L'aggiornamento dei criteri per la diagnosi di mieloma multiplo da parte dell'"International Myeloma Working Group"

Anna Caldini[1], **Maria Stella Graziani**[2] **per il Gruppo di Studio SIBioC - Medicina di Laboratorio Proteine**
[1]Laboratorio Generale, Dipartimento Aziendale Integrato dei Servizi, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze
[2]Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

ABSTRACT

The update of the criteria for the diagnosis of multiple myeloma by the International Myeloma Working Group (IMWG). The IMWG has recently updated the disease definition of multiple myeloma, by adding validated biomarkers to the existing requirements of organ damage (hypercalcemia, renal insufficiency, anemia, bone lesions). These changes are based on the identification of biomarkers able to detect the subset of patients with smouldering multiple myeloma at imminent risk of developing organ damage and should, therefore, be considered for therapy. Considering that the clinical laboratory is involved in the measurement of these new markers, this paper is aimed to illustrate the proposed changes giving at the same time some indications for their accurate measurements. As for the organ damage, the major change is related to the evaluation of renal function: the new criteria include the estimation of the glomerular filtration rate using established formulas (eGFR) rather than the use of serum creatinine concentrations alone, as previously indicated. The diagnosis of renal insufficiency requires an eGFR <40 mL/min/1.73 m^2. The criteria for anemia and hypercalcemia remain unchanged. As biomarker of malignancy, a ratio >100 of involved to uninvolved serum free light chains is recognized. Another relevant modification is the elimination of the monoclonal protein quantification; it is based on the consideration that an important percentage of patients with multiple myeloma does not show a serum or urine monoclonal protein. Other changes based on imaging techniques or bone marrow examination do not involve the clinical laboratory and are not discussed in this paper. Additional biomarkers will probably be indentified in the near future, but they need to be validated by more independent studies.

PREMESSA

L'"International Myeloma Working Group" (IMGW) ha recentemente emanato un documento di consenso (1), che aggiorna i precedenti criteri per la definizione del mieloma multiplo (MM) includendo alcuni biomarcatori clinicamente validati in aggiunta a quelli già inclusi precedentemente (2), rivedendo alcuni dei criteri relativi alla rilevazione del danno d'organo e, precisamente, ipercalcemia, insufficienza renale, anemia e lesioni ossee (CRAB). Considerato che alcuni di questi aggiornamenti riguardano il laboratorio clinico, abbiamo ritenuto utile commentare il nuovo documento, riassumendo di seguito i punti principali.

Il MM è una neoplasia causata dalla proliferazione di un clone plasmacellulare, quasi sempre preceduta da una gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS), che è presente in ~4-6% dei soggetti con più di 50 anni di età (3-5). La diagnosi di MGUS richiede la negatività di tutti i criteri CRAB; la sua progressione verso il MM è stimata attorno al 1% per anno, con un rischio che varia in dipendenza dalla concentrazione e dal tipo della proteina monoclonale (CM), dal rapporto fra le catene leggere libere κ e λ nel siero (rFLC), dalla quantità di plasmacellule midollari e dalla presenza di immunoparesi (6). Il MM asintomatico (SMM, "smouldering multiple myeloma") è uno stadio clinico intermedio tra MGUS e MM nel quale il rischio di progressione è elevato (~10% per anno nei primi 5 anni). SMM è un'entità clinica che comprende un sottogruppo di pazienti in uno stadio di premalignità con caratteristiche simili a MGUS e un altro sottogruppo di pazienti più vicino al MM, pur se CRAB-negativo. Sfortunatamente non è disponibile al momento una singola caratteristica molecolare o biochimica che ci permetta di distinguere queste due sottopopolazioni. Di conseguenza, è fortemente sentita l'esigenza di avere a disposizione criteri, basati sui biomarcatori, che

Corrispondenza a: Maria Stella Graziani, Vicolo S. Giovanni in Foro 5, 37121 Verona. E-mail mariastella@graziani.eu

Ricevuto: 12.03.2015 Revisionato: 25.04.2015 Accettato: 30.04.2015

consentano di identificare quel sottogruppo di pazienti con SMM che sono a rischio imminente di sviluppare danno d'organo (definito dalla presenza di CRAB) e che necessitano quindi di essere considerati per la terapia (7).

RAZIONALE PER L'AGGIORNAMENTO DEI CRITERI DIAGNOSTICI

I criteri attuali per la diagnosi differenziale tra MM, SMM e MGUS sono stati proposti nel 2003 (2) e rivisti, con poche modifiche, nel 2009 (8) (Tabella 1). È evidente che la diagnosi di MM richiede che siano presenti manifestazioni cliniche di danno d'organo in uno stadio avanzato, come lesioni ossee e/o insufficienza renale. Questo impedisce a un tempo sia che i pazienti siano trattati per prevenire il danno d'organo sia che la terapia venga attuata quando la malattia è più suscettibile e risulti così più efficace. Questa situazione era accettabile quando le opzioni terapeutiche erano limitate e presentavano effetti tossici tali da impedire la dimostrazione di un effetto benefico derivato da un trattamento precoce. Al momento attuale, le prospettive sono molto cambiate perché le opzioni terapeutiche sono molto migliorate ed è stato possibile dimostrare che i pazienti ad alto rischio opportunamente trattati mostrano una sopravvivenza più lunga. Inoltre le tecniche di "imaging" e le indagini di laboratorio utilizzabili attualmente sono notevolmente migliorate rispetto al passato consentendo di diagnosticare il danno d'organo prima che esso si manifesti clinicamente. Diversi studi clinici, citati e commentati nel documento di consenso, hanno dimostrato che è possibile identificare con ragionevole sicurezza sulla base di nuovi biomarcatori quel sottogruppo di pazienti a elevato rischio di danno d'organo imminente e procedere quindi a trattamenti terapeutici efficaci. Gli Autori del documento di consenso hanno ritenuto quindi che sia venuto il momento di modificare la definizione di MM, che attualmente richiede la presenza di un danno d'organo potenzialmente grave prima di considerare il trattamento.

I NUOVI CRITERI DIAGNOSTICI

I nuovi criteri proposti sono riportati nella Tabella 2. Vengono illustrati e discussi qui di seguito solo i criteri di interesse per il laboratorio clinico e che presentano modifiche rispetto ai documenti precedenti (2, 8). Per le tecniche di "imaging", come pure per i criteri relativi all'analisi del midollo osseo e alla biopsia osteo-midollare, che sono pure elencati nella Tabella 2, si rimanda al documento originale e alla bibliografia in esso contenuta. Un'importante considerazione da tenere presente è che, sia nei documenti del 2003 e del 2009 che nella revisione attuale, per essere significativo ai fini della diagnosi di MM, il danno d'organo deve essere attribuibile alla proliferazione plasmacellulare e non essere imputabile ad altre cause.

Tabella 1
Criteri diagnostici dell'"International Myeloma Working Group" (2003-2009) per la diagnostica differenziale tra gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS), mieloma asintomatico (SMM) e mieloma multiplo (MM)

Discrasia plasmacellulare	Definizione	Livello decisionale
MGUS[a]	CM sierica	<30 g/L
	Plasmacellule clonali midollari	<10%
	Assenza di danno d'organo (CRAB)[b]	
SMM[a]	CM sierica	≥30 g/L
	Plasmacellule clonali midollari	<10%
	Assenza di danno d'organo (CRAB)[b]	
MM[a]	CM sierica o urinaria	Qualsiasi concentrazione, tranne MM non secretorio
	Plasmacellule clonali midollari	≥10%
	Presenza di danno d'organo (CRAB)[b]:	
	Ipercalcemia	S-Calcio >2,75 mmol/L (>11 mg/dL) oppure >0,25 mmol/L (>1 mg/dL) rispetto al limite superiore di riferimento
	Anemia	B-Emoglobina <100 g/L oppure <20 g/L rispetto al limite inferiore di riferimento
	Insufficienza renale	S-Creatinina >177 mmol/L (>2,00 mg/dL)
	Lesioni ossee	Lesioni litiche oppure osteoporosi oppure fratture patologiche

[a] *Tutti i criteri devono essere soddisfatti.*
[b] *Il danno d'organo deve essere attribuibile alla proliferazione plasmacellulare; i criteri CRAB non vanno quindi considerati se le plasmacellule midollari sono <10%.*
CM, componente monoclonale; CRAB, calcio/insufficenza renale/anemia/lesioni ossee.

Tabella 2
Nuovi criteri diagnostici dell'"International Myeloma Working Group" emanati nel 2014 per la diagnostica differenziale tra mieloma multiplo (MM) e mieloma asintomatico (SMM)

Mieloma multiplo
Plasmacellule clonali[a] midollari ≥10% e presenza di uno o più dei seguenti criteri caratterizzanti il mieloma:
- Presenza di danno d'organo (CRAB)[b]:
- Ipercalcemia: S-Calcio >2,75 mmol/L (>11 mg/dL) oppure >0,25 mmol/L (>1 mg/dL) rispetto al limite superiore di riferimento
- Anemia: B-Emoglobina <100 g/L oppure <20 g/L rispetto al limite inferiore di riferimento
- Insufficienza renale: "clearance" della creatinina (misurata) o eGFR calcolata con formula MDRD o CKD-EPI <40 mL/min/1,73 m^2, oppure S-Creatinina >177 mmol/L (>2,00 mg/dL)
- Lesioni ossee: una o più lesioni litiche determinate con radiografia, CT o PET-CT
- Uno o più dei seguenti biomarcatori di malignità:
- Plasmacellule clonali[a] midollari ≥60%
- Rapporto tra catena leggera coinvolta/non coinvolta ≥100; la catena leggera monoclonale deve essere ≥100 mg/L[c]
- >1 lesione focale, visualizzata con MRI
Mieloma asintomatico
- Componente monoclonale sierica (IgG o IgA) ≥30 g/L o componente monoclonale urinaria ≥500 mg/24 ore e/o plasmacellule clonali[a] midollari 10-60%
- Assenza dei criteri identificanti il MM

[a]*La clonalità deve essere stabilita dimostrando una restrizione delle catene leggere κ/λ in citometria a flusso, immunoistochimica o immunofluorescenza.*
[b]*Il danno d'organo deve essere attribuibile alla proliferazione plasmacellulare; i criteri CRAB non si applicano se le plasmacellule midollari sono <10%.*
[c]*Questi valori sono basati su studi effettuati con il reagente Freelite (Binding Site) e non sono validati per concentrazioni di catene leggere libere ottenute con altri metodi.*
eGFR, stima della velocità di filtrazione glomerulare; MDRD, "Modification on diet in renal disease"; CKD-EPI, "Chronic kidney disease-epidemiology collaboration"; CT, tomografia assiale computerizzata; PET, tomografia a emissione di positroni; MRI, risonanza magnetica.

Insufficienza renale

Il criterio precedente per stabilire la presenza di un danno renale prevedeva una concentrazione di creatinina sierica >177 umol/L (>2,00 mg/dL), che rappresenta grossolanamente un aumento di ~40% rispetto al limite superiore di riferimento. Tuttavia, è ben noto che usare un valore fisso per la valutazione della concentrazione della creatinina sierica e per la definizione di un'insufficienza renale può essere fuorviante in quanto tale valore dipende in modo importante dall'età e dal sesso, nonché dalla massa corporea del soggetto. Per questo motivo, le raccomandazioni più recenti della "Kidney Disease Improving Global Outcomes Initiative" (KDIGO) sottolineano in maniera chiara come la valutazione della funzionalità renale debba essere basata sulla stima della velocità di filtrazione glomerulare (eGFR) piuttosto che sulla misura della sola creatinina sierica (9). Tali raccomandazioni sono state riassunte e commentate per gli aspetti di laboratorio anche su questa rivista (10). Sulla base di queste raccomandazioni, negli studi clinici più recenti i criteri di eligibilità relativi alla funzionalità renale sono basati sull'eGFR e non sulla concentrazione della creatinina plasmatica. L'IMWG ha dunque modificato la precedente indicazione definendo l'insufficienza renale come un valore di eGFR <40 mL/min/1,73 m^2. Considerato che la misura della "clearance" della creatinina è un esame del tutto specialistico (10), nella grande maggioranza delle circostanze la valutazione della funzionalità renale verrà effettuata attraverso la stima dell'eGFR. I laboratoristi devono tenere ben presente che la concentrazione plasmatica di creatinina da utilizzare nelle formule deve essere misurata con un metodo standardizzato e con "bias" minimo verso il metodo di riferimento (spettrometria di massa a diluizione isotopica). In questo, i metodi enzimatici per la misura della creatinina offrono garanzie maggiori rispetto al tradizionale metodo al picrato alcalino (11-14).

Relativamente alla verifica che l'insufficienza renale così definita sia effettivamente un evento che definisce il MM, è necessario dimostrare che essa è causata dalla "light chain cast nephropathy" biopticamente diagnosticata (15). In alternativa, si può porre una diagnosi presuntiva se la concentrazione sierica della catena leggera libera coinvolta è particolarmente elevata, tipicamente >1500 mg/L. Altre forme di danno renale, quali amiloidosi AL, malattia da deposizione di catene leggere, sindrome di Fanconi nell'adulto, possono verificarsi nel MM, ma non sono caratteristiche di questa malattia perché possono essere osservate in

altri tipi di discrasie plasmacellulari (ad es., MGUS). Alcuni investigatori hanno riunito queste diverse manifestazioni renali in presenza di MGUS sotto il termine collettivo di gammopatia monoclonale di significato renale (MGRS) (16). L'esecuzione di una biopsia renale è quindi raccomandata per chiarire le cause della insufficienza renale, specialmente se la catena leggera libera monoclonale ha una concentrazione <500 mg/L. Questa raccomandazione è in linea con quanto indicato dal "International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group" (17).

Rapporto tra catena leggera libera coinvolta e non coinvolta

Nelle discrasie plasmacellulari l'eccesso di sintesi di un solo tipo di catena leggera (κ o λ) produce un'alterazione del loro rapporto plasmatico (rFLC), il cui intervallo diagnostico è 0,26-1,65. Un'alterazione del rFLC è un riconosciuto fattore di rischio di progressione sia per MGUS che per SMM, pur se con criteri quantitativi diversi fra le due condizioni (6). Un recente studio clinico, che ha coinvolto 586 pazienti con SMM, ha dimostrato che un rFLC ≥100 è un predittore di rischio imminente di progressione verso il MM, purché la catena leggera libera monoclonale coinvolta abbia una concentrazione sierica ≥100 mg/L (18). Gli Autori concludono che questi pazienti sono da considerare come pazienti con MM da sottoporre a terapia. Sulla base di questi dati e di altri due studi con risultati molto simili (19, 20), i nuovi criteri per la diagnosi di MM includono questo parametro, che non era contemplato precedentemente (Tabella 2).

A questo proposito si deve tener presente che i valori numerici riportati sono stati ottenuti da studi clinici nei quali le catene leggere libere nel siero (FLC) sono state misurate con reagenti Freelite Binding Site. Tali valori non sono direttamente trasferibili a metodi diversi da questo; molti lavori hanno infatti dimostrato una scarsa confrontabilità dei risultati di FLC ottenuti con metodi diversi, che impedisce che i valori ottenuti con metodi differenti possano essere usati indifferentemente (21). Inoltre, la qualità analitica della misura delle FLC presenta delle limitazioni che sono state ben illustrate in una recente revisione (22). Tra i problemi più importanti possiamo ricordare la variabilità tra lotti del reagente, il mancato riconoscimento da parte degli anticorpi presenti nel saggio immunometrico di particolari epitopi, che può causare risultati falsamente negativi, come pure la possibilità di incorrere nel fenomeno dell'eccesso di antigene (22). Queste criticità devono essere comprese dal laboratorista e condivise con il clinico per consentire di utilizzare al meglio questo fondamentale parametro.

Proteina monoclonale

Già nel 2003 i criteri IMWG riconoscevano che la CM può non essere presente nel siero o nelle urine di una percentuale dei pazienti con MM (~3%) (2); il 30% di questi pazienti inoltre non presenta nemmeno elevate concentrazioni di FLC. Tuttavia, questi sono clinicamente identificati come pazienti con MM sulla base degli altri criteri elencati e dopo che la natura clonale della proliferazione cellulare è stata stabilita istopatologicamente. La presenza della CM non è pertanto più compresa fra i criteri vincolanti per la definizione del MM, mentre rimane nella definizione del SMM (qualora ≥30 g/L) (Tabella 2). L'importanza della misura della CM nella gestione delle discrasie plasmacellulari e i problemi metodologici connessi alla sua quantificazione sono stati affrontati in recenti documenti del Gruppo di Studio Proteine (23, 24).

PROSPETTIVE FUTURE

I criteri aggiornati per la diagnosi del MM, quando applicati, consentiranno ai pazienti a elevato rischio di sviluppare rapidamente un danno d'organo di poter accedere ai trattamenti più precocemente, senza attendere che tale danno si manifesti clinicamente.

Oltre ai biomarcatori elencati nel documento, che sono stati inseriti perché considerati già sufficientemente validati, se ne ravvisano altri, il cui prossimo utilizzo è molto probabile. Tra questi, il documento del IMWG elenca la citometria a flusso multiparametrica per distinguere le plasmacellule clonali dalle plasmacellule normali (25) e la citogenetica per l'identificazione di anomalie associate ad alto rischio di progressione quali la traslocazione t(4;14), l'inserzione 1q e la delezione 17p (26, 27). Queste tecnologie sono inserite a pieno titolo nella Medicina di Laboratorio e gli sviluppi futuri in questo ambito dovranno senza dubbio essere portati all'attenzione dei laboratoristi.

Di particolare interesse per il laboratorio clinico è l'aspetto relativo all'aumento della concentrazione della CM. Qualche anno fa era stato riportato che un aumento della CM sierica del 10% in un periodo di 6 mesi era associato a un aumento del rischio di progressione del 65% (28). Tuttavia, questo dato non ha trovato conferma in studi successivi, nemmeno elevando la soglia dell'aumento percentuale a 50% o addirittura al 100% (29). Il documento dell'IMWG conclude a questo proposito che al momento non esistono dati sufficienti per inserire l'aumento della concentrazione della CM tra gli eventi caratterizzanti il MM, ma solo di suggerire che i pazienti che presentano aumenti rapidi della concentrazione della CM siano sottoposti a regimi di monitoraggio più stringenti utilizzando tecniche di "imaging" adeguate a verificare se siano presenti altri parametri che li possano classificare a elevato rischio (1). Si può anche osservare che un aumento del 10% è difficile da rilevare con un'accuratezza adeguata, considerati i complessi problemi analitici che affliggono la quantificazione della CM sierica (24, 30-32).

In generale, il documento IMWG afferma che l'inclusione di ulteriori biomarcatori tra i parametri caratterizzanti il MM, utili a identificare il sottogruppo di pazienti con SMM con un rischio di almeno l'80% di progressione verso il MM entro 2 anni, richiede che essi siano validati in più di due studi indipendenti (1).

COMMENTO FINALE

L'introduzione di nuovi criteri per la diagnosi del MM, basati su biomarcatori validati, consente di allineare il MM ad altre neoplasie sia ematologiche quali l'amiloidosi (33) che non (34, 35), nelle quali l'utilizzo dei biomarcatori ha permesso di rivoluzionare la gestione del paziente consentendo l'accesso ai trattamenti prima che si verifichi il danno d'organo (36). A suffragio di questo approccio per il MM è a disposizione una quantità di dati che non è più possibile ignorare (37, 38).

Ancora un volta il laboratorio clinico è chiamato a un ruolo di primo piano in questo scenario, se consideriamo che la misura di molti marcatori è di sua pertinenza. Va sottolineato a questo proposito come la prestazione del laboratorio per la determinazione di questi parametri debba essere necessariamente di elevata qualità se si considera che la classificazione dei pazienti, e di conseguenza la loro assegnazione o meno al trattamento, dipende dall'accuratezza della loro misura.

Queste considerazioni si applicano non solo ai nuovi parametri inseriti nei criteri aggiornati, quali la misura della creatinina, delle FLC e della CM, per i quali deve essere assicurata la migliore qualità (10-13, 21, 22, 30-32), ma anche ai parametri già inclusi nelle precedenti indicazioni e che non sono stati modificati, quali il dosaggio dell'emoglobina e la misura del calcio plasmatico. Per l'emoglobina è possibile riferirsi a indicazioni recenti (39, 40); per il calcio è necessario verificare che i calibratori commerciali siano riferibili al sistema di riferimento internazionale (41). Relativamente a quest'ultimo è opportuno considerare che i valori indicati come livelli decisionali si riferiscono alla calcemia totale; in presenza di un aumento delle proteine totali e di una diminuzione dell'albumina, evenienze frequenti nel MM, sarebbe forse preferibile utilizzare il dosaggio del calcio ionizzato o almeno correggere il valore della calcemia in base alle concentrazioni dell'albuminemia.

Infine, bisogna osservare che un'elevata qualità globale delle prestazioni viene assicurata solo se all'attenzione verso la qualità analitica e i suoi obiettivi si affianca una pari attenzione alla qualità delle fasi extra-analitiche (pre e post) (42). Su questi temi gli specialisti di laboratorio sono chiamati a confrontarsi con il fine ultimo di assicurare ai pazienti la migliore cura possibile.

RINGRAZIAMENTI

Le Autrici ringraziano i seguenti colleghi del Gruppo di Studio Proteine per il contributo fornito al miglioramento del documento: Alberto Dolci (Milano), Giampaolo Merlini (Pavia) e Michele Mussap (Genova).

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. Lancet Oncol 2014;15:e538-48.
2. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. Br J Haematol 2003;121:749-57.
3. Landgren O, Kyle RA, Pfeiff er RM, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. Blood 2009;113:5412–7.
4. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. N Engl J Med 2006;354:1362–9.
5. Vernocchi A, Gelsumini S, Piazza E. Prevalenza di gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS) in soggetti ambulatoriali di età >50 anni: una indicazione alla esecuzione dell'elettroforesi delle sieroproteine? Biochim Clin 2014;38:154-5.
6. Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV 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;24:1121–7.
7. Rajkumar SV, Merlini G, San Miguel JF. Haematological cancer: Redefining myeloma. Nat Rev Clin Oncol 2012; 9:494–6.
8. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. Leukemia 2009;23:3-9.
9. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. Kidney Int Supp 2013;3:1-150.
10. Graziani MS. Un aggiornamento delle linee guida internazionali per la valutazione e la gestione della malattia renale cronica. Biochim Clin 2014;38;32-8.
11. Infusino I, Panteghini M. Riferibilità metrologica e validità della determinazione della creatinina come indice di funzionalità renale. Biochim Clin 2007;31:13-8.
12. Ceriotti F. Determinazione della creatinina: per i laboratori è tempo di agire. Biochim Clin 2010;34:9.
13. Grillo C, Patrucco G. Creatinina e determinazione del filtrato glomerulare: una indagine regionale. Biochim Clin 2010;34:269-72.
14. Carobene A, Ceriotti F, Infusino I, et al. Valutazione dell'impatto del processo di standardizzazione sulla qualità della misura della creatininemia nei laboratori italiani. Biochim Clin 2012;36:414-24.
15. Fabbrini P, Sirtori S, Stella A. Utilizzo della determinazione delle catene leggere libere nel siero in ambito nefrologico. Biochim Clin 2013;37:352-6.
16. Leung N, Bridoux F, Hutchison CA, et al, and the International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group. Monoclonal gammopathy of renal significance: when MGUS is no undetermined or insignificant. Blood 2012;120:4292–5.
17. Hutchison CA, Batuman V, Behrens J, et al, and the International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group. The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. Nat Rev Nephrol 2012;8:43–51.
18. Larsen JT, Kumar SK, Dispenzieri A, et al. Serum free light chain ratio as a biomarker for high risk smoldering multiple myeloma. Leukemia 2013;27:941–6.
19. Kastritis E, Terpos E, Moulopoulos L, et al. Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk

for progression to symptomatic disease. Leukemia 2013; 27:947–53.
20. Waxman AJ, Mick R, Garfall AL, et al. Modeling the risk of progression in smoldering multiple myeloma. Proc Am Soc Clin Oncol 2014;32:A8607.
21. Hoedemakers RM, Pruijt JF, Hol S et al. Clinical comparison of new monoclonal antibody-based nephelometric assays for free light chain kappa and lambda to polyclonal antibody-based assays and immunofixation electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2012;50:489–95.
22. Tate J, Mollee P. Towards improved measurement of serum free light chains: clinical and laboratory issues. Biochim Clin 2013;37:395-404.
23. Caldini A, Graziani MS, Basile U, et al. per il Gruppo di Studio SIBioC Proteine. Il contributo della diagnostica proteica nella gestione delle gammopatie monoclonali. Biochim Clin 2014;38:47-53.
24. Vernocchi A, Dolci A per il Gruppo di Studio Proteine. Indicazioni per la quantificazione delle componenti monoclonali nel siero. Biochim Clin 2015;39:199-207.
25. Perez-Persona E, Mateo G, Garcia-Sanz R, et al. Risk of progression in smouldering myeloma and monoclonal gammopathies of unknown significance: comparative analysis of the evolution of monoclonal component and multiparameter flow cytometry of bone marrow plasma cells. Br J Haematol 2010;148:110–4.
26. Rajkumar SV, Gupta V, Fonseca R, et al. Impact of primary molecular cytogenetic abnormalities and risk of progression in smoldering multiple myeloma. Leukemia 2013;27:1738–44.
27. Neben K, Jauch A, Hielscher T, et al. Progression in smoldering myeloma is independently determined by the chromosomal abnormalities del(17p), t(4;14), gain 1q, hyperdiploidy, and tumor load. J Clin Oncol 2013;31:4325–32.
28. Rosinol L, Blade J, Esteve J, et al. Smoldering multiple myeloma: natural history and recognition of an evolving type. Br J Haematol 2003;123:631–6.
29. Mateos M-V, Hernandez M-T, Giraldo P, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. N Engl J Med 2013;369:438–47.
30. Dolci A, Vernocchi A per il Gruppo di Studio Proteine. Aspetti metodologici per la ricerca e la caratterizzazione delle componenti monoclonali nel siero. Biochim Clin 2012;36:84-9.
31. Mussap M, Pietrogrande F, Ponchia S, et al. Measurement of serum monoclonal components: comparison between densitometry and capillary zone electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2006;44:609-11.
32. Luraschi P, Infusino I, Merlotti C, et al. Analytical variation in the measurement of serum monoclonal component by capillary electrophoresis. Clin Chim Acta 2004;349:151-6.
33. Lavatelli F, Albertini R, Di Fonzo A, et al. Biochemical markers in early diagnosis and management of systemic amyloidoses. Clin Chem Lab Med 2014;52:1517–31.
34. Ferraro S, Ardoino I, Boracchi P, et al. Inside ST-elevation myocardial infarction by monitoring concentrations of cardiovascular risk biomarkers in blood. Clin Chim Acta 2012;413:888-93.
35. Álvarez-Fernández I, Prieto B, Rodríguez V, et al. New biomarkers in diagnosis of early onset preeclampsia and imminent delivery prognosis. Clin Chem Lab Med 2014;52:1159–68.
36. Plebani M. From symptoms to biomarkers: a change of paradigm. Clin Chem Lab Med 2014;52:1513-5.
37. Rajkumar SV, Merlini G, San Miguel JF. Haematological cancer: redefining myeloma. Nat Rev Clin Oncol 2012;9:494–6.
38. Dispenzieri A, Stewart AK, Chanan-Khan A, et al. Smoldering multiple myeloma requiring treatment: time for a new definition? Blood 2013;122:4172–81.
39. Buttarello M, Plebani M. Automated blood cell count. State of the art. Am J Clin Pathol 2008;130:104-16.
40. International Council for Standardisation in Haematology. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. Int J Lab Hematol 2014;36:613-27.
41. Infusino I, Braga F, Paleari R, et al. Il "Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine" (JCTLM): una cooperazione internazionale per promuovere la standardizzazione dei risultati in Medicina di Laboratorio. Biochim Clin 2011;35:377-81.
42. Graziani MS. 1st EFLM Strategic Conference 'Defining analytical performance goals 15 years after the Stockholm Conference on Quality Specifications in Laboratory Medicine. Biochim Clin 2015;39:78-9.