

JEUDIS DE FLEURUS

19 octobre 2017

L'analyse du LCR dans le diagnostic différentiel des affections neuro-inflammatoires du système nerveux central.

L.Lutteri

Pharmacien biologiste

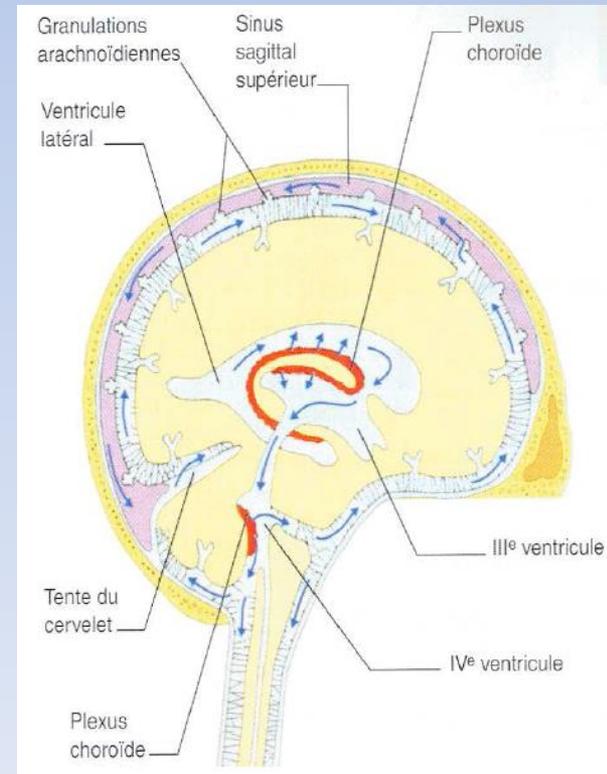
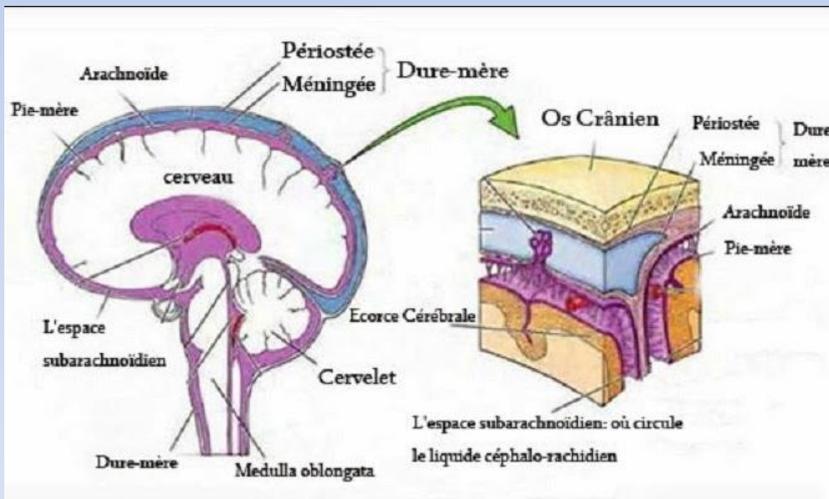
Service de Chimie Clinique

Professeur Cavalier

CHU Liège

Le liquide céphalorachidien (LCR)

- Liquide transparent dans lequel baignent le cerveau et la moelle épinière. Il est contenu dans les méninges, entre la pie-mère et l'arachnoïde. Il est résorbé par le système veineux central au niveau des villosités arachnoïdiennes.



Le liquide céphalorachidien (LCR)

- Volume = 140 ± 30 mL (adulte)
- Production : 400 – 500 ml/jour.
- Chaque jour, renouvellement entre 3- 4 fois donc toutes les 6 -8 heures.
- Caractéristiques :
 - Eau : 99 %
 - Protéines : 0.30 ± 0.15 g/L
 - Glucose : 50 - 75 % de la glycémie
 - Ions :
 - Na : 135- 150 mmol/L
 - Cl : 112- 132 mmol/L
 - K : 2.3 – 3.1 mmol/L

Le liquide céphalorachidien (LCR)

- Rôles :
 - Mécanique : amortit les mouvements et chocs.
 - Maintien de l'environnement physico-bio-chimique : transport hormones, nutriments, neurotransmetteurs, AC,...
 - Immunologique : protection contre les infections.
 - Elimination des produits de métabolisme du cerveau.

Le liquide céphalorachidien (LCR)

- Composition: résultat de divers mécanismes :
 - Transport actif : Na, K, glucose,...
 - Diffusion libre ou passive : H₂O, Cl, protéines,...
 - Sécrétion : protéines spécifiques au LCR : bêta-trace, bêta-2 transferrine, cystatine C, protéine S100,...

Les protéines du LCR

- Origine :
 - 80 % : filtrées à partir du sérum à travers la barrière hémato-méningée
 - Protéines spécifiques du LCR ou plus concentrée dans le LCR que dans le sérum : préalbumine, transferrine desialylalée (*tau* fraction), cystatine
 - origine lymphoplasmocytaire : Immunoglobulines (NB : pas de production d'Ig dans le LCR normal)

Le prélèvement en pratique

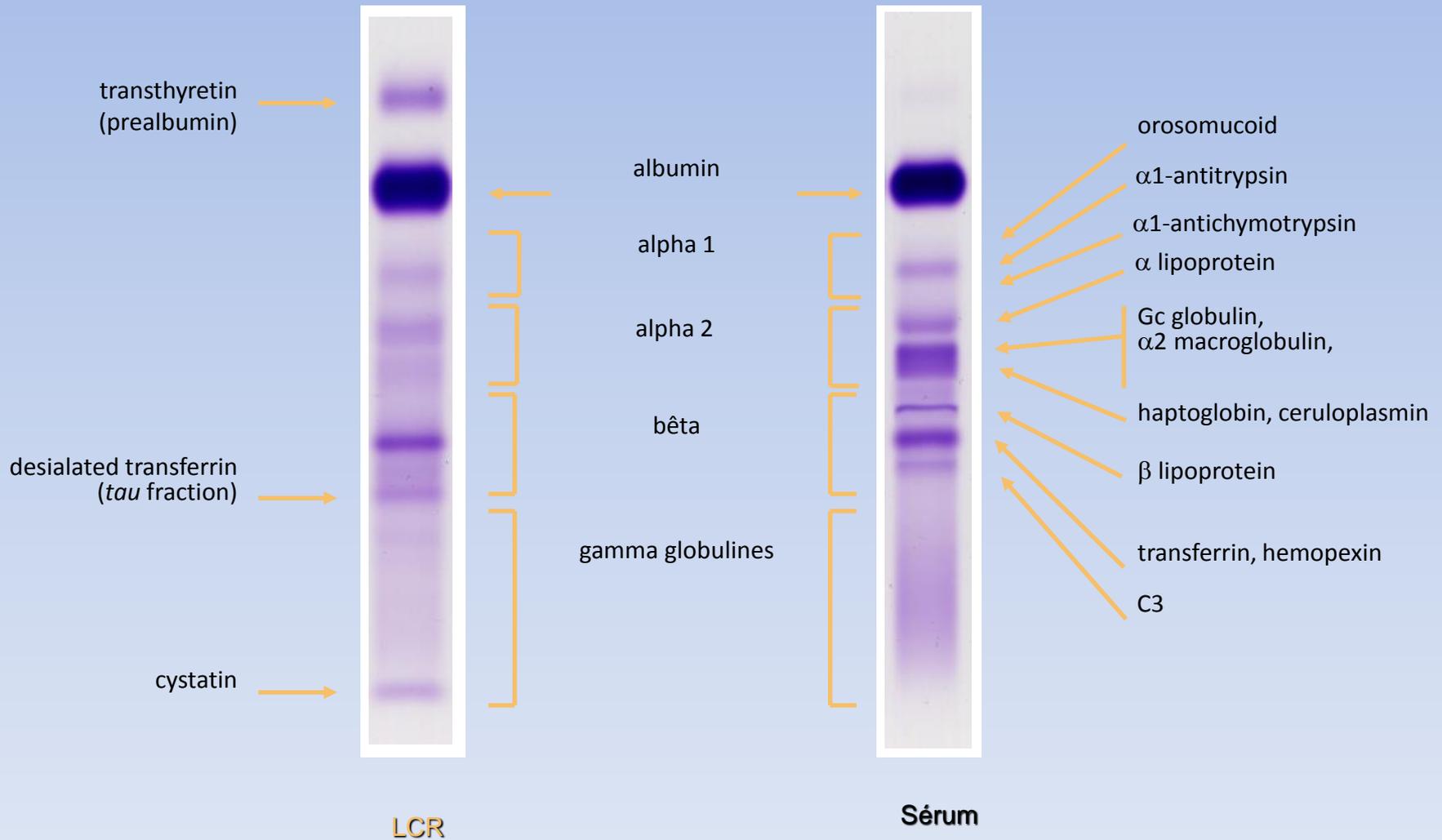
- Ponction lombaire
- Ordre (CHU):
 - 1 = Anatomopathologie
 - 2 = microbiologie (Bactériologie)
 - 3 = Chimie
 - 4 = Hématologie
- Protéines : stockage à 4°C si analyses dans les 2-3 jours sinon congélation.



Barrière hémato-méningée

- Sang → LCR : perméabilité faible.
Ne laisse passer que petits ions.
- LCR → Sang : perméabilité grande

Electrophorèse des protéines du LCR



Mécanismes de variation pathologique du taux de protéines dans le LCR

- **Transsudation**

Augmentation de la perméabilité de la barrière LCR-sérum

Diminution relative des protéines spécifiques du LCR par dilution par les protéines du sérum

- **Synthèse locale**

- Augmentation relative des protéines spécifiques du LCR (préalbumine, *tau* fraction, cystatine)

- Synthèse locale d'immunoglobulines

- **Combinaison des deux**

Analyse du LCR dans la SEP

- leucocytes normaux ou faiblement augmentés
 - leucocytes $> 5/\text{mm}^3$: seulement 34% des SEP
 - $> 50/\text{mm}^3$: SEP très peu probable
- légère altération de la barrière sang/LCR:
 - faible augmentation de la protéinorachie
 - $> 1\text{gr/l}$: SEP exclue
- glycorachie et lactate normaux
- synthèse intrathécale d'IgG

Synthèse intrathécale d'IgG

- Réalisation d'une ponction lombaire et d'un prélèvement de sang le même jour et la réalisation des analyses en parallèle sur ces deux prélèvements.
- Se fait sur base d'analyses :
 - *quantitatives*: basées sur le dosage des IgG et de l'albumine, l'utilisation de formules mathématiques et/ou l'interprétation des dosages à l'aide d'un logiciel .
 - *qualitatives*: la mise en évidence de bandes oligoclonales spécifiques au LCR

Test quantitatif : dosage de l'albumine

- marqueur de **transsudation** :
 - Synthèse au niveau du foie
 - Présence dans le LCR ne peut provenir que du sang
- 100 – 250 mg/L dans le LCR

L'intégrité de la **barrière sang/LCR** est estimée à partir de la formule:

Qalbumine = albumine du LCR/ albumine du sérum (<0,0075)

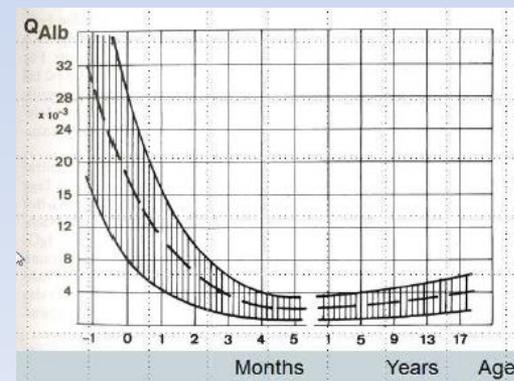
Qalbumine varie avec l'âge :

<28.10⁻³ chez le nouveau-né

<5. 10⁻³ avant 40 ans

<8. 10⁻³ avant 60 ans

<9. 10⁻³ chez le senior



Test quantitatif : dosage de l'albumine

- Atteinte faible de la barrière sang/LCR : $Q \text{ alb} < 20 \times 10^{-3}$
 - Sclérose en plaques et autres pathologies inflammatoires auto-immunes
 - Infections virales
 - Neurosyphilis
 - Traumatisme cérébral
 - Tumeur cérébrale
 - ..
- Atteinte modérée de la barrière sang/LCR : $20 \times 10^{-3} < Q \text{ alb} < 50 \times 10^{-3}$
 - Neuroborréliose
 - Guillain-Barré
 - Neurosarcoïdose
 - Méningo-encéphalites opportunistes (patients HIV)
- Atteinte sévère de la barrière sang/LCR : $Q \text{ alb} > 50 \times 10^{-3}$
 - Méningites purulentes
 - Méningite tuberculeuse
 - Encéphalite herpétique

Test quantitatif : dosage des IgG

- <36 mg/l
 - origine plasmatique
 - elles augmentent en cas de:
 - Synthèse accrue au niveau périphérique
 - Altération de la barrière sang/LCR
 - Synthèse intrathécale des immunoglobulines
- NB : les trois processus pouvant coexister.

Synthèse intrathécale Immunoglobulines

Clin Chem Lab Med 2001; 39(4):324–332 © 2001 by Walter de Gruyter · Berlin · New York

Reporting Cerebrospinal Fluid Data: Knowledge Base and Interpretation Software

Hansotto Reiber¹, Markus Otto¹, Christian Trendelenburg² and Arno Wormek³

¹ Neurochemisches Labor der Neurologischen Klinik, Universität Göttingen, Germany

² Institut für Laboratoriumsmedizin der Städtischen Kliniken, Frankfurt a.M.-Höchst, Germany

³ Software Solutions in Medicine, ESL.wormek, Gerbrunn, Germany

Tab. 1 Humoral immune response patterns in CNS at time of first, diagnostic lumbar puncture.

Reaction type	Diagnosis
No IgG, IgA, IgM IgG predominant	Early bacterial meningitis and viral encephalitis, Guillain Barré polyradiculitis Multiple sclerosis (lower frequency of IgM, 25%, and IgA, 9%) Neurosyphilis (low frequencies of increased IgM, no IgA) Chronic HIV encephalitis
IgA predominant	Neurotuberculosis (IgA dominant with weak IgG response) Brain abscess Adrenoleukodystrophy
IgM predominant	Lyme neuroborreliosis (IgM dominant: $IgM_{IF} > IgA_{IF} > IgG_{IF}$) Mumps meningoencephalitis (IgM dominant) Non-Hodgkin lymphoma involving CNS (isolated $IgM_{IF} > 0$)
IgG + IgA + IgM	Opportunistic infections (CMV, toxoplasmosis)

L'index IgG

- La synthèse normale des IgG est estimée par la formule

$$QIgG : \quad IgG \text{ du LCR} / IgG \text{ du sérum} \quad (<0.0035)$$

- Une synthèse intrathécale est *probable* si

$$\text{index IgG} : QIgG / Qalbumine \quad > \quad 0.7$$

(index de Tibbling-Link)

Autres Immunoglobulines

	normal values
IgA CSF	1 – 5 mg/L
IgM CSF	0,1 – 1 mg/L
IgA index	0,10 – 0,45
IgM index	0,01 – 0,2

Sebia

Formule de Tourtelotte

$$\left\{ \left(\frac{\text{IgG}_{(\text{LCR})} - \text{IgG}_{(\text{sérum})}}{369} \right) - \left(\frac{\text{Alb}_{(\text{LCR})} - \text{Alb}_{(\text{sérum})}}{230} \right) \frac{\text{IgG}_{(\text{sérum})}}{\text{Alb}_{(\text{sérum})}} (0,43) \right\} \cdot 5$$

En mg/24H.

Synthèse locale si > 3.3 mg/24h.

Interprétation de l'index IgG et du diagramme de Reiber par Protis 2 dans les maladies inflammatoires du système nerveux central

IgG index and Reiber diagram interpretation with Protis 2 in inflammatory diseases of central nervous system

N. Gillain^{a,*}, A. Fumal^b, C. Nève^a,
J.-M. Minon^a, A. Maertens de Noordhout^b

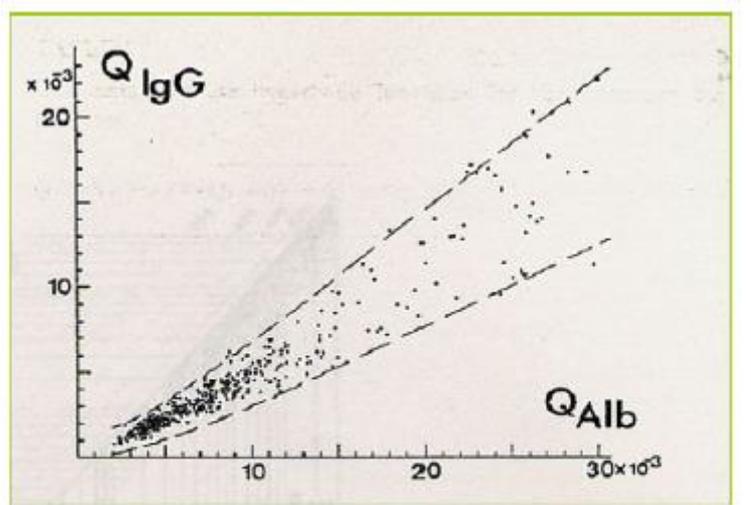


Figure 1 Évolution du QlgG de 361 patients en fonction du Qalbu au cours de pathologies entraînant des altérations diverses de la barrière sang/LCR, mais pas de synthèse intrathécale [9].

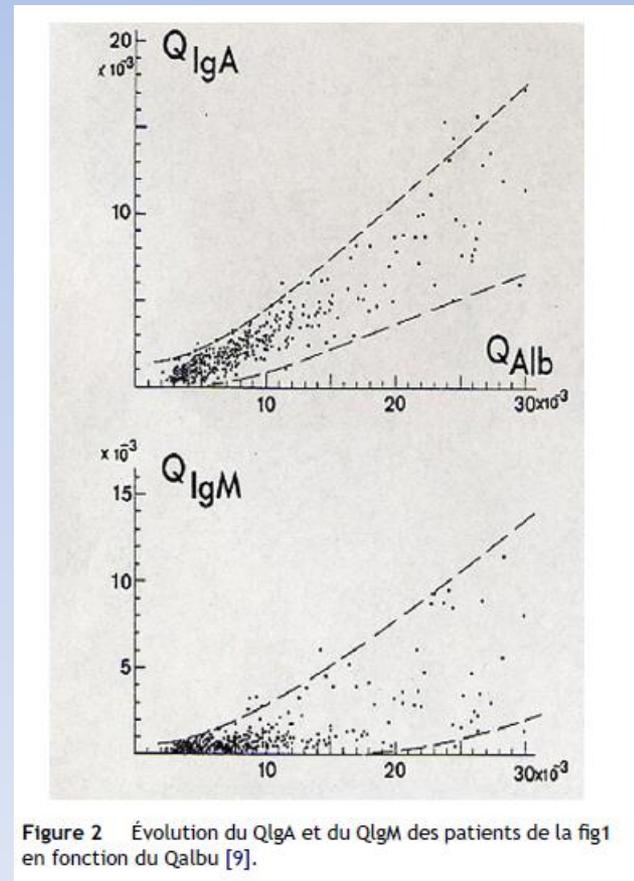


Figure 2 Évolution du QlgA et du QlgM des patients de la fig 1 en fonction du Qalbu [9].

Relation hyperbolique

Le diagramme de Reiber

- définit à partir d'un grand nombre d'observations (4300) la Qlim (index IgG les plus élevés) au-dessus de laquelle, en fonction de Qalb, la probabilité d'une synthèse intrathécale est élevée
- il élabore un diagramme permettant d'interpréter l'index IgG

REIBER (mg/l)

$$\text{Ig G sérum} \times \left[\frac{\text{Ig G LCR} \times 1000}{\text{Ig G sérum} + 1,8} - 0,8 \times \sqrt{\left(\frac{\text{Alb LCR} \times 1000}{\text{Alb sérum}} \right)^2 + 15} \right]$$

concentrations des variables en g/L

Le diagramme de Reiber

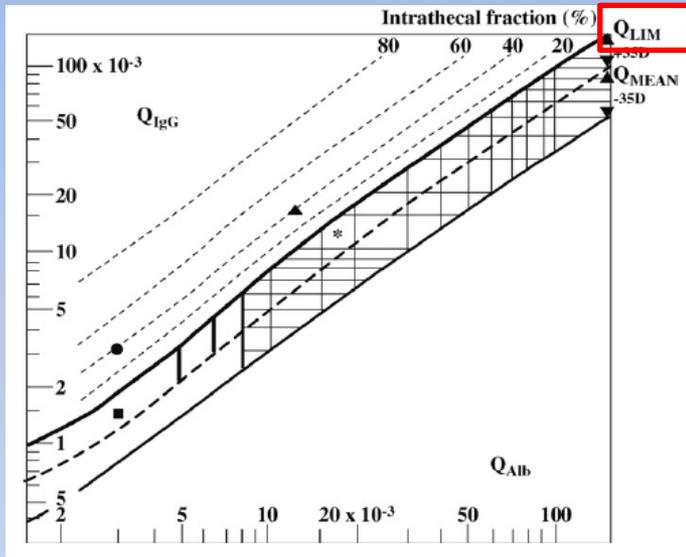


Fig. 2. Le diagramme de Reiber et Protis.

Zone blanche : valeurs normales ; zone hachurée : transsudation des IgG sériques.

Protis génère les commentaires :

- 1) impossible de détecter une synthèse d'IgG par analyse des quotients (exemple : ■)
- 2) détection d'une synthèse intrathécalle par analyse des quotients (exemple : ● ; synthèse relative : 40 %)
- 3) légère altération de la barrière, impossible de détecter une synthèse (exemple : *).
- 4) suspicion d'une synthèse intrathécalle.
- 5) grave altération de la barrière, impossible de détecter une synthèse
- 6) effondrement de la barrière, impossible de détecter une synthèse
- 7) légère altération avec détection d'une synthèse (exemple : ▲ ; synthèse relative : 37 %).
- 8) grave altération et détection d'une synthèse.

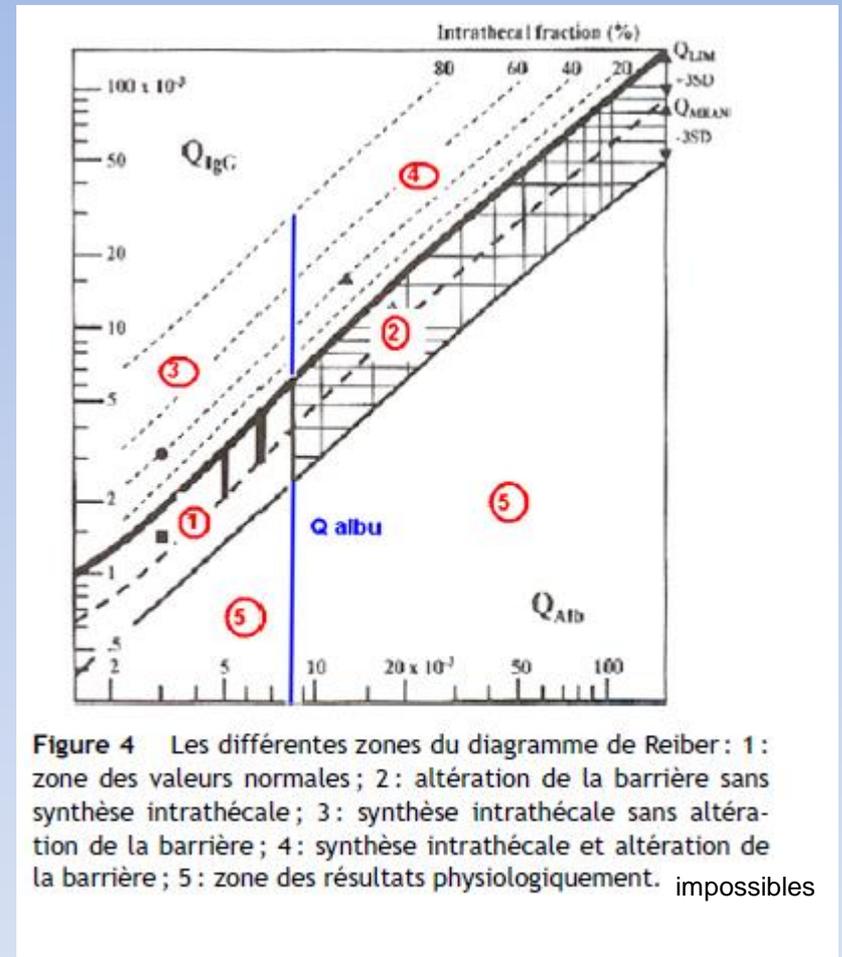


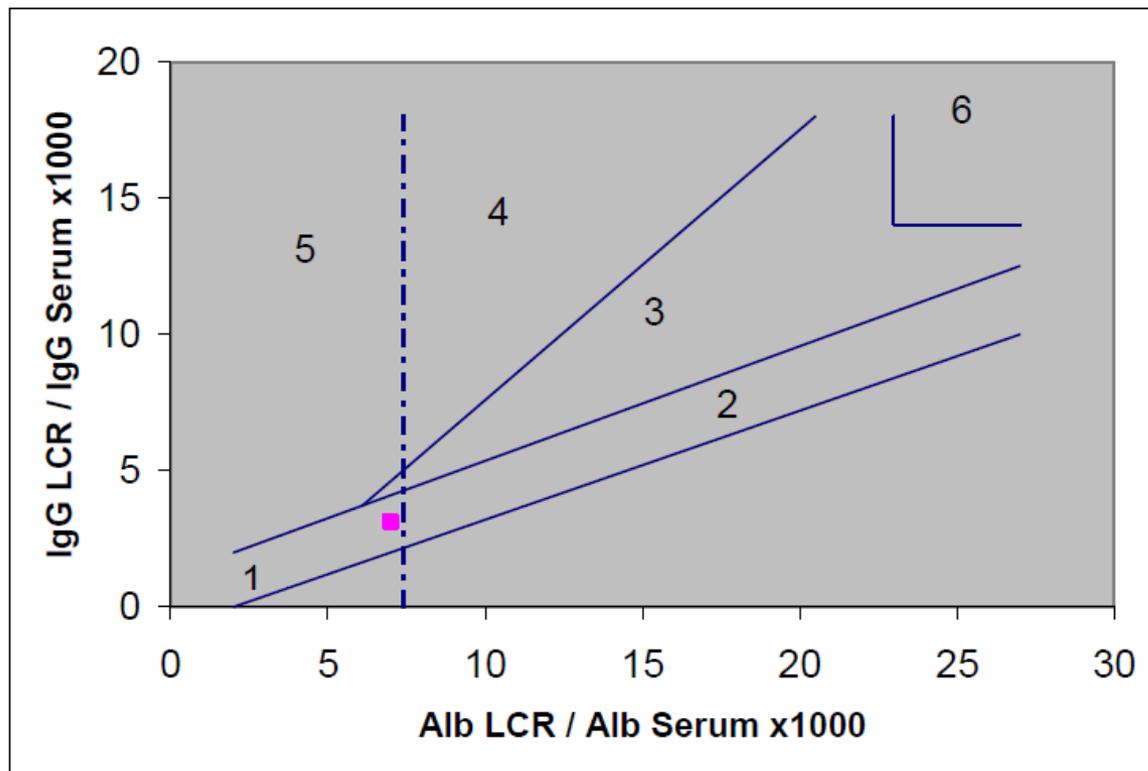
Figure 4 Les différentes zones du diagramme de Reiber : 1 : zone des valeurs normales ; 2 : altération de la barrière sans synthèse intrathécalle ; 3 : synthèse intrathécalle sans altération de la barrière ; 4 : synthèse intrathécalle et altération de la barrière ; 5 : zone des résultats physiologiquement impossibles

Le diagramme de Reiber

- Analyses en parallèle LCR et sérum
- Dosages LCR et sérum par même technique sur le même appareil en même temps!
- Non valable chez les enfants de moins de 1 an.
- Non valable en cas de contamination sanguine ou d'hémorragie importante.
- Valable pour ponction lombaire uniquement.

Le diagramme de « Reiber » ...Fateh Mogadham

- 1 Résultats normaux
- 2 Anomalie de la barrière hémato-méningée sans synthèse locale d'IgG
- 3 Anomalie de la barrière hémato-méningée avec synthèse possible locale d'IgG
- 4 Anomalie de la barrière hémato-méningée avec synthèse locale d'IgG
- 5 Synthèse intrathécale d'IgG sans anomalie de la barrière hémato-méningée
- 6 Atteinte très importante de la barrière hémato-méningée



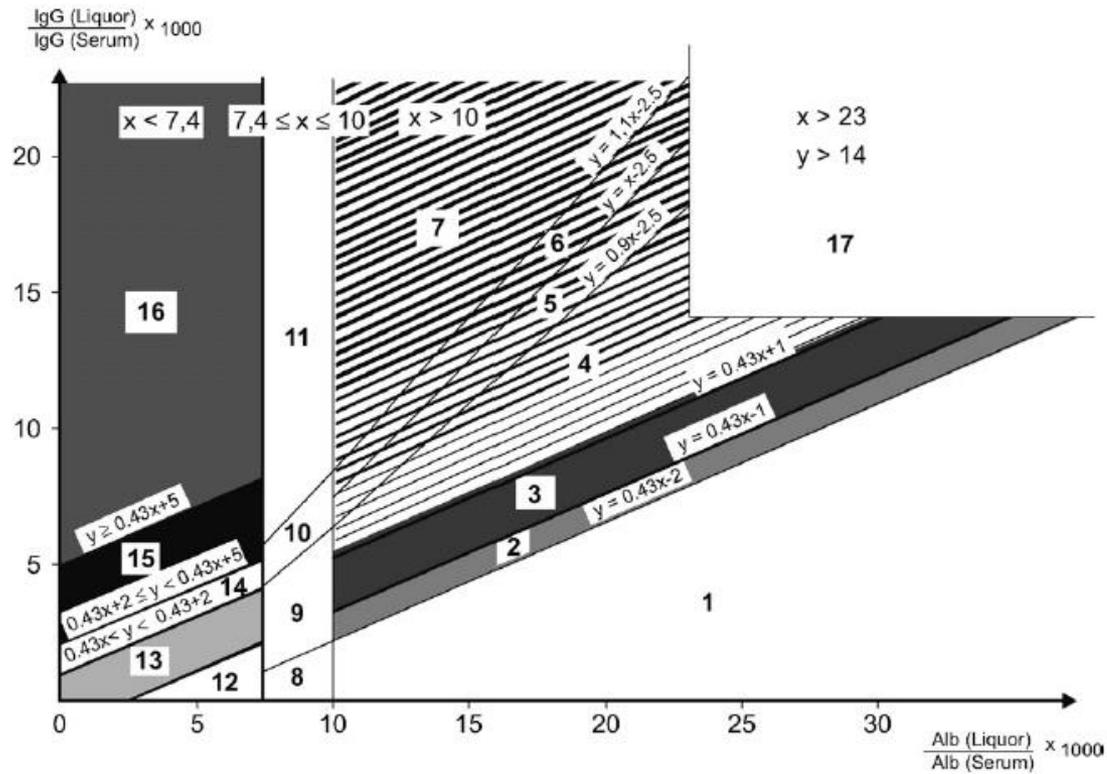


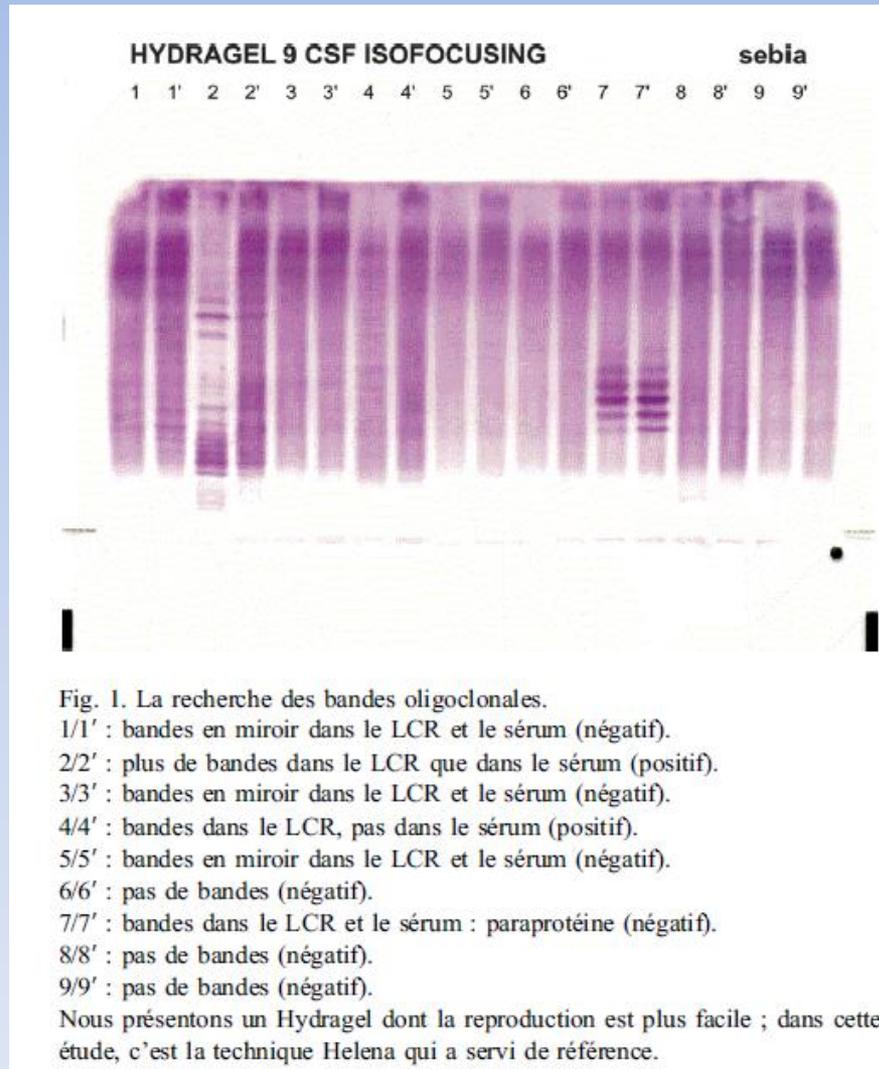
Fig. 3. Interprétation des dosages selon Reiber et Felgenhauer modifiée par Fateh-Moghadam.

Il définit des zones autour de la Q_{lim} fixée par Reiber.

L'intersection de Q_{IgG} et de Q_{Albu} se situe dans la zone 13 chez l'individu normal, dans les zones 2–4 et 9–10 en cas d'altération de la barrière, dans la zone 11 et 14–16 en cas de SI et dans les zone 5–7 lorsque les deux anomalies sont associées.

16 zones

Test qualitatif : Isofocalisation



Isofocalisation

- Décrite en 1965
 - Ramener les concentrations des IgG du LCR et du sérum à des concentrations identiques.
 - Migration dans un gradient de pH sous un voltage élevé.
 - Révélation des IgG
- Technique Sebia sur Hydrasys Focusing.

Isofocalisation

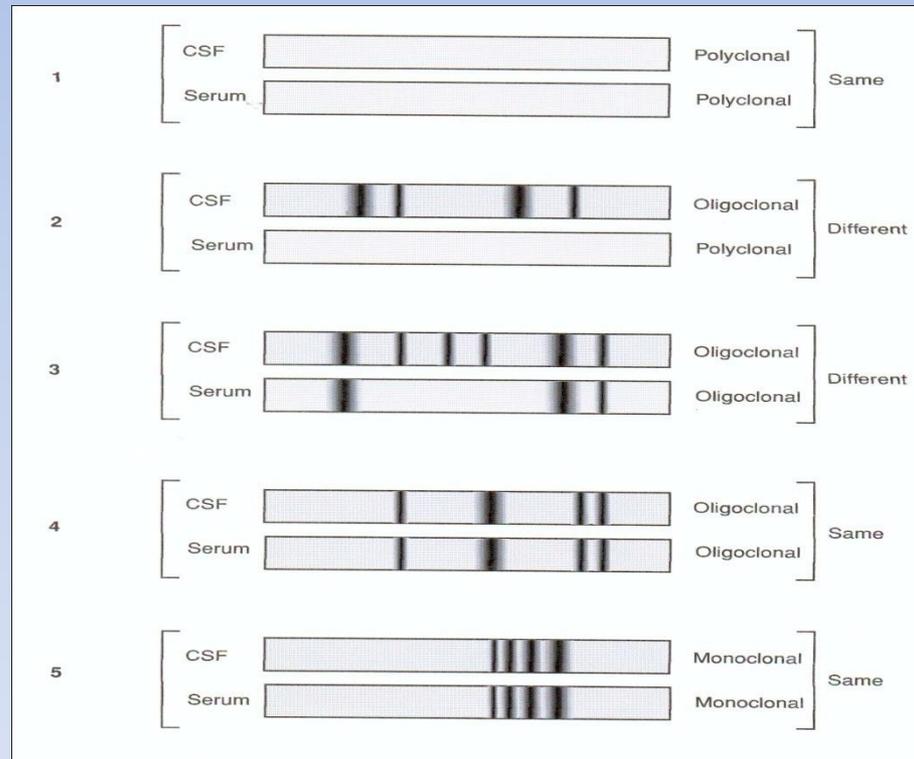
Normal

IgG local synthesis

IgG local synthesis

No local synthesis

No local synthesis
Monoclonal band splitted in several bands by IEF

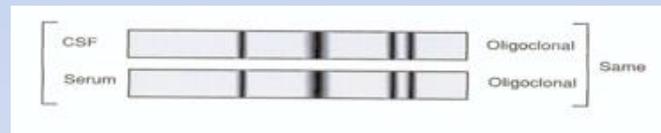


Interprétation de l'isofocalisation

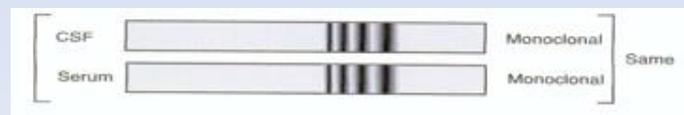
- la recherche est considérée comme *négative*:
 - il n'y **pas de bandes** dans le LCR et le sérum



- le nombre de **bandes est identique** dans le LCR et le sérum (bandes en miroir): les bandes observées sont transsudées

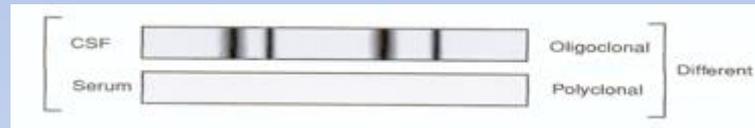


- le nombre de bande est identique dans le LCR et le sérum mais ce dernier contient un **composant monoclonal**

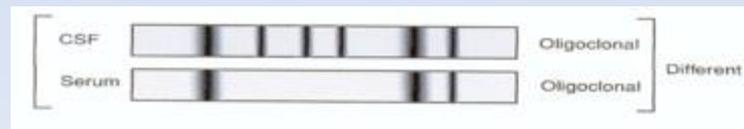


Interprétation de l'isofocalisation

- la recherche est considérée comme *positive* :
 - il y a des bandes dans le LCR et pas dans le sérum



- il y a des bandes dans le LCR et le sérum, mais le LCR présente en plus des bandes qui lui sont propres : certaines bandes sont transsudées, d'autres synthétisées au niveau du système nerveux central.



Interprétation de l'isofocalisation

N. Gillain et al. / *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 21 (2006) 348–356

Tableau 2

Pathologies associées à la présence de BO dans le LCR (d'après C. Sindic)

Pathologies inflammatoires du SNC

SEP (95 %)

Maladie de Behçet, neurosarcoïdose, neurolupus (< 50 %, souvent bandes en miroir)

Maladie de Wegener, de Whipple, encéphalite de Hashimoto

Syndrome Guillain-Barré (rare)

Pathologies infectieuses

Panencéphalite subaiguë sclérosante (rougeole) (100 % de positivité)

Encéphalite, myélite ou méningite virale :herpes, varicelle-zona, HIV, EBV, oreillon,

Rougeole, papovavirus...

Maladie de Lyme, syphilis, méningite tuberculeuse et fongique ou parasitaire (> 80 %)

Phases tardives des méningites purulentes (rare)

Pathologies tumorales

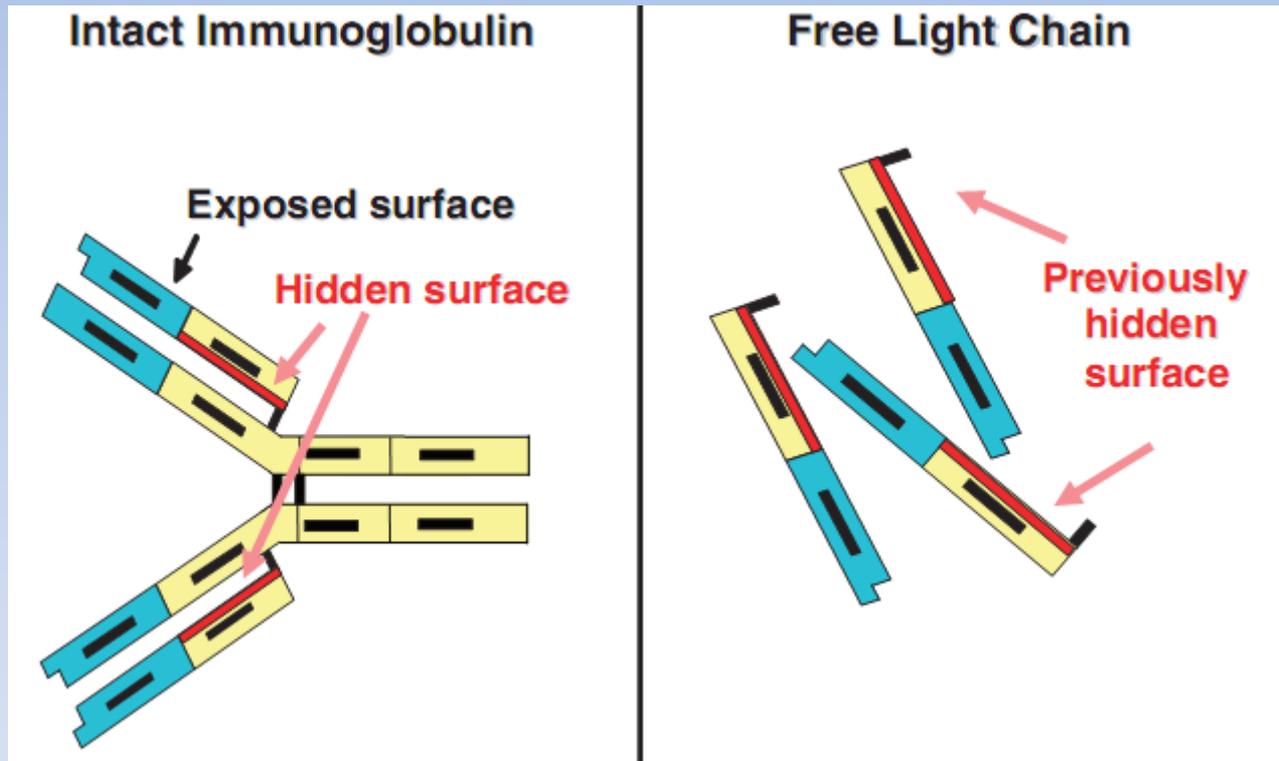
Lymphome du SNC

Méningite tumorale

Interprétation de l'isofocalisation

- Recherche de BO IgM, IgA, chaînes légères libres (kappa).
- Signification ???
- Si BO IgG + IgM : mauvais pronostic et SEP rapidement évolutive ??

Chaînes légères libres



Detection of oligoclonal free kappa chains in the absence of oligoclonal IgG in the CSF of patients with suspected multiple sclerosis

S Goffette, M Schluep, H Henry, T Duprez, C J M Sindic

J Neurol Neurosurg Psychiatry 2004;**75**:308–310. doi: 10.1136/jnnp.2003.010710

- Etude de 1991 (Sindic. *J Neuroimmunol* 1991;33:63–72.) démontrait que sur 48 LCR de SEP, 92 % présentaient des BO de CLL kappa (et pas dans le sérum) et 69 % des BO de CLL lambda.
 - BO IgG + : 1 n'a pas de BO CLL kappa
 - BO IgG - : 5 ont des BO CLL kappa !!!

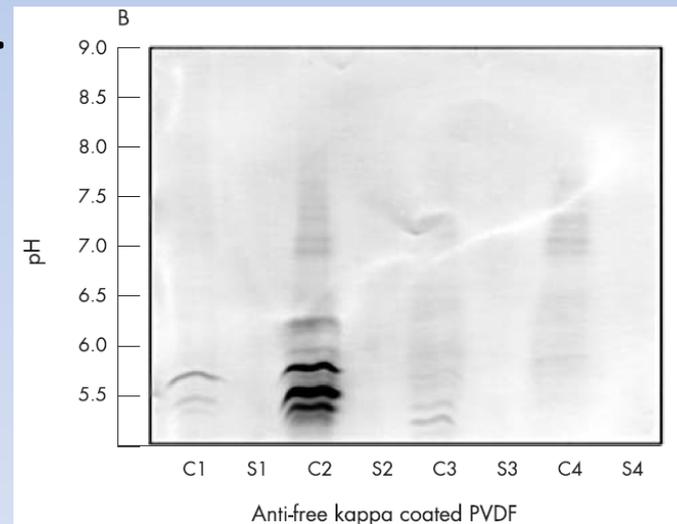


Figure 1 Immunoblots of IgG (A) and of free kappa bands (B) from four unconcentrated cerebrospinal fluids (CSF) and their corresponding sera (S), diluted to the same IgG concentration, after simultaneous isoelectric focusing in agarose gel. In spite of the absence of clearly detectable oligoclonal IgG bands, note the presence of several free kappa bands restricted to the CSF and their complete absence in the corresponding sera. The last sample (C⁺, top right) is an oligoclonal positive control CSF.

Dosage des chaînes légères libres kappa

1 ère publication

Iwashita H, Grunwald F, Bauer H. Double ring formation in **single radial immunodiffusion** for kappa chains in multiple sclerosis cerebrospinal fluid. J Neurol. 1974; 207: 45-52.

Ann Neurol. 1986 Jul;20(1):63-9.

Free kappa light chains in multiple sclerosis spinal fluid.

Rudick RA, Pallant A, Bidlack JM, Herndon RM.

- . Dosage des CLL kappa par RIA (sensibilité : 0,25 µg/ml)
- . Etude sur 39 SEP et 42 contrôles
- . CLL Kappa chez 84 % des SEP et 2,4 % du groupe contrôle



Stefan Presslauer
Dejan Milosavljevic
Thomas Brücke
Peter Bayer
Walter Hübl

Elevated levels of kappa free light chains in CSF support the diagnosis of multiple sclerosis

- 70 « SEP » dont 41 SEP et 29 CIS (Clinically Isolated Syndrome suggestive of MS)
- 45 patients groupe contrôle
- 323 patients avec pathologies neurologiques diverses.

Table 1 Median values (lower quartile-upper quartile) of FLCs in CSF and FLC indices in different subgroups

	KFLC (mg/l) in CSF	LFLC (mg/l) in CSF
MS group (n = 70)	4.12 (1.4–8.77)	0.67 (0.25–1.54)
Definite MS (n = 41)	4.62 (1.41–10)	0.72 (0.29–1.46)
CISMS (n = 29)	2.95 (1.39–8.65)	0.53 (0.24–1.57)
Control group (n = 45)	0.18 (0.13–0.22)	0.16 (0.13–0.2)
Encephalitis/meningitis (n = 41)	0.55 (0.32–1.27)	0.57 (0.27–1.27)
Guillain-Barré syndrome (n = 15)	0.8 (0.25–1.44)	0.35 (0.27–0.69)
Neuroborreliosis (n = 15)	0.59 (0.14–5.94)	0.82 (0.14–5.48)
CIDP (n = 7)	0.34 (0.22–2.03)	0.25 (0.22–0.43)

KFLC index (= index CLLk) :

$$\frac{(\text{CLL Kappa LCR} / \text{CLL Kappa s\u00e9rum})}{(\text{Albumine LCR} / \text{Albumine s\u00e9rum})}$$

Table 1 Median values (lower quartile-upper quartile) of FLCs in CSF and FLC indices in different subgroups

	KFLC (mg/l) in CSF	LFLC (mg/l) in CSF	KFLC index	LFLC index
MS group (n = 70)	4.12 (1.4–8.77)	0.67 (0.25–1.54)	65.74 (22.25–159.42)	9.62 (4.27–37.25)
Definite MS (n = 41)	4.62 (1.41–10)	0.72 (0.29–1.46)	78.97 (19.58–189.39)	9.34 (4.49–29.24)
CISSMS (n = 29)	2.95 (1.39–8.65)	0.53 (0.24–1.57)	63.03 (29.91–95.19)	12.24 (3.31–42.3)
Control group (n = 45)	0.18 (0.13–0.22)	0.16 (0.13–0.2)	1.35 (0.94–2.21)	1.23 (0.91–1.54)
Encephalitis/meningitis (n = 41)	0.55 (0.32–1.27)	0.57 (0.27–1.27)	3.01 (1.13–9.03)	2.1 (1.07–5.27)
Guillain-Barr\u00e9 syndrome (n = 15)	0.8 (0.25–1.44)	0.35 (0.27–0.69)	2.33 (1.63–9.39)	1.88 (1.27–3.48)
Neuroborreliosis (n = 15)	0.59 (0.14–5.94)	0.82 (0.14–5.48)	3.3 (1.74–24.65)	2.19 (1.33–30.17)
CIDP (n = 7)	0.34 (0.22–2.03)	0.25 (0.22–0.43)	1.34 (1.1–8.09)	1.44 (1.02–2.03)

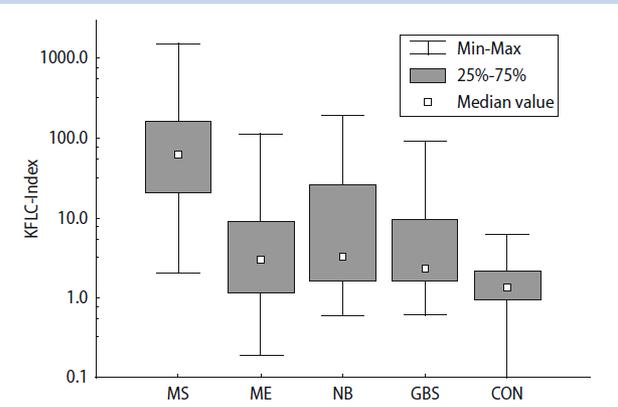


Fig. 1 Median values and ranges of KFLC index in different subgroups; *MS* MS subgroup; *ME* meningitis/encephalitis subgroup; *NB* neuroborreliosis subgroup; *GBS* Guillain-Barr\u00e9 syndrome subgroup; *CON* control subgroup

Table 2 Occurrence of positive OCB, elevated IgG indices (IgGI) and elevated KFLC indices (KI) and resulting sensitivity, specificity and positive and negative predictive values for the diagnosis MS/CISSMS using different thresholds

	All patients n = 438	MS group n = 70 (definite MS n = 41)	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value
Positive OCB	94	64 (39)	0.91	0.92	0.68	0.98
IgGI ≥ 0.6	141	56 (33)	0.80	0.77	0.4	0.95
IgGI > 0.65	110	46 (27)	0.66	0.83	0.42	0.93
IgGI > 0.7	92	43 (26)	0.61	0.87	0.47	0.92
KI ≥ 5.9	117	67 (40)	0.96	0.86	0.58	0.99
KI > 20	80	54 (30)	0.77	0.93	0.68	0.96
KI > 50	46	42 (25)	0.60	0.99	0.91	0.93
KI > 200	11	11 (9)	0.16	1	1	0.86

→ index CLL K $\geq 5,9$: valeur seuil pour diagnostic SEP.

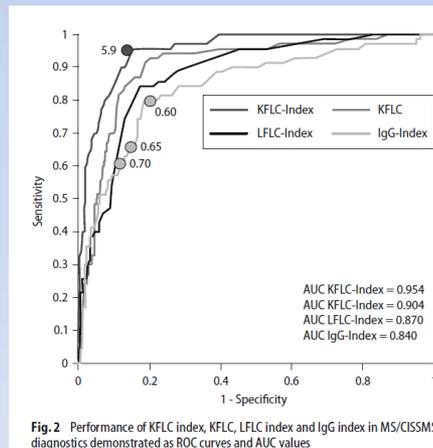


Fig. 2 Performance of KFLC index, KFLC, LFLC index and IgG index in MS/CISSMS diagnostics demonstrated as ROC curves and AUC values

NB : équipe de Desplat-Jego propose valeur seuil > 20 , sensibilité diminue fort

- Sensibilité et spécificité des divers techniques

	SEP + CIS	Sensibilité	Spécificité
KFLC index $\geq 5,9$	61/70	96 % +++	86 % ++
B. Oligo Isofoc.	64/70	91 % ++	92 % +++
IgG index $\geq 0,6$	56/70	80 % +	77 % +



50 / 368 non-SEP : KFLC index $> 5,9$: spécificité plus faible que BO Isofoc .
présentent en parallèle augmentation LFLC index.
. 18/50 : méningites/encéphalites

- Sensibilité et spécificité des divers techniques

	SEP + CIS	Sensibilité	Spécificité
KFLC index $\geq 5,9$	61/70	96 % +++	86 % ++
B. Oligo Isofoc.	64/70	91 % ++	92 % +++
IgG index $\geq 0,6$	56/70	80 % +	77 % +



Sensibilité pas de 100 % : 3 patients (1 MS et 2 CIS) /70 ont un index normal mais également pas de BO et un index IgG normal!

Stefan Presslauer
Dejan Milosavljevic
Thomas Brücke
Peter Bayer
Walter Hübl

Elevated levels of kappa free light chains in CSF support the diagnosis of multiple sclerosis

- **Index CLL K élevé** est fortement **corrélé** avec le diagnostic de **SEP** ou de **CSI** .
- **SEP** : **CLL kappa +++**, **CLL lambda +**
- **Non SEP** : si augmentation modérée **CLL kappa** → augmentation **CLL lambda**
- **Index CLL kappa > 5,9** : valeur seuil

Kappa Free Light Chains: Diagnostic and Prognostic Relevance in MS and CIS

Stefan Presslauer^{1*}, Dejan Milosavljevic², Wolfgang Huebl², Silvia Parigger¹, Gabriele Schneider-Koch¹, Thomas Bruecke¹
Plos One 2014

- 65 SEP + 69 CIS + 420 contrôles (démence, épilepsie,...)
- 420 contrôles divisés en 23 sous-groupes (15-20 personnes/groupe) en fonction de l'état de leur barrière hémato-méningée (Quotient albumine)

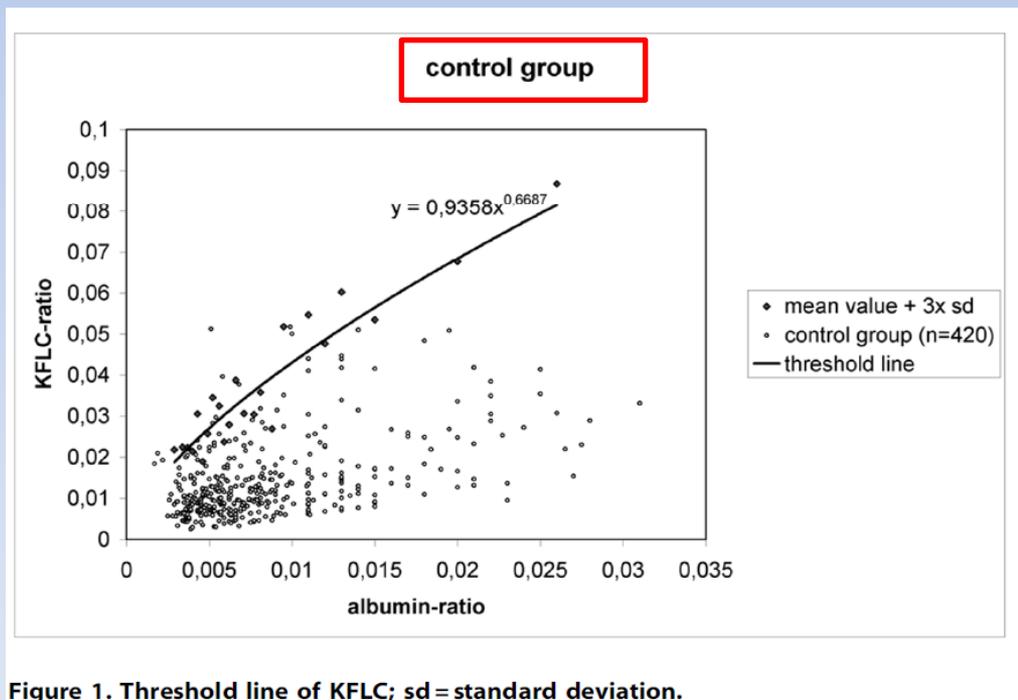


Figure 1. Threshold line of KFLC; sd = standard deviation.

Graphe représente la valeur moyenne de $Q_{KFLC} + 3 SD$ en fonction de la moyenne du Q_{Alb}

$$Q_{KFLC} = 0.9358 \times Q_{Alb}^{0.6687}$$

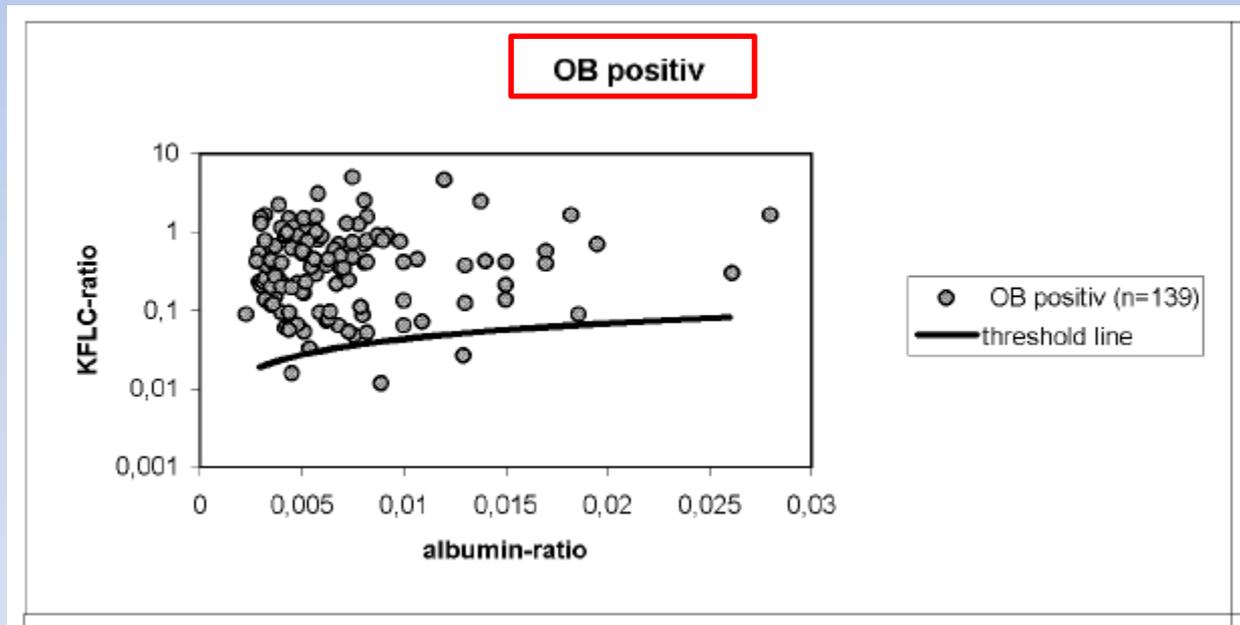
$$Q_{KFLC} = \text{KFLC LCR} / \text{KFLC sérum}$$

$$Q_{alb} = \text{Albumine LCR} / \text{Albumine sérum}$$

Kappa Free Light Chains: Diagnostic and Prognostic Relevance in MS and CIS

Stefan Presslauer^{1*}, Dejan Milosavljevic², Wolfgang Huebl², Silvia Parigger¹, Gabriele Schneider-Koch¹, Thomas Bruecke¹
Plos One 2014

- 139 patients BO + : 61 SEP + 52 CIS + neuroborrélioses, méningites, neurosyphilis,...



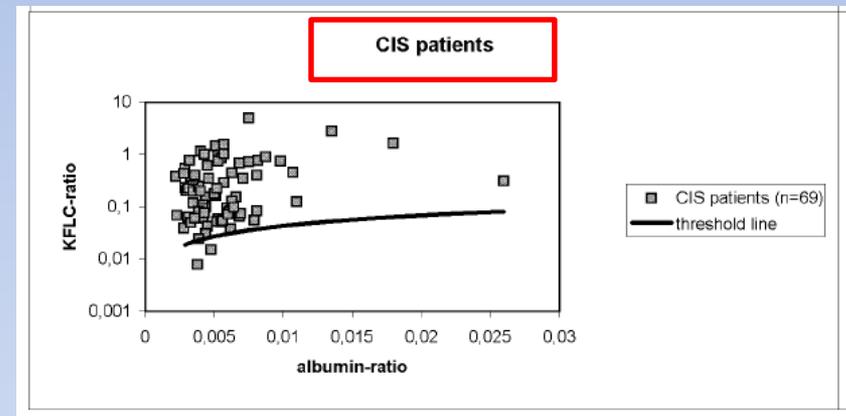
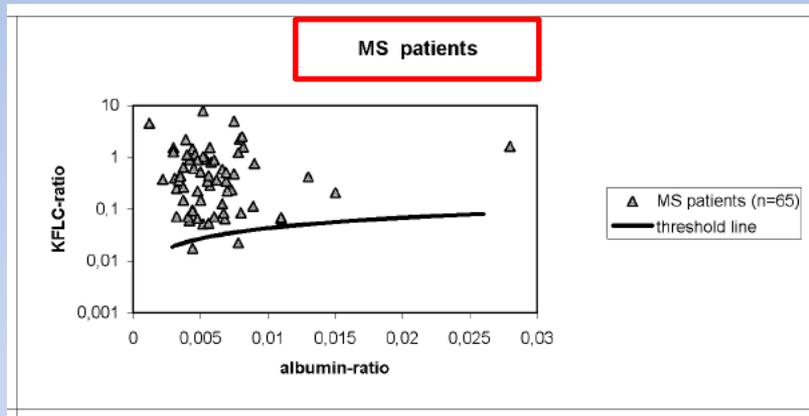
→ 98 % sont au-dessus de la ligne seuil

Kappa Free Light Chains: Diagnostic and Prognostic Relevance in MS and CIS

Stefan Presslauer^{1*}, Dejan Milosavljevic², Wolfgang Huebl², Silvia Parigger¹, Gabriele Schneider-Koch¹, Thomas Bruecke¹
Plos One 2014

• 65 SEP dont 61 BO +

69 CIS dont 56 BO + (19% BO- !!)

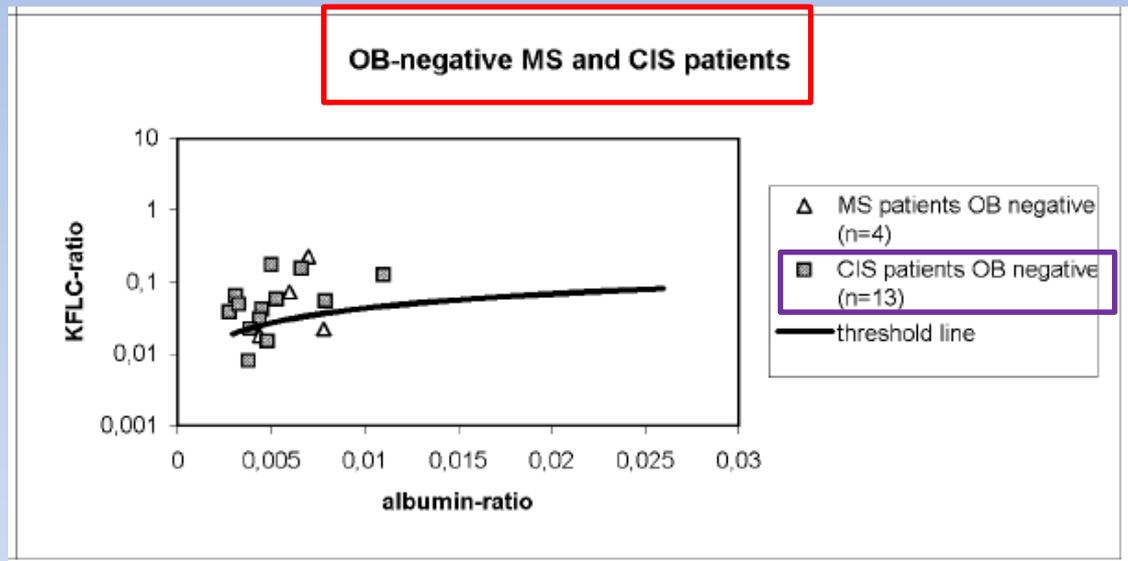


→ SEP : 97 % sont au-dessus de la ligne seuil contre 93 % de sensibilité pour les BO

→ CIS : 97 % sont au-dessus de la ligne seuil contre 81 % de sensibilité pour les BO

Kappa Free Light Chains: Diagnostic and Prognostic Relevance in MS and CIS

Stefan Presslauer^{1*}, Dejan Milosavljevic², Wolfgang Huebl², Silvia Parigger¹, Gabriele Schneider-Koch¹, Thomas Bruecke¹
Plos One 2014



→ 76 % sont au-dessus de la ligne seuil (13 sur 56 CIS !!)

→ CLLK permettent d'identifier une synthèse intrathécale chez des patients ayant une isofocalisation négative. !

Kappa Free Light Chains: Diagnostic and Prognostic Relevance in MS and CIS

Stefan Presslauer^{1*}, Dejan Milosavljevic², Wolfgang Huebl², Silvia Parigger¹, Gabriele Schneider-Koch¹, Thomas Bruecke¹
Plos One 2014

Disease	Oligoclonal bands	IgG index	κ FLC index (threshold value)
MS (n=65)	94%	85%	97%
CIS (n=69)	81%	74%	97%

Prédiction de conversion vers SEP

High levels of cerebrospinal fluid free kappa chains predict conversion to multiple sclerosis

Luisa M. Villar ^{a,c}, Mercedes Espiño ^{a,c}, Lucienne Costa-Frossard ^{b,c}, Alfonso Muriel ^{c,d}, Juana Jiménez ^e, José C. Álvarez-Cermeño ^{b,c,*}

Clinica Chimica Acta 413 (2012) 1813–1816

CIS (Clinically Isolated Syndrome)

↳ névrite optique, ... → SEP

↳ 1 seul épisode ~~↔~~ → SEP

Diagnostic de SEP : rechute ou IRM : dissémination des lésions dans l'espace et le temps.

→ Identifier les patients CIS qui deviendront des SEP est très important pour pouvoir traiter le plus rapidement possible.

78 CIS patients étudiés durant entre 9 et 136 mois.

CLL Kappa LCR dans groupe contrôle (n=25 pathologies non inflammatoires) :
 0,19 +/- 0,17 mg/l → moy + 2 SD = **0,53 mg/l**

CLL Kappa LCR

> 0,53 mg /L

< 0,53 mg/l

Table 1
Basal clinical and laboratory data of CIS patients.

	Group 1	Group 2	p value
Patients (n)	49	29	
Gender (females %)	38 (77.5)	19 (65.5)	0.29
Age [mean (IR)]	30.8 (25.5–34.5)	31.6 (26.5–37.0)	0.37
CIS topography (ON/BS/SC/other)	7/7/23/12	7/8/7/7	0.16
EDSS at CIS [mean (IR)]	2.38 (2–3)	1.98 (2–2)	0.33
Months of follow-up [mean (IR)]	53.1 (27.5–77.5)	43.0 (26.5–54.0)	0.30
≥ 3 Barkhof/Tintoré criteria (%)	20 (40.8)	3 (10.3)	0.0047
Albumin quotient [mean (IR)]	5.02 (3.13–5.76)	4.68 (3.20–5.65)	0.95
Serum Kappa chains [mean (IR)]	12.71 (9.63–15.45)	11.52 (8.43–14.05)	0.29
Oligoclonal IgG bands in CSF (+/–)	45/4	4/25	<0.0001
Conversion to CDMS (%)	35 (71.4)	3 (10.34)	<0.0001
N. of relapses [mean (IR)]	2 (1–3)	1 (1–1)	<0.0001

Group 1. CIS patients with CSF free kappa chain levels above 0.53 mg/l.

Group 2. CIS patients with CSF free kappa chain levels below 0.53 mg/l.

IR. Interquartile range.

ON. Optic neuritis. BS. Brain stem. SC. Spinal cord.

CDMS. Clinically definite multiple sclerosis.

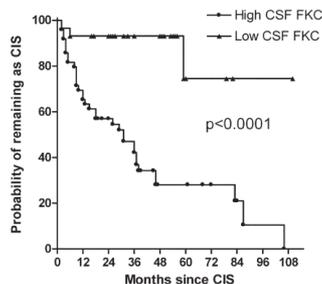


Fig. 3. Kaplan-Meier analysis shows that the probability of remaining as CIS, not converting to clinically definite MS, is higher in patients with low CSF FK (triangles) than in those with high CSF FK (circles).

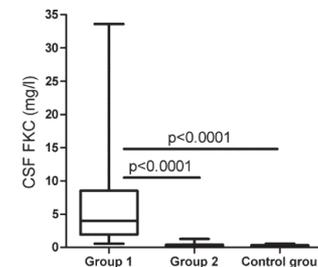


Fig. 2. CSF FK levels in the different groups of patients studied. CIS Group 1. CIS patients with CSF FK above 0.53 mg/l with high risk to develop MS. CIS Group 2. CIS patients with CSF FK below 0.53 mg/l. Control group. Patients with non-inflammatory neurological diseases (NIND).

→ CLL Kappa LCR > 0,53 mg /L prédit passage CIS vers SEP

Free kappa light chains in cerebrospinal fluid as a biomarker to assess risk conversion to multiple sclerosis

P Menéndez-Valladares, MI García-Sánchez, P Cuadri Benítez, M Lucas, M Adorna Martínez, V Carranco Galán, JL García De Veas Silva, C Bermudo Guitarte and G Izquierdo Ayuso

Multiple Sclerosis Journal –
Experimental, Translational
and Clinical

1: 1–9

DOI: 10.1177/
2055217315620935

© The Author(s), 2015.
Reprints and permissions:
[http://www.sagepub.co.uk/
journalsPermissions.nav](http://www.sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav)

176 patients : 77 CIS (médiane index K : 35,6)
29 SEP (médiane index K : 88)
70 contrôles (médiane index K : 1,96)

10,62

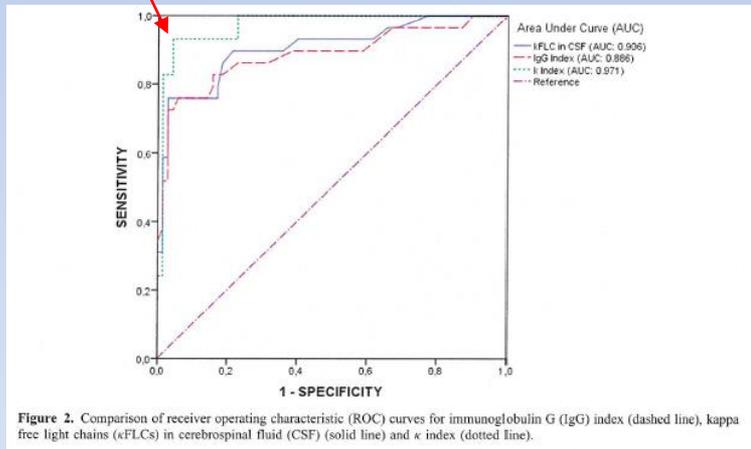


Figure 2. Comparison of receiver operating characteristic (ROC) curves for immunoglobulin G (IgG) index (dashed line), kappa free light chains (κ FLCs) in cerebrospinal fluid (CSF) (solid line) and κ index (dotted line).

Table 3. Clinical and laboratory data of clinically isolated syndrome (CIS) patients using κ index cut-off of 10.62. Subgroup 1: patients with κ index > 10.62; subgroup 2: patients with κ index < 10.62.

	Subgroup 1	Subgroup 2	p Value
Patients (n)	49	28	–
Gender (females %)	41 (83.7)	19 (67.9)	–
Age (mean (95% CI))	34.1 (31.3–36.9)	37.4 (32.9–41.8)	0.186
OCGB (+/–)	44/5	4/24	<0.0001
IgG index (>0.56/<0.56)	46/3	3/25	<0.0001
≥ 3 BCT (%)	30 (61.2)	6 (21.4)	0.008
Fulfilled MRI and OCGB criteria (yes/no)	29/17	3/17	<0.0001
Conversion to MS (%)	35 (71.4)	3 (10.7)	<0.0001

BTC: Barkhof-Tintoré criteria; CI: confidence interval; IgG: immunoglobulin G; MRI: magnetic resonance imaging; MS: multiple sclerosis; OCGB: oligoclonal IgG band.

Free kappa light chains in cerebrospinal fluid as a biomarker to assess risk conversion to multiple sclerosis

P Menéndez-Valladares, MI García-Sánchez, P Cuadri Benítez, M Lucas, M Adorna Martínez, V Carranco Galán, JL García De Veas Silva, C Bermudo Guitarte and G Izquierdo Ayuso

Multiple Sclerosis Journal – Experimental, Translational and Clinical

1: 1–9

DOI: 10.1177/2055217315620935

© The Author(s). 2015.
Reprints and permissions:
<http://www.sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav>

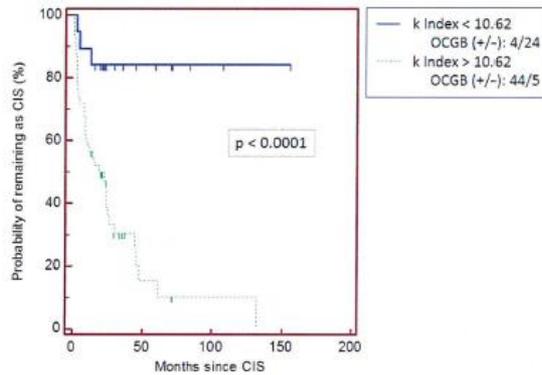


Figure 3. Kaplan-Meier analysis between clinically isolated syndrome (CIS) patients in which is shown the probability of remaining as CIS according to cut-off value for κ index: above 10.62 (dotted line) and below 10.62 (solid line). The time is represented in months since CIS. OCGB: oligoclonal immunoglobulin G band.

→ La probabilité de conversion à SEP est plus élevée (risque 7,34 x plus élevé) chez les patients CIS avec Index Kappa > 10,62

	Sensibilité	Spécificité
Index K >10,62	93,1 %	95,7 %
BO +	96,5 %	98,6%
Index IgG (> = 0,56)	75,9 %	94,3 %

→ Index Kappa n'est pas supérieur aux BO quant à la prédiction de passage de CIS en SEP.

Avantages-Inconvénients

	Isofocalisation	Dosage CLL kappa
Sensibilité	++	+++
Spécificité	+++	++
Rapidité d'analyse	+	+++
Facilité d'analyse	+	+++
Objectivité de l'interprétation	+	+++
Quantitatif	Non	Oui
Coût patient	Inami	A charge patient

NB : 1 seul coffret pour la réalisation des CLL sériques et LCR

Sources

- Cours Sebia
- Jeudis de Fleurus Mme Gillain
- Web : Ligue nationale belge de la sclérose en plaques
- CBIP

Dosage des chaînes légères libres lambda

Maladies neurologiques infectieuses : augmentation des CLL lambda comme CLL kappa dans SEP.

- The value of CSF fLLC measurement is less clear. While the earliest reports found intrathecal fLLC synthesis more frequently than that of fKLC [11, 12, 17], the reverse is observed in almost all later studies, with one notable exception [34].
- **11.** Bracco F, Gallo P, Menna R, Battistin L, Tavalato B. Free light chains in the CSF in multiple sclerosis. *J. Neurol.* 1987; 234: 303±307. PMID: 3112315
- **12.** Gallo P, Tavalato B, Bergenbrant S., SideÅn Å. Immunoglobulin light chain patterns in the cerebrospinal fluid. A study with special reference to the occurrence of free light chains in cerebrospinal fluid with and without oligoclonal immunoglobulin G. *J Neurol Sci.* 1989; 94: 241±253.
- **17.** Vakaet A, Thompson EJ. Free light chains in the cerebrospinal fluid: an indicator of recent immunological stimulation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1985; 48: 995±998.
- **34.** Arneith B, Birklein F. High sensitivity of free lambda and free kappa light chains for detection of intrathecal immunoglobulin synthesis in cerebrospinal fluid. *Acta Neurol Scand.* 2009; 119: 39±44.

Validation of kappa free light chains as a diagnostic biomarker in multiple sclerosis and clinically isolated syndrome: A multicenter study

Multiple Sclerosis Journal

1–9

DOI: 10.1177/
1352458515594044

© The Author(s), 2015.
Reprints and permissions:
[http://www.sagepub.co.uk/
journalsPermissions.nav](http://www.sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav)

Stefan Presslauer, Dejan Milosavljevic, Wolfgang Huebl, Fahmy Aboulenein-Djamshidian, Walter Krugluger, Florian Deisenhammer, Makbule Senel, Hayrettin Tumani and Harald Hegen

- Etude de 60 SEP, 60 CIS, 60 patients avec d'autres pathologies neurologiques
- Sensibilité et spécificité des divers techniques

	Sensibilité		Spécificité
	SEP	CIS	
KFLC index $\geq 5,9$	93 % +++	78 % +++	95 %
B. Oligo Isofoc.	93 % +++	72 % ++	98 %
IgG index $\geq 0,6$	80 % +	53 % +	97 %

Marqueur pronostic de conversion à SEP

- “presence of OCBs is associated with an up to two-fold higher risk for conversion from CIS to MS”
Tintoré neurology 2008

- « elevated CSF KFLC (>1,53 mg/L) levels predict disability progression in MS patients »

Rinker II JR, Trinkaus K and Cross AH. Elevated CSF free kappa light chains correlate with disability prognosis in multiple sclerosis. *Neurology* 2006;67:1288–90

- « In CIS patients, elevated CSF KFLCs predict
earlier conversion to MS » Villar CCA 2012

- Senel et al. followed 77 CIS patients for two years. They reported that the kappa quotient
- {Equation 2} was higher in CIS patients (n=39) who progressed to CDMS than in those who did not
- (n=38). They found that 86.8% of CIS patients who converted to MS had elevated kappa quotients,
- compared with only 61.5% of CIS patients who did not convert ($p < 0.001$). They proposed that these
- data are suggestive of the prognostic value of their kappa metric. Nevertheless, when they compared
- OCB analysis with the kappa quotient, their results were: for the kappa quotient - sensitivity 86.8%;
- specificity 38.5%; PPV 57.9%; NPV 75%, and for OCB analysis - sensitivity 89.1%; specificity 33.3%;
- PPV 57.4%; NPV 81.3%. They concluded that the kappa quotient was of similar value but not superior
- to OCB analysis in predicting conversion of CIS to CDMS.

- Senel M, Tumani H, Lauda F, et al. Cerebrospinal fluid immunoglobulin kappa light chain in
- clinically isolated syndrome and multiple sclerosis. *Plos One* 2014;9: 1-7.

- Presslauer et al also claim
- there is no significant difference between the κ FLC index of the CIS group converting to MS {mean =
- 77.8} compared with the stable CIS group {mean = 82.7}.

- Presslauer S, Milosavljevic D, Hubl W, et al. Kappa free light chains: diagnostic and prognostic
- relevance in MS and CIS. *Plos One* 2014;9, 1-6.

Marqueur pronostic de progression de la maladie

- Becker et al,
- after assessing the results of 409 patients followed up over 4.5 years, concluded that none of eleven clinical and biochemical parameters predicted disease progress. These included OCBs and IgG index.
- Becker M, Latache C, Roman E, et al. No prognostic value of routine cerebrospinal fluid biomarkers in a population-based cohort of 407 multiple sclerosis patients. *BMC Neurol* 2015; doi: 10.1186/s12883-015-0330-4.
- Anagnostouli et al assessed 108 MS patients, comparing dysfunction with OCB level. They concluded that the presence of CSF OCBs in their MS patients tended to be related to widespread cognitive changes, specifically worse visual memory (Rey's complex figure test-recall; $p = 0.006$).
- They proposed that OCB analysis as a prognostic factor needs further study before any firm conclusion can be drawn with regards to its value.
- Anagnostouli M, Christidi F, Zalonis I, et al. Clinical and cognitive implications of cerebrospinal fluid oligoclonal bands in multiple sclerosis patients. *Neurol Sci* 2015;36:2053-60.

Marqueur pronostic de progression de la maladie

- In contrast to the negative opinions cited above regarding OCB analysis, early data on FLCs are more positive. Rudick et al. studied 36 patients over a median follow-up time of 38.9 months. They evaluated myelin basic protein, IgG synthesis rate, IgG index and κ and λ FLCs as prognostic factors. Expanded Disability Status Scale, the Ambulation Index, the 9 Hole Peg Test and the Box and Blocks test were used to assess disease progression. They concluded that CSF κ FLC levels were the best predictor of physical deterioration.
- Rudick RA, Medendorp SV, Namey M, et al. Multiple sclerosis progression in a natural history study: predictive value of cerebrospinal fluid free kappa light chains. *Mult Scler* 1995;1:150-5.
- Rinker et al, studied 57 CDMS patients (RRMS 23; SPMS 28; PPMS 6) with a median disease duration of 15 years (range 1 to 30 years). Patients were divided into one group with CSF κ FLC concentration ≥ 1.53 mg/L and another with < 1.53 mg/L. The high CSF κ FLC concentration group had a higher likelihood of a more severe disease course than the low concentration group. This was evidenced by a high likelihood of requiring ambulatory assistance within 10 years and over the disease course. The group also had greater disability relative to disease duration, as estimated by a Multiple Sclerosis Severity Score. They reported that the positive predictive value of CSF κ FLC concentration ≥ 1.53 mg/L was:
 - a) for requiring ambulatory assistance within 10 years - 66.7%;
 - b) for requiring ambulatory assistance over the course of the disease - 88.9%;
 - c) for the likelihood of reaching a Multiple Sclerosis Severity Score >6 was 88.9% with 95% confidence.
- Rinker II JR, Trinkaus K and Cross AH. Elevated CSF free kappa light chains correlate with disability prognosis in multiple sclerosis. *Neurology* 2006;67:1288–90.

Marqueur pronostic de progression de la maladie

- These findings contrast with those of Desplat-jego et al who followed a group of 15 CIS patients
- converting to CDMS. They found no correlation between κFLC indices and disease progression as judged by:
- i) time to conversion to MS according McDonald's criteria,
- i) number of relapses,
- ii) number of relapses/length of follow-up,
- iii) initial and final EDSS score.²¹
- The findings of Desplat-jego et al are in accord with the results of the multicentre Avonex phase III trial described by Rudick et al in which CSF κFLC concentration did not change significantly in either treatment or placebo groups over the two year period of the trial.⁴² Thus CSF κFLC concentration did not reflect improvement in the clinical status of patients following treatment with the drug.

- Desplat-jego S, Feuillet L, Pelletier J, et al. Quantification of immunoglobulin free light chains in cerebrospinal fluid by nephelometry. *J Clin Immunol* 2005;25:338-45.

- Inflammation du SNC : production d'immunoglobulines intrathécales.
- Plasmocytes produisent un excès de chaînes légères libres kappa et lambda lors de la production des Immunoglobulines.
- Pourquoi plus de kappa ...???