

CHAÎNES LÉGERES LIBRES D'IMMUNOGLOBULINES

ou « PROTEINES DE BENGE-JONES »

DEFINITION

Les « protéines de Bence Jones » sont constituées de chaînes légères libres (CLL) monoclonales d'immunoglobulines (Ig), d'isotype Kappa (κ) ou Lambda (λ), de poids moléculaire (PM) 23 000 Da ; elles peuvent être détectées dans le sang et/ou dans les urines (on parle alors de protéinurie de Bence Jones). Ces CLL peuvent ou non se polymériser sous forme de dimères (surtout les CLL λ) voire de multimères (et atteindre ainsi des poids moléculaires élevés jusqu'à 900 kDa) ; elles peuvent également interagir avec d'autres protéines (albumine, α_1 et α_2 globulines). Toutes ces caractéristiques physicochimiques particulières rendent délicates les techniques à notre disposition pour les rechercher/quantifier dans le sérum et/ou les urines (grande variabilité de migration électrophorétique et/ou de reconnaissance antigénique).

NB : on ne parle de « protéines de Bence Jones » que lorsque les CLL sont MONOCLONALES ; les CLL polyclonales n'étant pas des « protéines de Bence Jones »

Synonyme: chaînes légères libres kappa ou lambda.

PHYSIOPATHOLOGIE

Lors de la synthèse d'Ig par les plasmocytes, les chaînes légères (κ ou λ) sont synthétisées en excès (+ 40 %) par rapport aux chaînes lourdes (μ , α , γ , δ , ϵ) pour permettre une conformation correcte de l'Ig complète. La proportion de CLL κ et CLL λ produites est dans un rapport de deux pour un. Les monomères CLL κ sont éliminés rapidement du sang, en 2 à 4 heures, tandis que les dimères ou multimères CLL λ sont éliminés en 3 à 6 heures. Au final, le sérum contient plus de CLL λ que de CLL κ , en dépit d'une production plus importante de CLL κ .

En situation physiologique, ces CLL sont présentes en faible quantité ; du fait de leur faible PM, elles sont filtrées par le glomérule, puis réabsorbées et métabolisées au niveau du tube proximal, et seule une quantité minimale (1-10 mg) est finalement éliminée dans les urines.

Dans certaines situations pathologiques (insuffisance rénale, maladies hématologiques), ces CLL vont s'accumuler dans le sang ou être éliminées de façon plus importante dans les urines du fait de la saturation des mécanismes de réabsorption. Dans le cadre d'une insuffisance rénale, il va y avoir une accumulation des 2 isotypes de CLL ; dans le cadre d'une hémopathie à

sécrétion de CLL monoclonales, il n'y aura accumulation que d'un seul des 2 isotypes. Ces CLL produites en excès vont alors précipiter au niveau du tube distal et entraîner une insuffisance rénale ou une aggravation de cette dernière. L'excès de CLL circulantes va parfois avoir un effet délétère en se déposant au niveau tissulaire, entraînant un risque important de complications multiviscérales (amylose AL, maladies de dépôts de CLL, neuropathies ...).

INDICATION DE LA RECHERCHE / DU DOSAGE DES CLL D'IG

En cas de symptomatologie clinique ou biologique évocatrice de myélome, d'amylose ou autre gammopathie monoclonale, y compris si l'électrophorèse des protéines sériques est normale (contexte clinique +++).

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT – CONSERVATION, TRANSPORT

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

NB : le dosage des CLL doit être réalisé dans le sérum ; dans les urines, il n'est pas recommandé.

■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Contexte du dosage : pathologie connue, suivi thérapeutique ?

METHODES DE DETECTION / DOSAGE

■ Electrophorèses des protéines sériques et urinaires

A l'électrophorèse des protéines sériques ou urinaires (réalisée sur gel d'agarose ou sur capillaire), la présence d'un composant monoclonal sera suspectée devant la présence d'un pic (bande étroite) d'aspect monoclonal. Toutefois, dans le cadre d'une recherche de CLL, cette technique peut être mise en défaut du fait du faible taux de CLL (souvent inférieur à 2 g/L), de leur caractéristique de migration (elles peuvent migrer des α -globulines aux γ -globulines) et de leur capacité à lier d'autres protéines. La quantification des CLL (sériques ou urinaires) peut se faire par densitométrie : intégration du pic lorsque celui-ci est intégrable. Dans les urines, on peut rendre un pourcentage protéine de Bence-Jones/protéinurie totale.

■ Immunofixation sérique et/ou urinaire

L'immunofixation (IF) est une technique plus sensible, permettant à la fois de caractériser (préciser l'isotype de l'Ig entière ou de la CLL) et de confirmer le caractère monoclonal de l'anomalie décelée (ou non) à

l'électrophorèse. Pour caractériser le caractère « libre » des chaînes légères il est indispensable de réaliser l'IF avec un immun sérum capable de réagir avec les chaînes légères totales « liées et libres » et avec un autre immun sérum capable de ne réagir qu'avec les chaînes légères libres (l'immun sérum réagit alors avec un épitope qui n'est accessible que lorsque la chaîne légère est libre), l'immun sérum anti-chaînes légères totales étant plus sensible que l'immun sérum anti-CLL. L'IF urinaire peut être effectuée sur des urines concentrées ce qui permet d'augmenter la sensibilité de la technique lorsque le taux de CLL urinaire est très faible.

D'autres techniques permettent de confirmer la présence de CLL notamment sériques avec la même sensibilité que l'IF : l'immunoélectrophorèse (la lecture étant relativement subjective, notamment en cas de très faible taux) et l'immunosoustraction.

■ Dosage néphélométrique

Depuis le début des années 2000, nous disposons d'un nouvel outil dans le diagnostic et suivi des gammopathies monoclonales à CLL : le dosage néphélométrique. Ce dosage utilise un réactif composé d'anticorps polyclonaux monospécifiques anti-CLL κ et anti-CLL λ ; ces anticorps vont reconnaître un épitope qui n'est accessible que si les chaînes légères sont libres et qui est masqué si la chaîne légère est associée à une chaîne lourde. La sensibilité du dosage sérique est excellente : 1,5 mg/L pour les CLL κ et 3,0 mg/L pour les CLL λ . Le caractère monoclonal d'un isotype de CLL pourra alors être suspecté si le ratio CLL κ /CLL λ est fortement déséquilibré, toutefois seule une technique qualitative telle que l'IF pourra réellement affirmer la monoclonalité. Il est à noter également qu'une importante augmentation des CLL polyclonales (ex : au cours d'une insuffisance rénale, de maladies auto-immunes, de maladies inflammatoires chroniques ...) pourra masquer la présence de CLL monoclonales de faible taux. L'interprétation des dosages et du ratio doit donc s'inscrire dans le cadre d'un bilan clinico-biologique clairement renseigné.

La place du dosage urinaire est plus discutée : la sensibilité du test reste excellente mais dépend des conditions de recueil (urines limpides et acheminées dans les bonnes conditions). De plus, il existe une réelle variabilité inter et intra-individuelle dans la corrélation entre les dosages sérique et urinaire du fait de l'impact de la fonction rénale sur l'élimination des CLL (au cours des hémopathies malignes, de nombreux facteurs peuvent altérer la fonction rénale). Aussi, le dosage sérique semble mieux corrélé à l'activité de la maladie que le dosage urinaire.

Sensibilité des différentes techniques pour la détection, l'identification et le dosage des CLL d'Ig

Techniques	Sérum (mg/L)	Urines (mg/L)
Electrophorèse	500 – 2 000	10 (si concentration)
Immunofixation	150 - 500	5 – 30 (si concentration)
Dosage néphélométrique	2 - 3	0,5 (si urines limpides)

VALEURS DE REFERENCE

- Electrophorèse / IF / IEP / immunosoustraction : absence d'anomalie décelable.
- Dosage néphélométrique : à titre indicatif pour le test Freelite® The Binding Site

■ Dans le sérum

- Chaînes Légères Libres Kappa : 3,3 à 19,4 mg/L.
- Chaînes Légères Libres Lambda : 5,7 à 26,3 mg/L.

■ Dans les urines

- Chaînes Légères Libres Kappa : < 10 mg/L.
- Chaînes Légères Libres Lambda : < 5 mg/L.

La diminution du débit de filtration glomérulaire entraîne une augmentation des CLL sériques κ et λ par le biais de l'augmentation de leur $\frac{1}{2}$ vie jusqu'à 2 à 3 jours.

- Chez les sujets à fonction rénale normale : les CLL κ sont produites 2 fois plus, mais leur élimination est environ 3 fois plus rapide que celle des CLL λ . De fait, le ratio R $\kappa\lambda$ est de 2/3 environ, soit 0,66.
- Chez les patients à fonction rénale altérée : l'augmentation des CCL κ est plus importante car leur élimination est moindre. De fait, le ratio R $\kappa\lambda$ augmente au-delà de 1 (valeurs moyennes de l'ordre de 1,8).

De nouvelles normes du R $\kappa\lambda$ ont été adaptées aux patients ayant un myélome multiple et une insuffisance rénale, permettant ainsi de diagnostiquer un myélome y compris en cas d'insuffisance rénale.

Normes du Ratio $\kappa\lambda$ dans le sérum

Pathologies	Normes R $\kappa\lambda$	Spécificité
Sans insuffisance rénale	0,26 – 1,65	93 %
Avec insuffisance rénale	0,3 – 3,3	99 %

INTERPRETATION

Interprétation (Bradwell AR, *Serum Free Light Chain Analysis; 5th Edition*)

Si R $\kappa\lambda$ normal avec augmentation des CLL κ et augmentation des CLL λ	Augmentation polyclonale ou insuffisance rénale
Si R $\kappa\lambda$ augmenté	Présence d'une CLL κ monoclonale
Si R $\kappa\lambda$ diminué	Présence d'une CLL λ monoclonale

Pathologies : gammopathies monoclonales

Le diagnostic de myélome multiple (MM) repose sur la présence d'une plasmocytose médullaire, d'une protéine monoclonale sanguine et/ou urinaire et de critères CRAB (*cf infra*).

Depuis 2014, de nouveaux marqueurs permettent de poser le diagnostic de MM en l'absence de critères CRAB, incluant les CLL.

Nouvelles définitions (IMWG 2014)

■ MGUS non-IgM

- protéine monoclonale sérique < 30 g/L,
- plasmocytose médullaire < 10 %*,
- pas de dommage d'organes en lien avec la dyscrasie plasmocytaire (CRAB ou amylose).

* L'analyse de la moelle osseuse peut être reportée chez les patients de faible risque : Ig de type IgG, protéine monoclonale < 15 g/l, ratio CLL Freelite® normal.

Le risque de progression est estimé à 1%/an.

■ MGUS-IgM

- protéine monoclonale sérique < 30 g/L,
- lymphoplasmocytose médullaire < 10 %,
- pas de dommage d'organes en lien avec la dyscrasie plasmocytaire (anémie, hyperviscosité, lymphadénopathie, hépatosplénomégalie).

Le risque de progression est de 1 à 5 %/an.

■ MGUS à CLL

- Ratio CLL anormal (< 0,26 ou > 1,65),
- CLL impliquée élevée (élevées avec ratio > 1,65 ou élevées avec ratio < 0,26),
- pas d'Ig monoclonale entière,
- plasmocytose médullaire < 10 %,
- pas de dommage d'organes en lien avec la dyscrasie plasmocytaire (CRAB ou amylose),
- protéine monoclonale urinaire < 500 mg/24 h.

Le risque de progression est de 0 à 3 %/an.

■ SMM (*smoldering multiple myeloma*) ou myélome indolent

- protéine monoclonale sérique ≥ 30 g/L (IgG ou IgA) ou protéine monoclonale urinaire ≥ 500 mg/24 h,
- et/ou $10\% \leq$ plasmocytose médullaire < 60 %,
- absence d'événement définissant le myélome (absence de CRAB et de nouveaux marqueurs).

Dans ce contexte, un ratio CLL / Freelite® plus de 50 % du taux de CLL circulantes après traitement est associée à une meilleure survie à 5 ans : 88 % vs 39 %, $p < 0,0001$.

■ MM

La présence d'une protéine monoclonale sanguine et/ou urinaire est un critère non obligatoire dans la définition du myélome ; il permet de distinguer les myélomes sécrétants des non-sécrétants,

Le MM est donc défini par une plasmocytose médullaire > 10 % (ou un plasmocytome médullaire ou extra-médullaire) et au moins un événement définissant le myélome : au moins un critère CRAB et/ou au moins un marqueur de malignité (**nouveaux critères diagnostiques du MM**) :

- lésions focales à l'IRM > 1,
- plasmocytose médullaire $\geq 60\%$,
- ratio CLL impliquée (CLLi) / CLL non impliquée (CLLni) ≥ 100 (seuil validé avec la technique Freelite® Binding Site, avec une concentration en CLLi > 100 mg/l).

Ces **nouveaux critères diagnostiques** ont été choisis, car ils sont associés à un risque de progression vers le myélome à 2 ans > 80 % ; de fait, ils ont permis de reclasser 15 % des patients SMM en MM, avec une prise en charge thérapeutique adaptée plus précoce.

En outre, les critères CRAB ont été redéfinis en 2014 :

- C : calcium sérique > 2,75 mmol/l ou à plus de 0,25 mmol/l supérieure à la limite haute des valeurs de référence, attribuable au myélome,
- R : fonction rénale : débit de filtration glomérulaire (DFG) mesuré ou estimé (MDRD, CKD-EPI) < 40 ml/min ou diminution de plus de 40 % de la limite inférieure, attribuable au myélome (hors néphropathie diabétique ou toxique, hors atteinte rénale pouvant être associée au myélome, mais non due au myélome ; recours à la biopsie rénale préconisée, surtout si CLL < 500 mg/l),
- A : anémie : Hb < 100 g/l ou à plus de 20 g/l inférieure à la limite basse des valeurs de référence, attribuable au myélome,
- B : Lésions osseuses : l'IMWG valide et recommande les techniques d'imagerie modernes : scanner, IRM, PET-Scan, scanner corps entier basse dose, objectivant des lésions ostéolytiques ≥ 5 mm, indépendamment des résultats de la radiologie conventionnelle.

AUTRES PATHOLOGIES

- **Amylose AL** : elle est provoquée par le dépôt de CLL (principalement d'isotype λ) dans divers tissus (cœur, rein, peau et nerfs) ; le diagnostic est porté par l'anatomopathologie (coloration au rouge congo et mise en évidence de l'isotype de la CL monoclonale dans les dépôts). L'association de l'IF (sérique et/ou urinaire) et du dosage des CLL permet de déceler près de 99 % des amyloses AL. Le dosage des CLL est ici primordial, tant pour le diagnostic que pour le suivi et l'évaluation de la maladie résiduelle (une diminution de plus de 50 % du taux de CLL circulantes après traitement est associée à une meilleure survie à 5 ans : 88 % vs 39 %, $p < 0,0001$).

- **Maladie de Randall** : c'est également une maladie à dépôts de CL (principalement d'isotype κ), touchant surtout le rein et rarement les autres organes ; le diagnostic est également fondé sur l'anatomopathologie (pas de positivité pour le rouge congo, mise en évidence

du constituant monoclonal). Les taux de CLL sont souvent très faibles et le dosage s'avère un outil précieux dans le suivi de la maladie.

- **Macroglobulinémie de Waldenström :** elle est caractérisée par une lymphoplasmocytose médullaire et la sécrétion d'une IgM monoclonale ; le suivi repose essentiellement sur le taux de l'IgM, la protéinurie de Bence Jones est le plus souvent négative ou très faible et l'intérêt du dosage des CLL reste encore à définir.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Rajkumar S.V., Kyle R.A., Therneau T.M. et al., *Serum free light chain ratio is an independant risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS)*, Blood 2005; 106: 812-817.
- Lachmann H., Gallimore R., Carr-Smith H.D. et al., *Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy*, BJH 2003; 122: 78-84.
- Drayson M., Tang L.X., Drew R., Mead G.P., Carr-Smith H., Bradwell A.R., *Serum free lite-chain measurements for identifying and monitoring patients with non-secretory multiple myeloma*, Blood 2001; 97: 2900-2902.
- Katzmann J.A. et al, *Serum Reference Intervals and Diagnostic Ranges for Free Kappa and Free Lambda Immunoglobulin Light Chains : Relative Sensitivity for Detection of Monoclonal Light Chains*. Clinical Chemistry, 2002; 48, N°9 - 1437 -1444.
- Rajkumar S.V. et al, *Serum Free Light Chain Ratio is an Independent Risk Factor for Progression in Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS)*. Blood 2005; 106(3): 812-817.
- Kyle R.A., Durie B.M.G., Rajkumar S.V., et al., *Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma:IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management*. Leukemia 2010; 24: 1121-1127.
- Rajkumar SV et al., *International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma*, Lancet Oncol 2014; 15: 538–548.

biomnis – biomnis