ciclina D y fenómenos de hiperdiploidía¹⁰.

Sin embargo, muchos pacientes con MGUS nunca progresan a mieloma, y sus niveles de inmunoglobulina monoclonal permanecen estables a lo largo de su vida. Por ello, es de gran interés definir biomarcadores que identifiquen a los pacientes con la mayor probabilidad de progresión². Se han definido 2 subtipos de MGUS: *evolving* y *non-evolving*. Los primeros muestran un aumento progresivo y constante de la inmunoglobulina monoclonal durante los 3 primeros años desde el diagnóstico y una mayor probabilidad de progresión a mieloma, mientras

que los segundos se caracterizan por una cantidad de inmunoglobulina monoclonal estable a lo largo del tiempo^{11,12}.

Sin embargo, la definición de *evolving* y *non-evolving* requiere de un periodo de seguimiento. A lo largo del tiempo, se han descrito una serie de factores que al diagnóstico estratifican el riesgo de conversión a MM en el MGUS. Así, un porcentaje elevado de CP en la médula ósea (entre 6 y 9%) o la presencia de CP circulantes (entidades que se ven raramente en el MGUS) se asocian con una mayor probabilidad de progresión^{13,14}. La presencia de CP con un fenotipo aberrante también aumenta el riesgo de progresión¹⁴⁻¹⁶. Sin embargo, los marcadores más usados actualmente son la ratio de cadenas ligeras, los niveles elevados de componente monoclonal (> 1.500 mg/dl) y una proteína monoclonal distinta de IgG^{7,13,17}. Se ha descrito recientemente en una cohorte de 1.148 pacientes seguidos durante 20 años que la combinación de los 3 factores anteriores se asocia con un elevado riesgo de progresión (58% a 20 años frente a un 5% en aquellos pacientes sin ninguno de estos factores)¹⁷. Sin embargo, tanto la validación de estos marcadores pronósticos como el descubrimiento de otros que se asocien más estrechamente con la conversión a MM es complicada porque se necesitan series muy amplias de pacientes seguidas durante largos periodos de tiempo. Basándonos en la asociación del fenotipo *evolving* con un mayor riesgo de conversión a mieloma nos propusimos estudiar si el clasificar a los pacientes en *evolving/non-evolving* es un modelo adecuado para el estudio de nuevos marcadores pronósticos en el MGUS. Esto requeriría menos tiempo de seguimiento, ya que en 3 años se puede saber si un paciente es *evolving*. También requeriría cohortes más reducidas, ya que entre un 15 y un 20% de los MGUS muestran este fenotipo.

Materiales y métodos

En este estudio se incluyeron 64 pacientes diagnosticados de MGUS en el Hospital Ramón y Cajal de Madrid siguiendo los criterios del *International Myeloma Working Group*⁴. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado antes de ser incluidos en el estudio. Todas las muestras de sangre que se usaron en el estudio se extrajeron para el seguimiento de su enfermedad.

Las características de los pacientes se muestran en la [tabla 1](#).

Se estudió al menos una muestra anual de suero de cada paciente. La caracterización del tipo de proteína monoclonal se realizó mediante electroforesis de proteínas séricas y posterior inmunofijación en el sistema electroforético *Hydrasys* (Sebia).

La concentración de inmunoglobulinas (IgG, IgA e IgM) en suero se cuantificó por nefelometría (IMMAGE® 800, Beckman Coulter, California, EE. UU.). La concentración de cadenas ligeras (kappa y lambda) se ensayó por turbidimetría (Analizador SPAPLUS®, Binding Site, Birmingham, Reino Unido) mediante el kit Freelite® (Binding Site). Dado que ningún paciente mostraba alteraciones renales se tomó como intervalo de normalidad para la ratio kappa/lambda 0,26-1,65¹¹.

La cuantificación de inmunoglobulina monoclonal durante el seguimiento se utilizó para monitorizar la aparición de fenotipo *evolving* (aumento de la inmunoglobulina monoclonal a lo largo del tiempo) o *non-evolving* (componente monoclonal estable durante el seguimiento).

El estudio de CP en la médula ósea se realizó mediante citometría de flujo en un citómetro FACScan (Becton-Dickinson, New Jersey, EE. UU.).

Para el análisis estadístico se utilizó el programa GraphPad Prism® 5. Las variables categóricas se analizaron mediante el test exacto de Fisher. Se estudió su valor pronóstico mediante el estudio de la *odds ratio* y el intervalo de confianza (95%). Las variables cuantitativas se analizaron mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando la *p* fue inferior a 0,05.

Resultados

Once pacientes mostraron un fenotipo *evolving* y otros 53 mostraron niveles estables de inmunoglobulina monoclonal

Tabla 1 – Características de los pacientes (N = 64)

Sexo (hombres/mujeres)	22/42
Edad (años), media ± EE	66,47 ± 1,45
Isotipo (IgG/IgA), n (%)	56/8 (86/14)
Tiempo de seguimiento (años), media ± EE	6 ± 0,24
Conversión a MM (sí/no)	3/61
Fenotipo (<i>evolving/non-evolving</i>)	11/53

EE: error estándar; MM: mieloma múltiple.

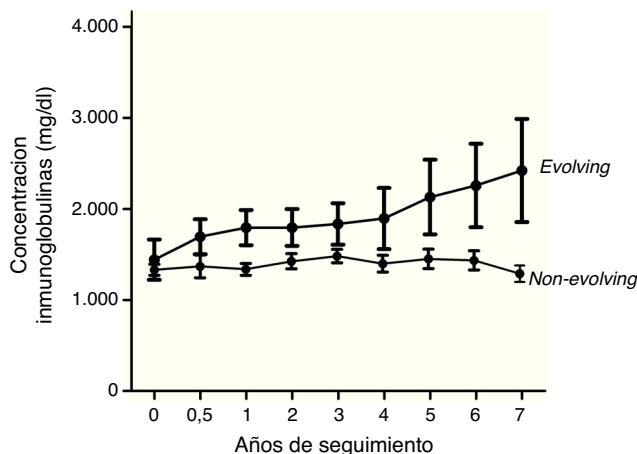


Figura 1 – Patrón de evolución de los pacientes con gammapatía monoclonal de significado incierto. Se muestran las concentraciones de la inmunoglobulina monoclonal de los pacientes *evolving* y *non-evolving* durante 7 años.

durante el seguimiento. En la [figura 1](#) se muestra el patrón de evolución de ambos grupos. Tres pacientes (27%) con fenotipo *evolving* progresaron a MM. Dos de ellos presentaban isotipo IgG kappa, y uno, IgG lambda. Los tiempos de evolución hasta la progresión fueron de 5, 6 y 7 años, respectivamente. Ningún paciente *non-evolving* desarrolló un mieloma durante el seguimiento ([fig. 2](#)). Estos datos confirman en nuestra serie la asociación entre el fenotipo *evolving* y el riesgo de conversión a mieloma.

No encontramos diferencias significativas al diagnóstico en los porcentajes de CP alteradas respecto a la celularidad total en la médula ósea, ni respecto al total de CP, entre los 2 grupos de pacientes. Tampoco observamos diferencias al establecer

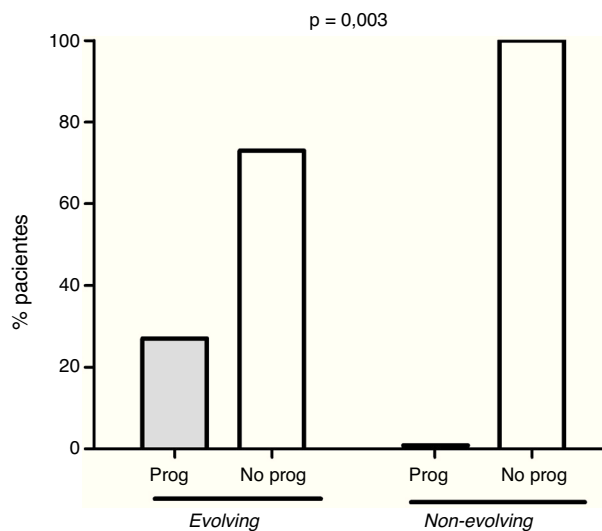


Figura 2 – Porcentaje de pacientes que progresan a mieloma. Se observan diferencias significativas en el porcentaje de progresión (Prog) entre los pacientes con fenotipo *evolving* y *non-evolving*.

Tabla 2 – Diferencias entre pacientes *evolving* y *non-evolving*

	<i>Evolving</i>	<i>Non-evolving</i>	p
MGUS	(n = 11)	(n = 53)	
% CP alteradas (sobre celularidad total)	1,49	0,97	0,55
% CP alteradas (sobre las CP totales)	75,06	69,67	0,42
% CP clonales (CP totales) (>95%/<95%)	3/8	10/43	0,67
MGUS IgG	(n = 8)	(n = 48)	
IgG (mg/dl), media ± EE	1.744 ± 175,7	1.285 ± 55,01	0,01
IgA (mg/dl), media ± EE	130 ± 37,97	151 ± 13,32	0,28
IgM (mg/dl), media ± EE	54 ± 9	89 ± 6,7	0,04
MGUS IgA	(n = 3)	(n = 5)	
IgA (mg/dl), media ± EE	863 ± 277,30	731,4 ± 134,1	0,78
IgG (mg/dl), media ± EE	755 ± 52,56	912,2 ± 145	0,25
IgM (mg/dl), media ± EE	93,33 ± 58,1	54,20 ± 14,53	1,00

CP: células plasmáticas; EE: error estándar; MGUS: gammapatía monoclonal de significado incierto.

un punto de corte en 95% de CP alteradas respecto al total de CP de médula ósea (tabla 2).

Los pacientes con mieloma frecuentemente presentan inmunosupresión de los isotipos no monoclonales. Estudiamos en nuestra serie la presencia de dicha inmunosupresión y solo se vio una pequeña disminución de IgM en MGUS IgG *evolving* (tabla 2).

A continuación estudiamos si los factores que predicen en el momento del diagnóstico un mayor riesgo de conversión a MM también predicen la aparición de un fenotipo *evolving*. Los resultados se muestran en la tabla 3.

En el grupo *evolving* se observó un mayor porcentaje de pacientes con MGUS IgA (27 vs. 9%), aunque, probablemente por el bajo número de pacientes, no había significación estadística ($p=0,1$). Además, los pacientes con fenotipo *evolving* y MGUS IgG mostraron niveles significativamente superiores de IgG al diagnóstico que los *non-evolving* ($p=0,01$). Al estratificarlos por sus niveles de IgG, observamos que una concentración de IgG superior a 1.500 mg/dl al diagnóstico se asocia con un fenotipo *evolving* ($p=0,007$).

Finalmente, vimos que el grupo *evolving* presentaba un mayor número de pacientes con una ratio kappa/lambda alterada ($p=0,0011$).

Discusión

El término MGUS, introducido por primera vez hace 34 años, denota la presencia de proteína monoclonal con un pronóstico incierto, con solo un bajo porcentaje de pacientes que convierten a mieloma¹. En este periodo de tiempo, se

han publicado pocos estudios de marcadores de progresión en MGUS ya que se necesitan series muy amplias y de elevado seguimiento temporal, debido al bajo porcentaje de progresión. Sin embargo, es de gran relevancia identificar a los pacientes con alto riesgo de evolución a mieloma y poder realizar un seguimiento más exhaustivo de los mismos que permita instaurar terapias de manera precoz.

Un importante avance en este sentido ha sido el hallazgo de 2 grupos de pacientes con pronóstico diferente según la evolución de la proteína monoclonal: *evolving* y *non-evolving*¹¹. El primer grupo se ha asociado claramente con un mayor riesgo de progresión. En este trabajo quisimos estudiar la utilidad de un modelo basado en esta clasificación para poder ensayar nuevos marcadores de progresión en el MGUS y para validar los anteriormente descritos. Confirmamos que los pacientes con fenotipo *evolving* presentan un mayor riesgo de progresión a mieloma. Además, estudiamos una serie de biomarcadores que predicen conversión a MM en el MGUS^{13,17}. Observamos que dichos marcadores también predicen la aparición de un fenotipo *evolving*. Así, hemos visto que los pacientes *evolving* mostraron, al diagnóstico, una frecuencia mayor de MGUS IgA, un mayor número de MGUS IgG con niveles altos de esta proteína y un mayor porcentaje de casos con cociente kappa/lambda alterado. Estos datos demuestran la utilidad de la monitorización del fenotipo *evolving/non-evolving* en la búsqueda de marcadores pronósticos en el MGUS y nos han permitido validar el papel pronóstico de estos factores en una cohorte más de 15 veces menor y con un tiempo de seguimiento inferior a un tercio del estudio original. Futuros estudios demostrarán la validez de este modelo para el descubrimiento de nuevos marcadores pronósticos en el MGUS.

Tabla 3 – Marcadores de progresión

MGUS	<i>Evolving</i> (n = 11)	<i>Non-evolving</i> (n = 53)	p	OR	IC 95%
Isotipo (IgG/IgA), n (%)	8/3 (73/27)	48/5 (91/9)	0,13	9,8	1,7-55,8
IgG (mg/dl), media ± EE	1.744 ± 175,7	1.285 ± 55,01	0,01		
Ratio kappa/lambda (alterada/no alterada)	9/2	15/39	0,001	11,7	2,3-60,6

EE: error estándar; IC: intervalo de confianza; MGUS: gammapatía monoclonal de significado incierto; OR: odds ratio.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes y que todos los pacientes incluidos en el estudio han recibido información suficiente y han dado su consentimiento informado por escrito para participar en dicho estudio.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol.* 2006;134:573-89.
- Rajkumar SV. MGUS and smoldering multiple myeloma: Update on pathogenesis, natural history, and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2005:340-5.
- Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MK, Offord JR, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* 2007;356:2582-90.
- International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: A report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol.* 2003;121:749-57.
- Landgren O, Kyle RA, Hoppin JA, Beane LE, Cerhan JR, Katzmann JA, et al. Pesticide exposure and risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance in the Agricultural Health Study. *Blood.* 2009;113:6386-91.
- Vachon CM, Kyle RA, Therneau TM, Foreman BJ, Larson DR, Colby CL, et al. Increased risk of monoclonal gammopathy in first degree relatives of patients with multiple myeloma or monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood.* 2009;114:785-90.
- Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak MF, et al. A long-term study of prognosis of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* 2002;346:564-9.
- Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2004;351:1860-73.
- Kyle RA, Morie A, Gertz MA, Thomas E, Witzig TE, John A, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proc.* 2003;78:21-33.
- Bladé J, Rosiñol L, Cibeira MT, Larrea CF. Pathogenesis and progression of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia.* 2008;22:1651-7.
- Rosiñol L, Bladé J, Esteve J, Aymerich M, Rozman M, Montoto E, et al. Smoldering multiple myeloma: Natural history and recognition of an evolving type. *Br J Haematol.* 2003;123:631-6.
- Rosiñol L, Cibeira T, Montoto S, Rozman M, Esteve J, Filella X, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: Predictors of malignant transformation and recognition of an evolving type characterized by a progressive increase in M protein. *Mayo Clinic Proc.* 2007;82:428-34.
- Cesana C, Klersy C, Barbarano L, Nosari AM, Crugnola M, Pungolino E, et al. Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2002;20:1625-34.
- Kumar S, Rajkumar SV, Kyle RA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Fonseca R, et al. Prognostic value of circulating plasma cells in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *J Clin Oncol.* 2005;23:5668-74.
- Pérez-Persona E, Mateo G, García R, Mateos MV, Heras N, García A, et al. Risk of progression in smoldering myeloma and monoclonal gammopathies of unknown significance: Comparative analysis of the evolution of monoclonal component and multiparameter flow cytometry of bone marrow plasma cells. *Br J Haematol.* 2009;148:110-4.
- Pérez-Persona E, Vidriales MB, Mateo G, García R, Mateos MV, García A, et al. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood.* 2007;110:2586-92.
- Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, Melton LJ, Bradwell AR, Clark RJ, et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Blood.* 2005;106:812-7.