

ARTÍCULO ORIGINAL

Subclases de inmunoglobulinas G más frecuentes en pacientes con diagnóstico de gammopatía monoclonal de significado incierto (MGUS) y mieloma múltiple (MM) en relación con su cadena liviana acompañante

Subclasses of the most frequent G immunoglobulins in patients diagnosed with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and multiple myeloma (MM) in relation to their accompanying light chain.

Cocucci, Silvina Ema^{1*}; Baigorria, Laura¹; Osatinsky, Raquel¹.

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

*Contacto: Cocucci, Silvina Ema; Laboratorio MANLAB, Azcuénaga 1037. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; silvina.cocucci@manlab.com.ar Argentina; maruandrea@live.com

Resumen Introducción: la inmunoglobulina IgG se puede clasificar en cuatro subclases sobre la base de las diferencias estructurales de las cadenas pesadas con distintas propiedades fisicoquímicas, biológicas e inmunológicas. Trastornos proliferativos de células B como mieloma múltiple (MM) y gammopatías monoclonales de significado incierto (MGUS) están asociados con su producción. Objetivos: caracterizar el tipo de subclase de IgG en pacientes con MGUS y MM y su asociación con la cadena liviana acompañante como parámetro de importancia diagnóstica y pronóstica. Materiales y métodos: se estudiaron 154 pacientes con MGUS y MM clasificados por banda/componente monoclonal de subclase de IgG y cadena liviana acompañante. Se les realizó proteinograma en suero por electroforesis capilar, tipificación del clon expresado por inmunofijación en suero y cuantificación de subclases de IgG por nefelometría. Se utilizó el método estadístico de Chi cuadrado (X^2) y Fisher, considerándose estadísticamente significativo $p < 0,05$. Resultados: La subclase de IgG₁ fue la principal en ambos trastornos. La tendencia de IgG_{1,2 y 4} fue mayoritaria en MGUS en comparación con el MM y se invirtió para IgG₃. Las prevalencias de cadena liviana fueron similares: no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,41; 0,43; 0,74$ y $0,85$ para MGUS y $p = 0,72; 0,41; 0,33$ y $0,24$ para MM). Conclusiones: la tendencia dependiente de la IgG₁ se debería a la estimulación crónica con Ag, que subyace al inicio de MGUS y MM. Las diferencias en la expresión del resto de las subclases se deberían al potencial patogénico de cada una de ellas. La presencia de kappa o lambda fue independiente del tipo de subclase implicada en MGUS y MM. **Palabras clave:** subclases de inmunoglobulina G, gammopatía monoclonal de significado incierto, mieloma múltiple, nefelometría, cadenas livianas kappa y lambda.

Abstract Introduction: Based on the structural differences of their heavy chains, IgGs can be classified into four subclasses, each with different physicochemical, biological and immunological properties. B-cell proliferative disorders such as multiple myeloma (MM) and monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) are associated with their production. Objectives: To characterize the type of IgG subclass in patients with MGUS and MM, and its association with the accompanying light chain as a parameter of diagnostic and prognostic importance. Materials and Methods: A total of 154 patients with MGUS and MM classified by the band/monoclonal component of the IgG subclass and accompanying light chain were studied. A serum proteinogram by capillary electrophoresis, typing of the clone expressed by immunofixation in serum, and quantification of IgG subclasses by nephelometry were performed. Chi square (X^2) and Fisher's statistical methods were used. Results were considered statistically significant at $p < 0.05$. Results: The IgG₁ subclass was the main one in both disorders. The tendency of IgG_{1,2} and IgG₄ was greater in MGUS than in MM, whereas the opposite was observed for IgG₃. The light chain prevalences were similar, with no statistically significant differences ($p = 0.41; 0.43; 0.74$ and 0.85 for MGUS and $p = 0.72; 0.41; 0.33$ and 0.24 for MM). Conclusions: The tendency of IgG₁ is due to chronic stimulation with Ag, which underlies the onset of MGUS and MM. The differences in the expression of the remaining subclasses were due to the pathogenic potential of each of them. The presence of Kappa or Lambda was independent of the type of subclass involved in MGUS and MM. **Keywords:** Subclasses of Immunoglobulin G, Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance, Multiple Myeloma, Nephelometry, Kappa and Lambda light chains.

Introducción

Varios trastornos proliferativos de células B están asociados con la producción de subclases de inmunoglobulinas G. Estos trastornos incluyen al mieloma múltiple y a las gammapatías monoclonales de significado incierto (MGUS).¹ Entre las manifestaciones clínicas asociadas se encuentran : destrucción ósea, anemia, trastornos de hiperviscosidad, infección crónica e insuficiencia renal, que pueden atribuirse directamente al exceso de producción de células plasmáticas o bien a sus productos, las proteínas monoclonales.² Otras manifestaciones pueden estar relacionadas con la producción anormal de citoquinas elaboradas por las células plasmáticas malignas o por células accesorias como las citoquinas relacionadas con la inflamación, incluidas la interleuquina 6 (IL-6), IL-10 y el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), que se han informado como factores de riesgo en MM.³

La inmunoglobulina G (IgG) es una de las proteínas más abundantes del suero humano, que representa aproximadamente el 10 - 20 % de las proteínas plasmáticas. Éstas constituyen el 80 % de las cinco clases de inmunoglobulinas, halladas en los seres humanos, descritas como IgA, IgM, IgD, IgE e IgG. Estas glicoproteínas estrechamente relacionadas, compuestas por 82 - 96 % de proteínas y 4 - 18% de carbohidratos, difieren en la estructura de la cadena pesada y tienen distintas funciones efectoras. Además, según lo expresado por Gestur Vidarsson et col.⁴, las cuatro subclases de inmunoglobulina G, IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄, que están altamente conservadas, difieren en su región constante, particularmente en sus bisagras y dominios CH2 superiores. Estas regiones están involucradas en la unión a los receptores IgG-Fc (FcγR) y C1q.

Como resultado, las subclases tienen diferentes funciones efectoras, tanto en términos de desencadenar células que expresan FcγR, que resultan en fagocitosis o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, como en la activación del complemento. Más aún, según muestran los hallazgos de Kramer et col.⁵, los mAbs HLA humanos recombinantes de clase I y clase II de las cuatro subclases de IgG que reconocen el mismo epítipo de HLA pueden generarse a partir de heterohibridomas de células B establecidos, por

lo tanto, las cuatro subclases varían según la base de su estructura de cadena pesada con propiedades fisicoquímicas, biológicas e inmunológicas distintivas.

De manera consecuente con lo antes descrito, nuestro objetivo de estudio se basó sobre la caracterización del tipo de subclase de inmunoglobulina G prevalente en pacientes diagnosticados con gammapatía monoclonal de significado incierto (MGUS) y mieloma múltiple (MM), a lo que se sumó la asociación con su cadena liviana acompañante como parámetro de importancia diagnóstica y pronóstica.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio consecutivo, experimental y de prevalencia, en el cual se incluyeron pacientes mayores de 18 años diagnosticados con gammapatía monoclonal de significado incierto (MGUS) y mieloma múltiple (MM), cuyas muestras fueron procesadas en la División de Proteínas del laboratorio MANLAB, entre mayo y agosto de 2019.

La población estudiada se clasificó en los siguientes grupos:

1. Pacientes que presentaron banda homogénea IgG/Kappa (BH G/K)
2. Pacientes que presentaron banda homogénea IgG/Lambda (BH G/L)
3. Pacientes que presentaron componente monoclonal IgG/Kappa (CM G/K)
4. Pacientes que presentaron componente monoclonal IgG/Lambda (CM G/L)

El criterio de exclusión fueron los pacientes que presentaron biclonalidad, es decir, bandas homogéneas de otras inmunoglobulinas como IgA, IgM, IgD e IgE, además de IgG.

A todos los pacientes se les realizó proteinograma en suero mediante electroforesis capilar (EC) (CAPILLARYS 2 Flex Piercing - Sebia)^{6,7}, tipificación del clon sobreexpresado por inmunofijación en suero (HYDRASYS 2 SCAN - Sebia)^{8,9} y cuantificación de subclases de inmunoglobulina G por nefelometría (BN ProSpec – SIEMENS).¹⁰

Se realizó el análisis estadístico mediante el test de Chi cuadrado (X²) y test de Fisher. Se consideró una diferencia significativa p < 0,05. El análisis se llevó a cabo con el uso de XSLSTAT.

Tabla I. Distribución de subclases de IgG en MGUS y MM.

Tipo de Subclase de IgG	MGUS [0,16-1,92] g/dl		MM [2,10-7,55] g/dl	
	N	%	N	%
1	101	65,58	39	25,32
2	3	1,95	1	0,65
3	2	1,30	3	1,95
4	3	1,95	2	1,30

► MGUS, gammapatía monoclonal de significado incierto; MM, mieloma múltiple; n, tamaño de la población.

Resultados

Se estudiaron 154 pacientes diagnosticados con MGUS (n = 109), cuyo rango de concentración de pico monoclonal obtenido en el proteinograma por electroforesis capilar osciló entre 0,16 y 1,92 g/dl, y pacientes diagnosticados con MM (n = 45), cuyo rango de concentración de pico osciló entre 2,01 y 7,55 g/dl, respectivamente.

Los pacientes se dividieron en 8 grupos por tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada, según fueran:

1. Pacientes con MGUS IgG₁ (n = 101)
2. Pacientes con MGUS IgG₂ (n = 3)
3. Pacientes con MGUS IgG₃ (n = 2)
4. Pacientes con MGUS IgG₄ (n = 3)
5. Pacientes con MM IgG₁ (n = 39)
6. Pacientes con MM IgG₂ (n = 1)
7. Pacientes con MM IgG₃ (n = 3) y
8. Pacientes con MM IgG₄ (n = 2).

La distribución de las subclases de inmunoglobulinas G correspondientes a los pacientes con MGUS y MM se observa en la tabla I y la figura I.

La distribución de las subclases de IgG 1, 2 y 4 fue similar, en los pacientes con MGUS, a los que presentaban MM, mientras que se destaca la inversión de la distribución de la subclase 3 de IgG, mayoritaria para el caso de MM. Se evidenció además una expresión predominante de IgG₁ en ambos trastornos proliferativos.

Continuando con el análisis, a los 109 pacientes diagnosticados con MGUS, se los dividió posteriormente en 8 grupos, según el tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada y cadena liviana acompañante:

1. Pacientes con banda homogénea IgG₁/Kappa (n = 61)
2. Pacientes con banda homogénea IgG₂/Kappa (n = 3)
3. Pacientes con banda homogénea IgG₃/Kappa (n = 1)
4. Pacientes con banda homogénea IgG₄/Kappa (n = 2)
5. Pacientes con banda homogénea IgG₁/Lambda (n = 40)
6. Pacientes con banda homogénea IgG₂/Lambda (n = 0)
7. Pacientes con banda homogénea IgG₃/Lambda (n = 1) y
8. Pacientes con banda homogénea IgG₄/Lambda (n = 1).

La distribución de las cadenas livianas en cada grupo de subclase de inmunoglobulina G correspondientes a los pacientes con MGUS se observa en la tabla II.

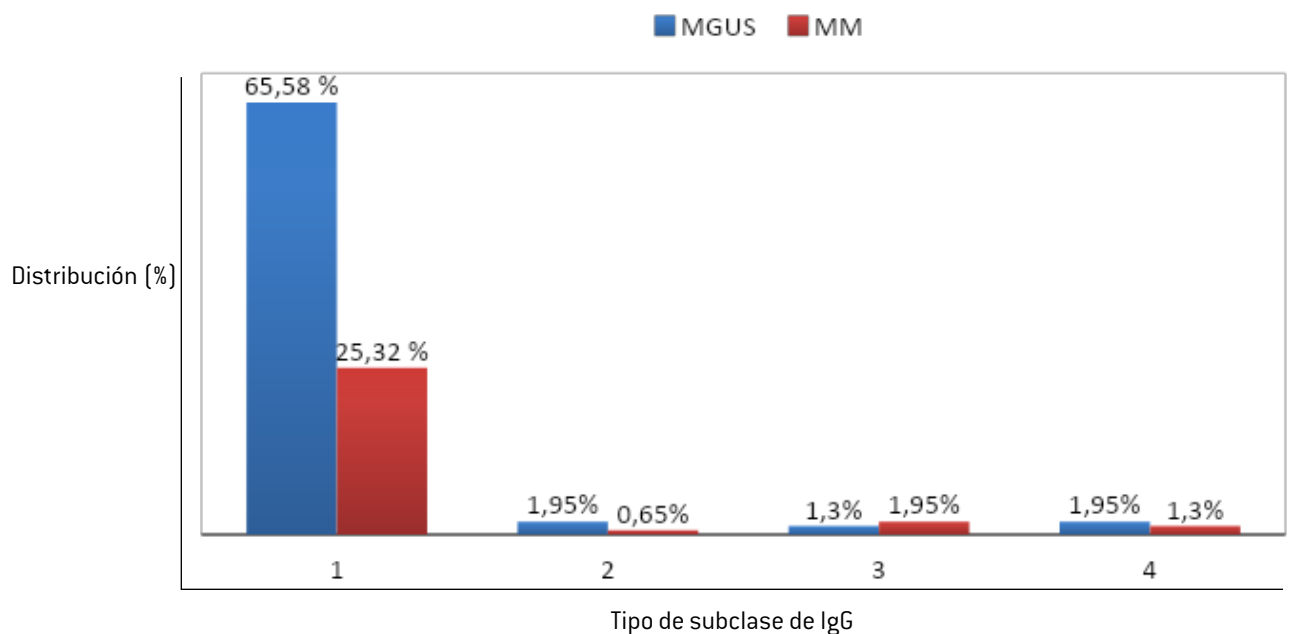
Las prevalencias de cadena liviana Kappa en los grupos de subclases IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄ fueron similares a las prevalencias de cadena liviana Lambda en los mismos grupos mencionados de subclases de IgG, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas (p = 0,41; 0,43, 0,74 y 0,85, respectivamente).

Por otra parte, los 45 pacientes diagnosticados con MM se dividieron en 8 grupos, según tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada y cadena liviana acompañante:

1. Pacientes con componente monoclonal IgG₁/Kappa (n = 23)
2. Pacientes con componente monoclonal IgG₂/Kappa (n = 1)
3. Pacientes con componente monoclonal IgG₃/Kappa (n = 1)
4. Pacientes con banda homogénea IgG₄/Kappa (n = 2)
5. Pacientes con componente monoclonal IgG₁/Lambda (n = 16)
6. Pacientes con componente monoclonal IgG₂/Lambda (n = 0)
7. Pacientes con componente monoclonal IgG₃/Lambda (n = 2) y
8. Pacientes con componente monoclonal IgG₄/Lambda (n = 0).

La distribución de las cadenas livianas en cada grupo de subclase de inmunoglobulina G correspondientes a los pa-

Figura 1. Distribución de subclases de IgG en MGUS y MM.



► MGUS, gammapatía monoclonal de significado incierto; MM, mieloma múltiple.

Tabla II. Distribución de cadenas livianas en cada grupo de subclase de IgG en MGUS.

Cadena liviana	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Kappa	61	55,96	3	2,75	1	0,92	2	1,83
Lambda	40	36,70	0	0	1	0,92	1	0,92

► MGUS, gammapatía monoclonal de significado incierto; n, tamaño de la población.

cientes con MM se observa en la tabla III.

Las prevalencias de cadena liviana Kappa en los grupos de subclases IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄ fueron similares a las prevalencias de cadena liviana Lambda en los mismos grupos mencionados de subclases de IgG y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,72, 0,41, 0,33$ y $0,24$, respectivamente).

Discusión

En los 8 grupos clasificados según tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada por patologías (MGUS y MM), la frecuencia de IgG₁ fue la mayoritaria, lo cual mostraría una tendencia dependiente de esta subclase en los trastornos proliferativos derivados de la estimulación crónica con Ag, que subyace al inicio de MGUS y MM. Sin embargo, en aquellos pacientes que presentaron MGUS, las subclases IgG₂ e IgG₄ mostraron un aumento, mientras que se evidenció un descenso en los casos con MM. Esta tendencia se invirtió en el caso de la IgG₃, mayoritaria en los casos que presentaron MM.

En consecuencia, como establecieron Stephanie Kapelski et col.¹¹, el potencial patogénico de cada subclase de IgG difiere, ya que exhiben una tremenda variedad de funciones con distintas capacidades para activar la cascada clásica del complemento mediada por las propiedades estructurales de la región bisagra y/o por la estructura del sitio de unión de C1q ubicado en los dominios CH2, como se desprende de la distribución de subclases en distintos trastornos.

Por otra parte, en el análisis de las cadenas livianas acom-

pañantes, la presencia de Kappa o Lambda resultó ser independiente del tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada en MGUS y MM y se mantuvo la relación fisiológica 2:1.

Es por ello que en este punto cabe destacar que sería una herramienta de interés la aplicación de los ensayos de *Free light chain*, con la incorporación del índice “cadena involucrada/no involucrada”¹²⁻¹⁴, ya que es reconocido como biomarcador de malignidad en los criterios diagnósticos de MM, para evaluar así la relación entre las subclases de IgG y la diferencia de cadenas que se correlacionen con la síntesis monoclonal de Kappa y Lambda de los pacientes.

Luego de arribar a estas conclusiones, consideramos que el estudio sienta las bases para profundizar en la caracterización y prevalencia de las subclases de IgG con su cadena liviana acompañante en gammopatía monoclonal de significado indeterminado y mieloma múltiple, como herramienta de importancia diagnóstica y pronóstica, aumentando el número de casos y, adicionalmente, el análisis de los pacientes en respuesta al tratamiento, y que resulta de interés para estimar las fluctuaciones de las distintas subclases de IgG a lo largo de la evolución de la patología.

Referencias bibliográficas

1. 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(5):749-57.
2. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia.* 2009; 23(1): 3-9.

Tabla III. Distribución de cadenas livianas en cada grupo de subclase de IgG en MM.

Cadena liviana	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Kappa	23	51,11	1	2,22	1	2,22	2	4,44
Lambda	16	35,56	0	0	2	4,44	0	0

► MM, mieloma múltiple; n, tamaño de la población.

3. Bosseboeuf A, Feron D, Tallet A, Rossi C, Charlier C, Garderet L. Monoclonal IgG in MGUS and multiple myeloma targets infectious pathogens. *JCI Insight*. 2017; 2(19):e95367.
4. Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol*. 2014; 5:520.
5. Kramer CSM, Franke-van Dijk MEI, Priddey AJ, Pongrácz T, Gnudi E, Car H et al. Recombinant human monoclonal HLA antibodies of different IgG subclasses recognising the same epitope: Excellent tools to study differential effects of donor-specific antibodies. *HLA*. 2019; 94(5):415-24.
6. Bouayadi O, Bensalah M, Rahmani N, Assoufi S, Choukri M. Serum protein electrophoresis: study of 410 electrophoretic profiles. *Pan Afr Med J*. 2019; 32:161.
7. Sebia. Capillarys protein (e) 6 Ref. 2003. France: Sebia; 2019.
8. Wu Y, Yang X, Wang T, Wang H, Li Z. Identification of M protein from filter paper using serum protein and immunofixation electrophoresis. *Am J Clin Pathol*. 2012; 138(4):604-8.
9. Sebia. Hydragel 9 IF Violet Acide Ref. 4309. France: Sebia; 2018.
10. Siemens. BN ProSpec. Version 2.1 Germany: Siemens healthcare diagnostics; 2014.
11. Stephanie Kapelski, Erna Cleiren, Ricardo M. Attar, Ulrike Philippar, Julien Häsler, Mark L. Chiu. Influence of the bispecific antibody IgG subclass on T cell redirection. *MABS*. 2019; 11(6):1012-24.
12. Ting HY, Sthaneshwar P, Bee PC, Shanmugam H, Lim M. Heavy/light chain assay in the monitoring of multiple myeloma. *Pathol*. 2019; 51(5):507-511.
13. Henriot B, Rouger E, Rousseau C, Escoffre M, Sébillot M, Bendavid C et al. Prognostic value of involved/uninvolved free light chain ratio determined by Freelite and N Latex FLC assays for identification of high-risk smoldering myeloma patients. *Clin Chem Lab Med*. 2019; 57(9):1397-1405.
14. Martellosio JP, Leleu X, Roblot P, Martin M, Puyade M. Free light chains assay: Indications and methods. *Rev Med Interne*. 2019; 40(5):297-305.