



Estudio comparativo del índice Kappa, respecto al índice de IgG, utilizados como biomarcadores de utilidad diagnóstica en pacientes con sospecha de Esclerosis Múltiple

MANLAB®
Diagnóstico Bioquímico y Genómico

>>> El estudio compara el índice Kappa y el índice de IgG en líquido cefalorraquídeo para mejorar el diagnóstico de esclerosis múltiple, resaltando la sensibilidad y especificidad de ambos biomarcadores.

>>> AUTOR

Cocucci, Silvina E.¹

1 MANLAB, Diagnóstico Bioquímico y Genómico. Área de Proteínas, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

>>> INTRODUCCIÓN / ANTECEDENTES

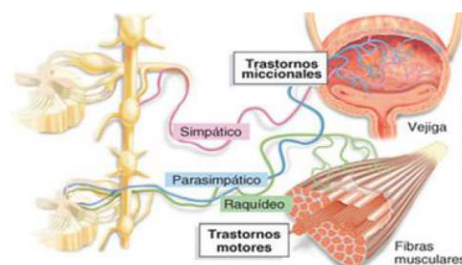
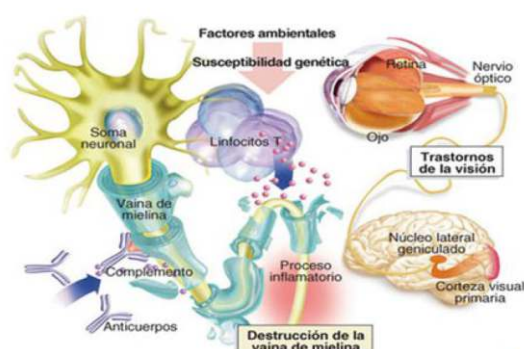
La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad neurológica, inflamatoria, crónica e inmunomediada que afecta a 2.8 millones de personas en todo el mundo (Figura 1). Se expresa mayormente en adultos jóvenes entre 20 a 30 años, con más frecuencia en mujeres y conlleva al riesgo de discapacidad física y cognitiva. Los primeros síntomas a menudo se muestran como un brote aleatorio llamado síndrome clínicamente aislado (CIS), evolucionando a EM, donde se presentan recaídas seguidas de un período de remisión. A medida que la afección progresa, las recaídas ocurren con más frecuencia y las recuperaciones son más breves.



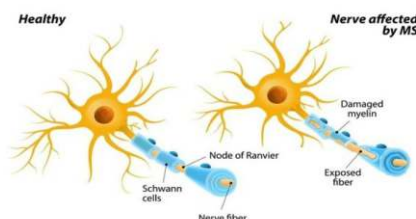
En lo que respecta a la patogenia, la EM es una enfermedad autoinmunitaria desmielinizante crónica del sistema nervioso central (SNC) mediada por linfocitos T helper 1 CD4+ dirigidos contra antígenos del complejo oligodendrocito-mielina, si bien la participación de otros subtipos celulares, como linfocitos B, monocitos-macrófagos y microglía activada, conduce a la amplificación de la respuesta inflamatoria. La lesión activa se caracteriza por la infiltración multifocal perivenular de la sustancia blanca del SNC por linfocitos y

monocitos-macrófagos, la presencia de microglía activada y la destrucción de la mielina y de los oligodendrocitos formadores de mielina, con presencia de axones parcialmente mielinizados. A este concepto se ha añadido, en base a los estudios neuropatológicos, la presencia, desde las fases iniciales de la enfermedad, de fragmentación de axones y depósito de proteína precursora de amiloide y los estudios de neuroimagen que muestran concentraciones reducidas de N-acetilaspato (marcador de integridad axonal) y atrofia cerebral, esto ha llevado a considerar a la EM como una enfermedad inflamatoria pero también neurodegenerativa (1). (Figura 2 y 3)

>> Figura 2: Patogenia de la EM



>> Figura 3: Vaina de mielina que rodea el axón neuronal en un individuo sano (izquierda) y en un paciente de esclerosis múltiple (derecha).



El diagnóstico de EM es complejo y ninguna prueba individual puede proporcionar información suficiente para apoyar el mismo; por lo tanto, los exámenes auxiliares son necesarios; como el uso de resonancia magnética cerebral y de médula para análisis de lesiones en placa del SNC; de líquido cefalorraquídeo (LCR) y potenciales evocados, que en conjunto forman

Micropipetas Axypet[®] mono y multicanal

- Amplia variedad de rangos de volumen.
- Diseño ergonómico y durable.
- Construidas con materiales de primera calidad.
- Completamente autoclavables y resistentes a radiación UV.

Se proveen con certificado de calibración.
3 años de garantía. Cumplen con normas CE.
Producidas bajo normas de calidad ISO 9001.

AXYGEN CORNING



parte de los criterios de McDonald (2). En la última actualización en 2017, el hallazgo de dos o más bandas oligoclonales (BOC) en LCR por isoelectroenfoque, se incluyó para el diagnóstico de la enfermedad, debido a su alto valor predictivo para la conversión de CIS a EM.

El análisis del LCR puede revelar anomalías típicas, aunque no específicas para EM y puede incluir la presencia de bandas oligoclonales (BOC) de IgG y/o elevación en la síntesis de IgG dentro del SNC, resultados que puede ser importantes para excluir otras condiciones como infecciones y/o procesos inflamatorios.

El índice de Tibbling-Link o índice de IgG, que es de tipo semicuantitativo, detecta la existencia de síntesis intratecal de IgG sin cuantificarla de forma exacta. Se calcula dividiendo el cociente: IgG en LCR / IgG en suero, entre el cociente: albúmina en LCR / albúmina en suero. Un valor superior a 0,8 es patológico y se observa en aproximadamente el 85% de los enfermos con EM (3).

Es aquí donde cobran relevancia las cadenas livianas libres (FLC) en el LCR como un biomarcador emergente y como una herramienta prometedora en la EM. Ya que ha mostrado en diversos estudios una alta precisión diagnóstica y ventajas metodológicas significativas sobre la detección de bandas oligoclonales. Además, existe evidencia de que las cadenas livianas libres también tienen un valor pronóstico de conversión de CIS a EM.

La determinación del índice kappa mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Índice Kappa} = (\text{FLC } \kappa \text{ en LCR} / \text{FLC } \kappa \text{ en suero}) / (\text{albúmina en LCR} / \text{albúmina en suero})$$

Tiene en cuenta la rotura de la barrera hematoencefálica, incrementando la precisión diagnóstica de EM y disminuyendo los falsos positivos.

De este modo nuestros objetivos se basaron en evaluar la sensibilidad y especificidad del índice Kappa por el ensayo Freelite utilizando la plataforma Optilite (The Binding Site), respecto al índice IgG por Nefelometría con la plataforma BN ProSpec II (Siemens) en LCR de pacientes con sospecha de EM; determinar el punto de corte del índice de Kappa para la población en estudio y correlacionar el mismo con el método gold standard de BOC por isoelectroenfoque y el diagnóstico presuntivo de los pacientes.

>>> MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes

Se realizó un estudio consecutivo y experimental donde se incluyeron un total de 125 pacientes con sospecha de EM que fueron remitidos a la sección de Proteínas de MANLAB para su evaluación mediante el ensayo de bandas oligoclonales por isoelectroenfoque en muestras pareadas de suero y LCR, desde marzo de 2020 a septiembre de 2021.

Determinaciones analíticas

La prueba de IgG de BOC se realizó por la técnica de isoelectroenfoque en gel de agarosa en el sistema semiautomático HYDRASYS 2 SCAN (Sebia), completado con una inmunofijación en la que se usa un antisuero anti-IgG acoplado a peroxidasa (Hydragel 9 CSF Focusing-Sebia).

Se consideró patrón de bandas oligoclonales positivo a la presencia de al menos dos bandas visibles exclusivamente en la muestra de LCR.

Se excluyeron a aquellos pacientes con patrón de bandas oligoclonales de tipo 3 a 5. Conservando para el análisis sólo la población de patrón tipo 1 y 2.

La albúmina sérica se determinó por método colorimétrico (Verde de Bromocresol), la inmunoglobulina G sérica mediante turbidimetría (Cobas 8000 c702-Roche) y la inmunoglobulina G en LCR por Nefelometría (BN ProSpec II-Siemens)

La albúmina en LCR se determinó para:

-índice IgG: con el kit N-Human anti-IgG látex por Nefelometría (BN ProSpec II-Siemens)

-índice Kappa: con el kit de Albúmina de bajo nivel por Turbidimetría (Optilite-The Binding Site).

Se dosaron los niveles de K-FLC en suero y LCR en todos los pacientes por turbidimetría utilizando el kit Human Kappa Freelite Mx (Optilite -The Binding Site).

Análisis estadístico

Se calculó el índice Kappa a todos los pacientes mediante la ecuación:

$$\text{Índice Kappa} = (K - \text{FLC} \times \text{sALB}) / (\text{sFLC} - K \times \text{LCR} - \text{ALB})$$

, con el objetivo de aumentar la precisión diagnóstica.

Para aquellos pacientes que presentaron K-FLC por debajo del límite de detección de la técnica (K-FLC < 0,028 mg/dl), se atribuyó un valor empírico de 0,014 mg/dl, para una evaluación estadística adicional.

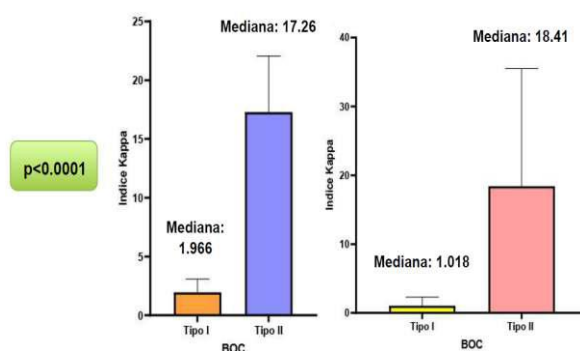
El análisis descriptivo de la población, los análisis de Mann-Whitney, de contingencia y de la curva de características operativas del receptor (ROC) se realizaron en el software GraphPad Prism, versión 9.2.0. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

>>> RESULTADOS

Como primer análisis se planteó la hipótesis que: “Los pacientes con prueba de BOC positiva (Tipo II) presentan niveles de índice Kappa significativamente más altos que los pacientes con BOC negativa (Tipo I)”, y que: “Los pacientes con pruebas de BOC positivas (Tipo II) exhiben niveles de K-FLC significativamente más altos que los pacientes con BOC negativas (Tipo I)”. En ambos casos se comprobó que la mediana de los niveles de índice Kappa y K-FLC entre los pacientes con BOC positivas fue significativamente mayor que en los pacientes con BOC negativas ($p < 0,0001$).

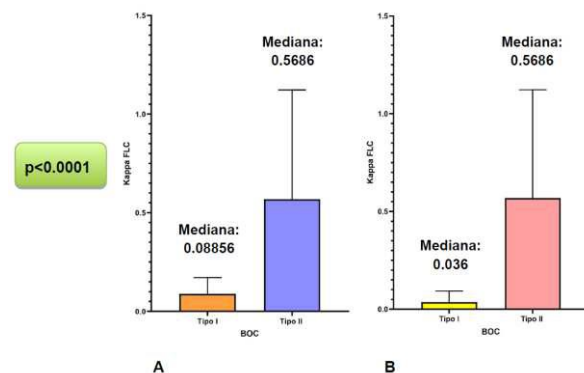
Sin embargo, al comenzar la evaluación de las bases de datos nos encontramos con valores de K-FLC no medibles (resultado < 0,028 mg/dl), por ello tomamos un valor empírico de 0,014 mg/dl. Nuevamente en ambos casos se comprobó que la mediana de los niveles de índice Kappa y K-FLC entre los pacientes con BOC positivas fue significativamente mayor que en los pacientes con BOC negativas ($p < 0,0001$) (Figuras 4 y 5).

>> Figura 4: A) Comparación de Medianas de índice Kappa sin < 0,028 mg/dl de K FLC. B) Comparación de Medianas de índice Kappa con < 0,028 mg/dl de K FLC



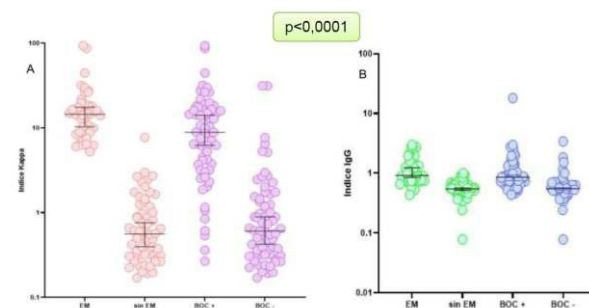
>> Figura 5: A) Comparación de Medianas de Kappa FLC sin < 0,028mg/dl de K FLC. B) Comparación de

Medianas de Kappa FLC con < 0,028 mg/dl de K FLC



Luego, con los valores obtenidos del índice Kappa e índice IgG, planteamos un análisis de distribución poblacional de los pacientes en función de su diagnóstico y resultado de bandas oligoclonales por isoelectroenfoque. (Figura 6). Observamos que las medianas de las subpoblaciones en el caso de índice Kappa fueron significativamente diferentes ($p < 0,0001$) según la prueba de Mann-Whitney, no así para el índice IgG, mostrando una deficiente resolución ya que no permite la correcta discriminación de los casos, contribuyendo a un aumento en los falsos negativos.

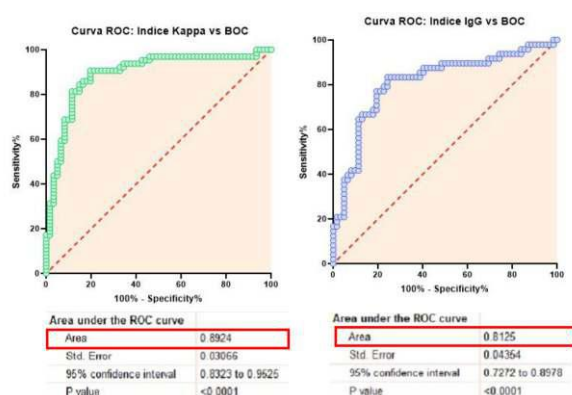
>> Figura 6: Distribución de A) Índice Kappa y B) Índice IgG en función del diagnóstico y tipo de patrón de BOC



Debido a que el objetivo de este estudio era evaluar la sensibilidad y especificidad del índice Kappa respecto al índice IgG, analizando al primero como una herramienta de detección para pruebas adicionales en el proceso de diagnóstico diferencial de la EM, se generó una curva ROC para determinar su poder discriminatorio entre pacientes con BOC positivas y negativas.

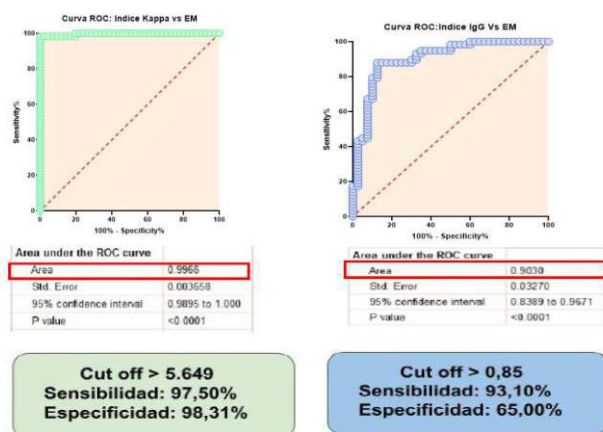
El índice Kappa mostró una concordancia muy buena para el resultado de BOC por paciente, con un área bajo la curva (AUC) de 0,8924 respecto del AUC del índice IgG de 0,8125, respectivamente. ($p < 0,0001$) (Figura 7)

>> Figura 7: Curvas ROC de A) índice Kappa y B) índice IgG en función del tipo de patrón de BOC



En cuanto a la evaluación del diagnóstico de EM, el rendimiento del índice Kappa fue muy satisfactorio, reflejado por el AUC de 0,9966, frente al AUC del índice IgG de 0,9030, respectivamente. Y el umbral del índice Kappa que mejor se adecuó según la combinación de las características de sensibilidad y especificidad del análisis de la curva ROC fue 5,649 (Figura 8). Este punto de corte ofreció una mayor sensibilidad que la prueba de índice IgG para el diagnóstico de EM (97,5% frente a 93,10%, respectivamente) con una especificidad también superior (98,31% frente a 65,0% respectivamente). Así, en ambos contextos, la técnica ha mostrado una buena capacidad diagnóstica.

>> Figura 8: Curvas ROC de A) índice Kappa y B) índice IgG en función del diagnóstico (EM)

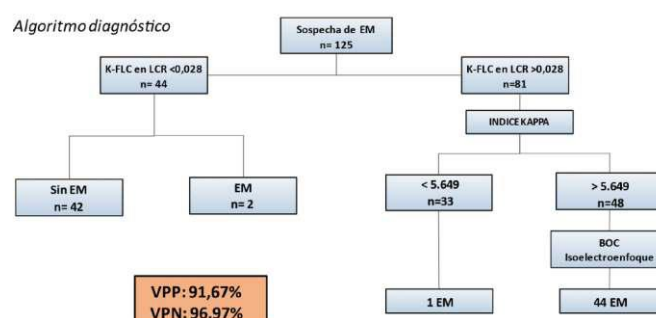


De esta manera, basándonos en los resultados obtenidos, diseñamos un algoritmo diagnóstico para evaluar cómo se podría proceder frente a casos sospechosos de EM.

Del total de 125 pacientes con sospecha de EM remitidos al área, 44 mostraron niveles de K-FLC <0,028 mg/dl, de los cuales sólo dos pacientes confirmaron un

diagnóstico de EM, sin detección de bandas oligoclonales en el gel. Sin embargo, los 42 restantes presentaron patrón de BOC de tipo I y diagnóstico negativo para EM. Ahora bien, a los 81 casos que mostraron niveles de K-FLC mayor al límite de detección (> 0,028 mg/dl), los seleccionamos para evaluar el índice Kappa con el punto de corte calculado de 5,649, donde de los 33 pacientes con índice Kappa < 5,649, sólo un caso confirmó el diagnóstico de EM con patrón de BOC positivo (tipo II); mientras que de los 48 pacientes restantes con índice Kappa > 5,649 finalmente 44 de ellos presentaron patrón de BOC positivo y diagnóstico confirmado de EM mientras que los 4 restantes mostraron patrón de BOC y diagnóstico de EM negativos. Estos resultados nos sugieren que trabajando según este algoritmo se lograría un VPP de 91,67% y VPN de 96,97%. (Figura 9)

>> Figura 9: Algoritmo diagnóstico



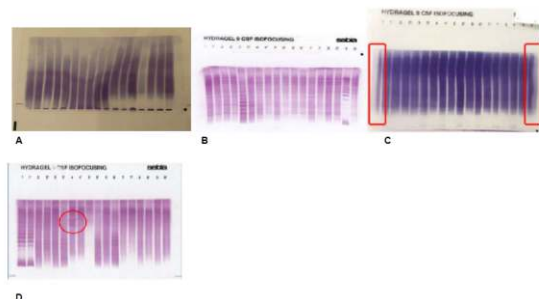
El diagnóstico de esclerosis múltiple se basa principalmente en datos clínicos y estudio por imágenes que actúan como pivote en el espectro que engloba a la enfermedad. En ciertos casos, es de gran utilidad la determinación de la síntesis intratecal de IgG, que se encuentra incrementada en individuos con EM, ya que es importante su evaluación particularmente en pacientes en los que los resultados clínicos son dudosos o insuficientes para alcanzar un diagnóstico adecuado.

De los estudios realizados en LCR de rutina en el laboratorio, la prueba de bandas oligoclonales (BOC) por isoelectroenfoque es considerada el gold standard para evaluar la síntesis intratecal de inmunoglobulina G, lo que ayuda en el diagnóstico de esclerosis múltiple, tal como se revisó en los criterios de McDonald de 2017 (4).

Sin embargo, se trata de una técnica engorrosa de múltiples pasos donde puede haber errores en la visualización posterior por una migración corta o distorsionada, errores por exceso etilenglicol/líquido o bien por la presencia de burbujas u otros artefactos en el gel, como así también, una revelación débil y/o irregular (Figura 10). Es por ello que se requiere de personal altamente capacitado para realizar el procesamiento y la

visualización posterior del gel (5)

>> Figura 10: Errores en la visualización posterior de los geles por una migración corta o distorsionada (A-B), errores por exceso etilenglicol/líquido (C) o bien por la presencia de burbujas u otros artefactos en el gel (D).



En condiciones normales, las inmunoglobulinas del LCR son mayoritariamente de procedencia plasmática, siendo su síntesis local (intratecal) muy baja (alrededor de 3 mg/día). Los aumentos de la concentración de inmunoglobulinas en el LCR pueden acontecer por: 1) aumento policlonal o monoclonal de inmunoglobulinas en el suero, con paso de las mismas hacia el LCR, aun estando la barrera hematoencefálica intacta; 2) alteración de la barrera hematoencefálica, con

mayor paso de inmunoglobulinas desde el plasma; y 3) aumento de la síntesis local (infecciones o inflamaciones agudas o crónicas, enfermedades desmielinizantes y autoinmunes) (2) (3).

Para establecer la procedencia de las inmunoglobulinas cuantificadas en el LCR, se puede recurrir a la razón de IgG y a diversos índices (Tibbling, Tourtellotte, Link, etc.). Mediante ellos, se puede conocer si existe un aumento de la síntesis intratecal de las distintas inmunoglobulinas, aunque habitualmente se aplican solamente a la IgG. La elevación del índice de IgG refleja la presencia y la actividad de linfocitos B locales, por ende, este índice adquiere especial importancia en el estudio de las enfermedades desmielinizantes del SNC, en particular en el de la EM, donde estos linfocitos se encuentran infiltrando las lesiones de las vainas de mielina.

El índice de Link o de IgG establece una corrección con el fin de eliminar la contribución o el efecto del paso de las inmunoglobulinas plasmáticas hacia el sistema nervioso central en condiciones de funcionamiento normal de la barrera hematoencefálica,



GLYMS®

Información en tiempo real

**La trazabilidad no es opcional,
es el pilar de un laboratorio confiable.
Y con GLYMS, es verificable y precisa.**

Con el **Software para Laboratorios GLYMS**, cada acción dentro del sistema queda registrada, identificada y protegida. Desde la autenticación de usuarios hasta el seguimiento completo de cada muestra, propia o derivada, **la trazabilidad es precisa y verificable**. Control de accesos, auditoría de procesos y seguridad en tiempo real. **GLYMS no solo registra: garantiza.**

www.glyms.com

teniendo en cuenta a la vez el paso de proteínas por alteración de la misma. Este índice que es utilizado como técnica complementaria a la prueba de BOC, aunque constituye un sencillo estudio automatizado, posee la desventaja de presentar una alta tasa de falsos negativos y resultados que no son coherentes con lo observado en un gel de bandas oligoclonales, debido en parte a la influencia ejercida por el daño de la barrera hematoencefálica y a los procesos inflamatorios, característicos en el desarrollo de la esclerosis múltiple.

Teniendo en cuenta entonces que en el laboratorio actualmente poseemos estas herramientas diagnósticas y, que la principal limitación de la determinación de IgG de origen local en SNC viene dada por la falta de especificidad, -debido a que la síntesis intratecal se presenta en diversas enfermedades neurológicas, diferentes a la EM, especialmente las que presentan una afectación inflamatoria central-, es que abordamos este trabajo al análisis de otras pruebas de tipo complementarias, que aporten beneficios prácticos, actuando como un biomarcador de sensibilidad y especificidad óptimas, además de ser reproducible, fiable, de bajo costo y sencillo de realizar.

En este sentido el índice Kappa es el parámetro que ha presentado una mayor sensibilidad y especificidad clínica para detectar pacientes que presenten EM, siendo el índice Lambda menos informativo (6) (7). El índice Kappa ha demostrado presentar ventajas metodológicas frente a las pruebas de BOC, como, por ejemplo, la automatización completa de la técnica, para obtener como objetivo final un resultado cuantitativo y una menor dependencia de la experiencia del personal del laboratorio.

En el presente estudio, comenzamos estableciendo los valores de corte para las cadenas livianas libres kappa (K-FLC) y luego el punto de corte del índice Kappa, enfrentándolo a los resultados de BOC y diagnóstico de cada paciente. Para ello previamente revisamos la incorporación al análisis de aquellos casos que presentaron valores por debajo del límite de detección de la técnica (K-FLC <0,028 mg/dl), a los cuales se les atribuyó un valor residual empírico de 0,014 mg/dl y evaluamos a la población con y sin estos pacientes, según la hipótesis que establecía que: "Los pacientes con pruebas de BOC positivas (Tipo II) exhibieron niveles de K-FLC significativamente más altos que los pacientes con BOC negativas (Tipo I) ", y, más aún que: "Los pacientes con prueba de BOC positiva (Tipo II) presentaron niveles de índice K significativamente más altos que los pacientes con BOC negativa (Tipo I)". Confirmando ambas premisas con un $p < 0,0001$.

De esta manera el punto de corte establecido para K-FLC fue de 0,028 mg/dl (límite de detección del ensayo provista por el fabricante) y mediante el análisis de las curvas ROC, el punto de corte obtenido para el índice Kappa fue 5,649; alcanzando una alta sensibilidad y especificidad (97,5% y 98,31%, respectivamente) para el diagnóstico de EM.

Según datos previamente publicados, el índice Kappa logró una sensibilidad y especificidad comparables a los resultados de BOC obtenidos para el diagnóstico de EM (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14). Evaluando la bibliografía disponible se observó que para Carmen Teresa Sanz Diaz et col. (14) el umbral del índice Kappa que mejor puntuó, según la combinación de las características de sensibilidad y especificidad del análisis de la curva ROC en cuanto al diagnóstico de EM, fue 3,045. Este punto de corte del índice Kappa ofreció una mayor sensibilidad que la prueba de BOC para la EM (97,78% frente a 88,89%, respectivamente) con una especificidad ligeramente inferior (86,29% frente a 90,86%, respectivamente).

Por su parte, Valencia-Vera et col.(8), hallaron una especificidad similar del 85,66% para un punto de corte cercano del índice Kappa (2,91), aunque la sensibilidad en su cohorte alcanzó solo el 83,78%; y Agnello et col.(15), quienes también propusieron un punto de corte de 2,9 para el cribado de la EM con una sensibilidad de 97,4% y con una especificidad de 64,7%, lo que puede explicarse por una cohorte más pequeña (56 pacientes) y una mayor proporción de pacientes con EM incluidos en ese estudio. Por otra parte, en el estudio multicéntrico más grande realizado hasta el momento, Leurs et col.(9) describieron un punto de corte de índice Kappa de 6,6 que logró una sensibilidad y especificidad de 93,33 y 87,31%, respectivamente, validando una vez más su eficacia. Este límite también está cerca del definido en Presslauer et col.(10) que reportaron un punto de corte del índice Kappa de 5,9, el cual alcanzó una sensibilidad y una especificidad del 96% y 86%, respectivamente.

Una vez obtenidos los parámetros clínicos y el punto de corte del índice Kappa, realizamos una comparación con el índice IgG-ya que este último es utilizado como técnica complementaria a la prueba de BOC-. Evaluando mediante curvas ROC la correlación con el resultado de bandas oligoclonales y diagnóstico de EM. En el primer análisis de índices respecto de resultado de BOC, obtuvimos un área bajo la curva (AUC) de 0,8924 para índice Kappa respecto de 0,8125 para índice IgG con un $p < 0,0001$. Mientras que en un análisis posterior una diferencia en el AUC de 0,9966 respecto de 0,9030 para un $p < 0,0001$, con una sensibilidad y especificidad de 97,5



Bernardo Lew
Importador de Soluciones para Laboratorios

mindray LÍNEA 700 HEMATOLOGÍA

HEMOGRAMA +

ERITROSEDIMENTACIÓN

EN UN SOLO EQUIPO

Llegó el Futuro de la Hematología con los equipos BC-720 y BC-780 de Mindray, únicos equipo en el mercado con eritrosedimentación incluido en el MISMO equipo. Presentamos la evolución en hematología con tecnología SF CUBE. Citometría de Flujo Laser + Fluorescencia de última generación, diferenciación precisa de células inmaduras y leucocitos, recuento de Glóbulos Rojos, Plaquetas Híbridas, NRBC y Reticulocitos.

Explorá el futuro de la hematología con la línea 700 de Mindray.



SF Cube

Tecnología de Análisis Celular

CALIDAD

EXCELENCIA

RENTABILIDAD



BC-780



BC-720

VISITÁ NUESTRA PÁGINA WEB
www.bernardolew.com.ar

y 98,31 %, en comparación con 93,10 y 65,0%, respectivamente. Estos resultados nos indican que el ensayo de índice Kappa es metodológicamente muy superior al índice IgG.

Luego de abordar estos resultados propusimos un algoritmo diagnóstico para determinar la síntesis intratecal de inmunoglobulina G, basados en la determinación de la cadena liviana libre Kappa e índice Kappa en LCR antes de realizar la prueba de BOC por isoelectroenfoque.

Es importante destacar que, en nuestra cohorte, sólo encontramos tres casos con EM, dos de ellos con BOC negativo, y el restante, BOC positivo que hubieran sido negativos para en nuestro algoritmo, lo que respalda que el límite técnico de detección de K-FLC en LCR y punto de corte de índice Kappa en nuestra plataforma permite un buen rendimiento del ensayo para el propósito aquí estudiado. Además, 44 de 48 pacientes resultaron positivos para patrón de BOC y diagnóstico EM y los cuatro restantes negativos para BOC y para el diagnóstico diferencial, con K-FLC mayor a 0,028 mg/dl e índice Kappa superior a 5,649, lo que corrobora la alta sensibilidad para detectar la síntesis de inmunoglobulina intratecal. En particular, estos pacientes con EM no mostraron signos de inmunoglobulina sintetizada intratecalmente por BOC negativa. Un resultado que recuerda que las bandas oligoclonales no son patognomónicas de la EM y que incluso con técnicas de LCR más sensibles, el diagnóstico de EM es complejo y se basa en una combinación de hallazgos clínicos y estudios como resonancia magnética para respaldarlo. Como también fue evidenciado por Ferraro et col. (16), que publicaron un estudio de una población con sospecha de EM que no presentaba bandas en las pruebas por isoelectroenfoque y donde un índice Kappa de cut off de 5,8 identificó aproximadamente una cuarta parte de los pacientes con EM y BOC negativas, lo que indica una mayor sensibilidad sobre las bandas oligoclonales.

Dada la buena sensibilidad alcanzada y la facilidad de su implementación, varios estudios avalan que el K-FLC en LCR y el análisis índice Kappa sean considerados en futuras revisiones de criterios como útiles herramientas diagnósticas y una adecuada alternativa a las BOC. Es por ello que en el 40º Congreso del Comité Europeo para el Tratamiento y la Investigación de la Esclerosis Múltiple (ECTRIMS) ya se estableció la utilidad de las k-FLC como una prueba paraclínica que apoya al diagnóstico de la EM debido a que está ampliamente disponible, es un análisis completamente automatizado y simple de realizar, es objetivo y fácil de interpretar (independizándose del evaluador) y según este consenso se trata de una técnica intercambiable a las BOC por isoelectroenfoque.

El algoritmo diagnóstico simplificado que proponen los expertos en ECTRIMS comprende también a pacientes que pueden ser asintomáticos, pero presentan lesiones en resonancia magnética, por lo tanto se diferencia según la cantidad de lesiones topográficas presentadas por el individuo.

De esta manera el hallazgo de 2 topografías (sintomáticas o asintomáticas), del nervio óptico, yuxtacortical/cortical, periventricular, infratentorial y/o medular más la evaluación de k-FLC o BOC por isoelectroenfoque o la presencia de 6 lesiones CVS (Signo de vena central) - que son lesiones altamente sugestivas de EM que se evidencian por imágenes de resonancia magnética- son suficientes para definir el diagnóstico de EM. Cuando se presentan 4 topografías ya es suficiente para declarar el diagnóstico de la enfermedad y si se presentara 1 sola topografía se requiere del estudio conjunto de k-FLC y BOC por isoelectroenfoque o del estudio de DIT (Diseminación en Tiempo) combinado a más de 6 lesiones de la vena central y más de una lesión del anillo paramagnético.

Debido a la gran utilidad de las cadenas livianas libres kappa en LCR en el diagnóstico de la enfermedad es que habría que definir los mejores puntos de corte de decisión para este fin. En nuestro trabajo la aplicación del algoritmo de cribado propuesto, respaldado por un alto VPN (96,97%), habría evitado la realización de hasta 77 (38,4%) de los 125 estudios de BOC propuestos en este estudio, lo que habría resultado en un protocolo de diagnóstico más rentable, ya que por ejemplo en nuestra cohorte hubiera supuesto una ganancia total de ~17 h de tiempo de mano de obra y un ahorro considerable en los costos de los reactivos. Además, el reemplazo de los estudios de BOC en los pasos iniciales por K-FLC LCR más índice Kappa ofrecería un resultado más rápido para la síntesis de inmunoglobulina intratecal, lo que permitiría un manejo clínico más pronto de los pacientes si fuera necesario. Permitiendo realizar la técnica de alta complejidad como las BOC para los casos que así lo requieran como por ejemplo para aquellos pacientes con niveles de K-FLC bajos pero fuerte sospecha de EM basada en imágenes o hallazgos clínicos. Aun así, el escaneo visual de los geles por isoelectroenfoque permite la identificación de diferentes patrones de distribución de inmunoglobulinas entre las muestras de suero y LCR que pueden ser de interés para otras condiciones clínicas específicas y para establecer la clonalidad.

Como última observación al trabajo realizado, sería de interés para obtener un valor de corte de índice kappa más fiable, definir nuestros propios valores de referencia para el dosaje de k-FLC.

En conclusión, la determinación del índice de cadena liviana libre kappa es un enfoque diagnóstico prometedor para evaluar la síntesis de inmunoglobulina intratecal en la esclerosis múltiple. Sin embargo, las bandas oligoclonales son altamente prevalentes en esta enfermedad y pueden detectar una síntesis intratecal de IgG incluso cuando el índice Kappa está por debajo del umbral. Consideramos entonces razonable el uso secuencial de ambos métodos, lo que garantiza un rendimiento diagnóstico óptimo y rentable, basándonos en una técnica estandarizable y disponible globalmente.

La validación futura del algoritmo de detección es necesaria, mediante estudios prospectivos multicéntricos y más amplios, ya que sería un gran aporte la incorporación de este método cuantitativo, automatizable que permite su estandarización y empleo de forma rutinaria en el laboratorio clínico y no depende de la habilidad y experiencia del personal de laboratorio.

>>> BIBLIOGRAFÍA

1. Arcos Sánchez C.1, Salinas Vela F.T.2, Olmedilla González M.N. Nuevas perspectivas en el tratamiento de la Esclerosis múltiple. Sanidad Militar. vol.67 no.2 Madrid abr./jun. 2011
2. Gladys Elsa Mendoza-Suárez. Bandas oligoclonales en líquido cefalorraquídeo de pacientes con esclerosis múltiple. Biblioteca Central Pedro Zulen. 2013.
3. O. Fernández, V.E. Fernández y M. Guerrero. Esclerosis múltiple. Medicine. 2015;11(77):4610-21.

4. Alan J Thompson, Brenda L Banwell, Frederik Barkhof, William M Carroll, Timothy Coetzee, Giancarlo Comi, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. The Lancet Neurology. (2018) 17(2):162-73.
5. Sebia. Hydragel 9 CSF Isofocusing. Ref. 4355. France: Sebia; 2021.
6. Sophie Desplat-Jégou, Lionel Feuillet, Jean Pelletier, Dominique Bernard, André Ali Chérif, José Boucraut. Quantification of immunoglobulin free light chains in cerebrospinal fluid by nephelometry. Journal of Clinical Immunology. 2005; 25(4): 338-45.
7. Paloma Menéndez-Valladares, María Isabel García-Sánchez, Myriam Adorna Martínez, Jose Luis García De Veas Silva, Carmen Bermudo Guitarte, Guillermo Izquierdo Ayuso. Validation and meta-analysis of kappa index biomarker in multiple sclerosis diagnosis. Autoimmunity reviews. 2019;18(1):43-49.
8. Valencia-Vera E, Martínez-Escribano García-Ripoll A, Enguix A, Abalos-García C, Segovia-Cuevas MJ. Aplicación de cadenas ligeras libres κ en líquido cefalorraquídeo como biomarcador en el diagnóstico de esclerosis múltiple: desarrollo de un algoritmo de diagnóstico. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2018; 56(4):609-13.
9. C E Leurs, Ham Twaalfhoven, B I Lissenberg-Witte, V van Pesch, I Dujmovic, J Drulovic, M Castellazzi et al. Kappa free light chains is a valid tool in the diagnostics of MS: A large multicenter study. Multiple Sclerosis. 2020; 26(8):912-23.
10. Stefan Presslauer, Dejan Milosavljevic, Wolfgang Huebl, Fahmy Aboulenein- Djamshidian, Walter Krugluger, Florian Deisenhammer et al. Validation of kappa free light chains as a diagnostic biomarker in multiple sclerosis and clinically isolated syndrome: A multicenter study. Multiple Sclerosis. (2016) 22(4):502-10.
11. Ilaria Crespi, Maria Giovanna Sulas, Riccardo Mora, Paola Naldi, Domizia Vecchio, Cristoforo Comi, Roberto Cantello et al. Combined use of Kappa Free Light Chain Index and Isoelectrofocusing of Cerebro-Spinal Fluid in Diagnosing Multiple Sclerosis: Performances and Costs. Clinical Laboratory. 2017; 63(3):551-9.
12. Stefan Presslauer, Dejan Milosavljevic, Wolfgang Huebl, Silvia Parigger, Gabriele Schneider-Koch, Thomas Bruecke. Kappa free light chains: diagnostic and prognostic relevance in MS and CIS. PLoS One. 2014; 9(2):e89945.
13. Kari M Gurtner, Eslam Shosha, Sandra C Bryant, Bruna D Andregetto, David L Murray, Sean J Pittock et al. CSF free light chain identification of demyelinating disease: comparison with oligoclonal banding and other CSF indexes. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2018; 56(7):1071-80.
14. Carmen Teresa Sanz Díaz, Silvia de las Heras Flórez, Mercedes Carretero Perez, Miguel Ángel Hernández Pérez, Vicente Martín García. Evaluation of Kappa Index as a Tool in the Diagnosis of Multiple Sclerosis: Implementation in Routine Screening Procedure. Frontiers in Neurology. 2021; 12: 676527.
15. Luisa Agnello, Bruna Lo Sasso, Giuseppe Salemi, Patrizia Altavilla, Emanuela Maria Pappalardo, Rosalia Caldarella, et al. Clinical Use of κ Free Light Chains Index as a Screening Test for Multiple Sclerosis. Laboratory Medicine. 2020; 51(4):402-7.
16. Ferraro D, Trovati A, Bedin R, Natali P, Franciotta D, Santangelo M, et al. Cerebrospinal fluid kappa and lambda free light chains in oligoclonal band-negative patients with suspected multiple sclerosis. European Journal Neurology. 2020; 27(3):461-7.

MANLAB®

Diagnóstico Bioquímico y Genómico

AVAN

Coagulómetros Semiautomáticos:
Soluciones Integrales para tu Laboratorio.

DIAGON®
Solutions beyond Imagination

COMUNIDAD EUROPEA



Coagulometro para realizar pruebas de Dímero.
COAG 2D



Instrumento de coagulación semiautomatizado.
COAG 4D Plus

Características:



Apto para realizar más de 15 pruebas (AT III, Dímero D, Anticoagulante Lúpico y más).



Diseño compacto y libre de mantenimiento.



Interfaz intuitiva y simple.



Conectividad LIS unidireccional.



ventas@avan.com.ar
www.avan.com.ar
+54 (11) 4754-2168
+54 (9 11) 2796-9201

www.avan.com.ar