Sei casi di gammopatia monoclonale IgD

Gabriella Righetti, Maria Stella Graziani
Laboratorio Analisi, Ospedale Civile Maggiore, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

ABSTRACT

Six cases of IgD monoclonal components. The IgD monoclonal gammopathy is a rare event and its recognition and management are quite important because the condition is potentially life-threatening. This paper reports on six cases of IgD monoclonal components with emphasis on diagnostic procedures to be carried out in the protein laboratory in order to correctly identify this plasma cell disorder. The usual tests for monoclonal gammopathies are not fully adequate to accurately diagnose this gammopathy type and special procedures should be undertaken.

INTRODUZIONE

L'IgD ha un PM di 185.000 Da e un'emivita di 2,8 giorni; la sua concentrazione sierica è molto più bassa di quella delle tre classi immunoglobuliniche maggiori (A, G, M) e la sua funzione biologica, a più di 50 anni dalla scoperta, rimane ancora sconosciuta (1). Anche una recente rassegna ribadisce che, nonostante qualche ruolo delle IgD sia stato chiarito, questa classe immunoglobulinica rimane "un giocatore enigmatico nel sistema immunitario" (2).

La molecola di IgD possiede, tra i frammenti Fab e Fc, una regione "hinge" molto lunga che rende la molecola particolarmente suscettibile alla degradazione proteolitica. Questa è molto probabilmente la causa dell'aspetto che le IgD monoclonali presentano alla elettroforesi proteica: una banda molto diffusa e difficile da individuare all'interno del "background" policlonale, tanto che se la concentrazione della proteina è bassa, il suo riconoscimento è particolarmente difficile (1). Gli intervalli di riferimento della concentrazione ematica riportati in letteratura sono quanto mai variabili, con medie che oscillano tra i 20 e i 50 mg/L e limite superiore di riferimento compreso tra 80 e 240 mg/L (1).

Metodi di misura delle IgD

Le IgD, come le altre proteine plasmatiche, possono essere misurate con tecniche immunometriche, quali la immunodiffusione radiale (ormai quasi completamente abbandonata) o la nefelometria, come pure con altre tecniche a maggiore sensibilità, come i saggi immunoenzimatici e radioimmunologici, che sono peraltro riservati a scopi di ricerca. Come in tutti i saggi immunometrici, l'accuratezza della misura dipende dalla disponibilità di materiali di riferimento adeguati; tuttavia, mentre è disponibile un materiale certificato per le tre classi immunoglobuliniche maggiori (A, G, M) (3), non è invece ancora disponibile un materiale per le IgD.

Un problema differente è relativo alla misura delle IgD monoclonali per le quali, come per tutte le altre immunoglobuline monoclonali, la quantificazione immunometrica è sconsigliata a causa del mancato parallelismo tra proteina nel campione (monoclonale) e proteina nel calibratore (policlonale) (4, 5).

Aumenti policlonali delle IgD

Concentrazioni plasmatiche elevate di IgD sono state segnalate nelle più diverse situazioni cliniche, dalle infezioni, alle malattie autoimmuni e allergiche, alle immunodeficienze e ai linfomi (1). Tuttavia, non esiste in pratica una motivazione per una richiesta di misura delle IgD policlonali, eccettuata la sindrome da iperIgD (HIDS), una rara affezione descritta per la prima volta nel 1984 (6). Questa sindrome è caratterizzata da attacchi febbrili ricorrenti accompagnati da dolori addominali e artralgie diffuse. Una recente revisione delle evidenze ha tuttavia accertato la scarsa rilevanza clinica della misura delle IgD plasmatiche per la diagnosi di HIDS, che si fonda oggi prevalentemente sul riscontro del deficit (genetico e metabolico) di mevalonato chinasi (7, 8).

IgD monoclonali

Come tutte le altre immunoglobuline, le IgD possono derivare un unico clone plasmacellulare in espansione (1). Come già detto, la banda elettroforetica monoclonale dovuta a IgD può essere di difficile visualizzazione; solitamente migra in zona β o β-γ e si presenta come una banda poco netta che tende a confondersi con il "background" policlonale. Per la conferma della presenza di una qualsiasi componente monoclonale (CM) riscontrata al tracciato elettroforetico, il metodo di scelta è

Corrispondenza a: Maria Stella Graziani, Laboratorio Analisi, Ospedale Civile Maggiore, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Piazzale Stefani 1, 37126 Verona. Tel. 0458122155, Fax 0458122970, E-mail mariastella.graziani@ospedaleuniverona.it

Ricevuto: 10.06.2011 Revisionato: 10.07.2011 Accettato: 15.07.2011

la tipizzazione immunologica tramite immunosottrazione (ISE) o immunofissazione (IFE) (4, 5, 9); nel caso ci si trovi davanti a una IgD, considerato che la tipizzazione standard viene eseguita utilizzando antisieri contro le tre classi più comuni (A, G, M) e contro le catene leggere (kappa e lambda), si può incorrere nell'errore di classificare la proteina monoclonale come "catene leggere libere". E' quindi necessario, qualora ISE o IFE siano positive solo con uno degli antisieri anti-catene leggere e non con gli antisieri anti-catene pesanti γ, α e μ, ripetere l'IFE con gli antisieri anti-δ e anti-ε o, qualora questi antisieri non fossero disponibili, inviare il campione in una struttura dove venga eseguita la diagnostica completa. L'utilizzo anche degli antisieri anti-ε è necessario perché si potrebbe trattare di una CM IgE, ancora più rara delle CM IgD.

Nel caso di IgD monoclonali, come in tutti gli altri casi di gammopatia monoclonale, la misura della concentrazione sierica della Ig monoclonale va eseguita rapportando la percentuale del picco monoclonale elettroforetico alla concentrazione delle proteine totali (4, 5, 9). Qualora il picco monoclonale fosse scarsamente visibile o mal identificabile nel tracciato elettroforetico (come sovente succede, nel caso delle IgD monoclonali che si presentano come bande diffuse e frequentemente sovrapposte alle altre proteine migranti in zona β), in analogia a quanto è consigliato per le IgA che pure migrano in zona β (10), il monitoraggio potrebbe essere eseguito con la misura nefelometrica. Non esistono raccomandazioni circa l'utilizzo della misura delle catene leggere libere nelle gammopatie IgD (11).

Il mieloma IgD

Il mieloma multiplo è caratterizzato da una proliferazione maligna di plasmacellule secernenti una proteina monoclonale, che si ritrova nel siero e/o nelle urine; tali immunoglobuline possono essere costituite da una immunoglobulina intatta con catene pesanti di qualsiasi delle cinque classi o da frammenti di queste. Il mieloma IgD rappresenta meno del 2% di tutti i mielomi ed è quindi una evenienza piuttosto rara (12). Dal punto di vista clinico, si presenta con caratteristiche più aggressive rispetto agli altri tipi di mieloma; in particolare, i problemi renali e l'amiloidosi sono più frequentemente presenti. Il mieloma IgD sembra colpire pazienti in più giovane età e presenta una sopravvivenza più breve (13-15).

La causa della rarità del mieloma IgD è tutt'ora materia di dibattito; l'opinione prevalente è che, mentre le plasmacellule mielomatose sono usualmente cellule B, già entrate in contatto con l'antigene, e quindi o cellule della memoria o plasmoblasti, le cellule mielomatose IgD sono invece cellule precedenti la stimolazione antigenica e quindi più immature e meno numerose (15). La rarità di CM IgD kappa è stata spiegata con un blocco della secrezione di questa molecola, che sarebbe degradata intracellularmente (15).

Anche dal punto di vista laboratoristico, il mieloma IgD presenta alcune peculiarità già riportate nel paragrafo precedente sulle IgD monoclonali. Un'ulteriore particolarità del mieloma IgD è l'associazione (che supera il 90% dei casi in alcune casistiche) con la proteinuria di Bence Jones, che è quasi esclusivamente di tipo lambda (16).

CASI CLINICI

Vengono qui presentati alcuni casi clinici, occorsi alla nostra attenzione nel corso degli anni, a nostro parere esemplificativi delle diverse situazioni nelle quali si può presentare una gammopatia monoclonale IgD. La presentazione dei casi ha un particolare riguardo alla diagnostica di laboratorio. Le indagini sono state tutte eseguite presso il Laboratorio Analisi dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Integrata di Verona. L'elettroforesi delle proteine sieriche e l'ISE sono state eseguite con tecnica capillare (fino alla prima metà del 2009 con lo strumento Paragon CZE 2000 Beckman-Coulter e dopo quella data con lo strumento Capillarys 2 Sebia). L'IFE per la tipizzazione delle CM e per la ricerca della proteina di Bence Jones è stata eseguita su gel di agarosio con lo strumento Hydrasys Sebia.

Caso 1

Si trattava di un paziente ambulatoriale, maschio di 41 anni, con motivazione della richiesta (settembre 2009) del medico di medicina generale, che riportava profonda astenia e bozze frontali. Oltre ai consueti esami di base di chimica clinica e di ematologia, era richiesta una elettroforesi delle sieroproteine, la determinazione delle immunoglobuline, della β_2-microglobulina e la ricerca della proteina di Bence Jones nelle urine.

Gli esami ematochimici non mostravano alterazioni significative: in particolare la creatininemia era 61 μmol/L (intervallo di riferimento, 40-90 μmol/L) e l'emoglobina ematica 150 g/L (intervallo di riferimento, 130-180 g/L). Il tracciato elettroforetico presentava un'alterazione della forma della zona β_2 (Figura 1A), che induceva a eseguire una tipizzazione immunologica dapprima mediante ISE, che identificava l'anomalia come catene leggere libere lambda, e in seguito con IFE con antisieri anti-δ (Figura 1B), che consentiva di identificare la CM come IgD lambda. La positività per catene leggere libere lambda era verificata alla IFE su urine per la ricerca della proteina di Bence Jones (Figura 1C). La misura delle immunoglobuline A, G, M nel siero rilevava concentrazioni diminuite di tutte e tre le classi (IgA, 0,54 g/L; IgG, 6,32 g/L, IgM, 0,72 g/L), mentre il rapporto catene leggere libere kappa/lambda era nettamente a favore delle catene lambda [0,02 (intervallo di riferimento, 0,30-1,20)], deponendo per una presenza in circolo di catene leggere libere lambda.

Il paziente era subito ricoverato nel reparto di Ematologia, dove mediante biopsia ossea veniva posta la diagnosi di mieloma plasmoblastico. Dopo chemioterapia, il paziente era sottoposto a due trapianti autologhi e a un trapianto allogenico. A otto mesi dal trapianto allogenico (ottobre 2010), il paziente era in condizioni fisiche discrete. Il tracciato elettroforetico mostrava la quasi completa normalizzazione della zona

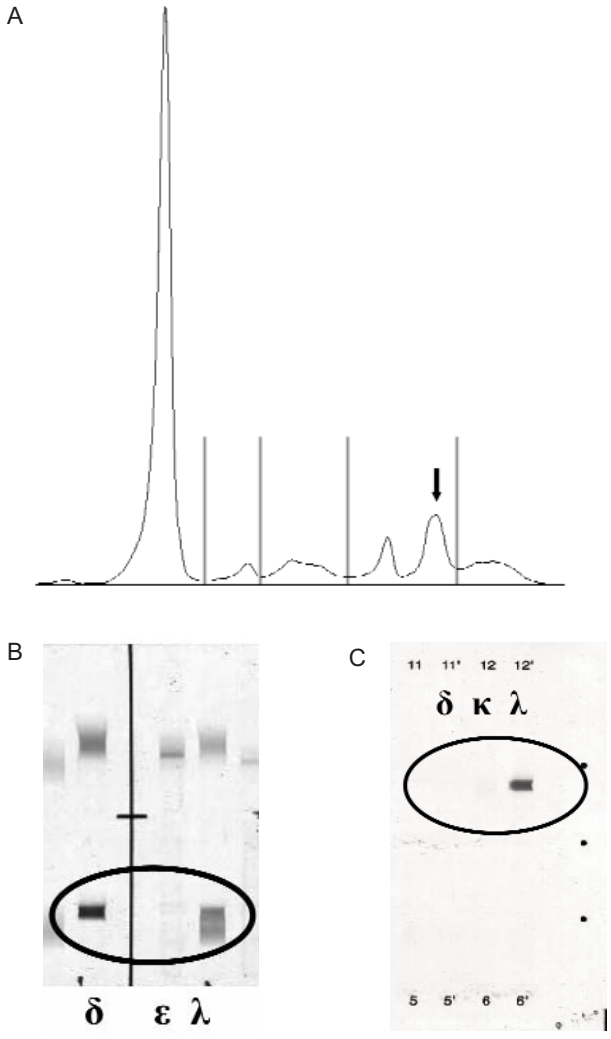


Figura 1
Caso 1 (settembre 2009): A) tracciato elettroforetico delle sieroproteine; la freccia indica la sospetta componente monoclonale; B) siero, tipizzazione mediante immunofissazione (IFE): componente monoclonale IgD lambda; C) urine, tipizzazione mediante IFE: presenza di catene leggere libere monoclonali di tipo lambda.

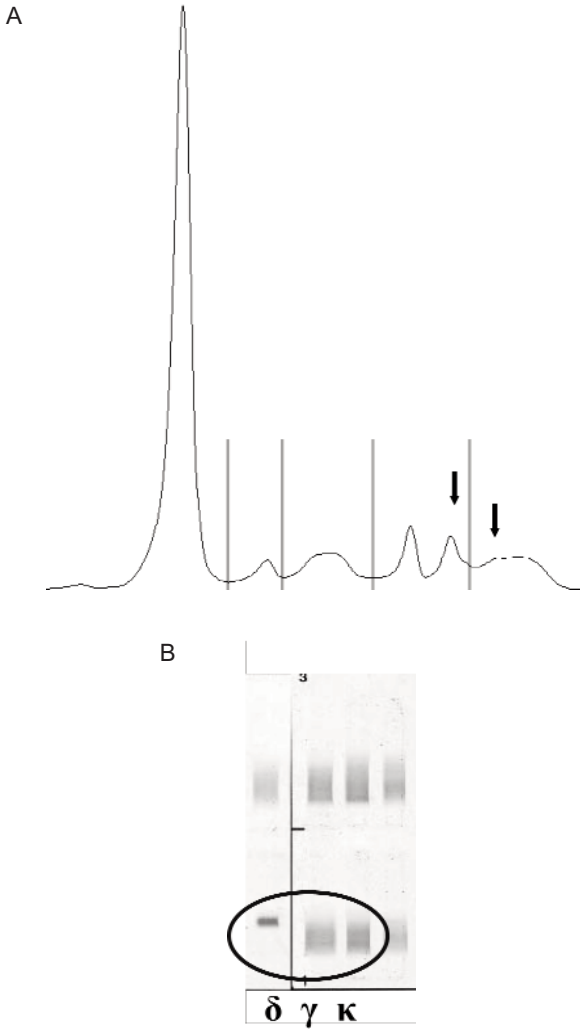


Figura 2
Caso 1 (ottobre 2010): A) tracciato elettroforetico delle sieroproteine; le frecce indicano il picco della componente monoclonale (CM) in zona β e la nuova CM in zona γ; B) tipizzazione mediante immunofissazione: CM IgD lambda e IgG kappa.

β, mentre era evidente una piccola CM in zona γ (Figura 2A); l'IFE evidenziava il persistere della IgD monoclonale in zona β e identificava come IgG kappa la lieve CM in zona γ (Figura 2B). Il rapporto delle catene leggere libere non era calcolabile per l'impossibilità di misurare le catene leggere kappa, testimoniando il persistere del clone plasmacellulare monoclonale.

Commento

Questo caso presenta le caratteristiche tipiche del mieloma IgD, sia biochimiche (banda diffusa e sovrapposta alla banda della frazione 3 del complemento, soppressione delle classi immunoglobuliniche non coinvolte, presenza di proteinuria di Bence Jones), che cliniche (malattia aggressiva, paziente in giovane età). Il caso evidenzia l'importanza dell'esperienza del laboratorista nella valutazione dei tracciati elettroforetici proteici: le CM che si sovrappongono alle frazioni fisiologiche possono manifestarsi solo con un'alterazione della morfologia della banda stessa, che può essere riconosciuta solo in base all'esperienza.

Caso 2

Si trattava di un paziente maschio di 54 anni, ricoverato nel reparto di Nefrologia per insufficienza renale. L'elettroforesi delle sieroproteine presentava solamente una lieve alterazione della zona γ (Figura 3); il percorso diagnostico descritto per il caso precedente (prima ISE, poi IFE) permetteva la sua identificazione come IgD lambda. Il paziente presentava anche una proteinuria glomerulare selettiva (proteine totali, 0,69 g/L) e la ricerca della proteinuria di Bence Jones rivelava la presenza in tracce di catene leggere lambda libere monoclonali.

Dopo un ricovero presso il reparto di Ematologia, dove

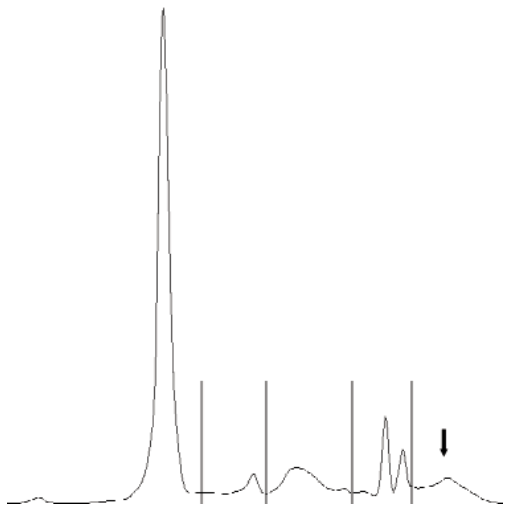


Figura 3
Caso 2: tracciato elettroforetico delle sieroproteine; la freccia indica la sospetta componente monoclonale.

era posta diagnosi di amiloidosi AL, il paziente veniva affidato al Centro per l'Amiloidosi di Pavia, dove era sottoposto a cicli di chemioterapia. A cinque anni dalla diagnosi, il paziente si trova in discrete condizioni di salute.

Commento

Questo caso evidenzia come le piccole CM sia sieriche che urinarie non possano essere considerate trascurabili solamente in base alla loro bassa concentrazione, ma vadano segnalate e tipizzate per poter essere correttamente inquadrate nel contesto clinico.

Caso 3

Si trattava di un paziente maschio di 69 anni, ricoverato in Geriatria nel 2004 per accertamenti. Tra gli esami di base, che rivelavano iperglicemia e concentrazioni fisiologiche di creatininemia, era anche eseguita un'elettroforesi delle sieroproteine, che evidenziava una piccola CM non quantificabile in zona γ (Figura 4A), che in seguito al percorso diagnostico usuale era identificata come IgD lambda. La ricerca della proteinuria di Bence Jones rilevava la presenza di catene leggere libere monoclonali lambda in quantità molto lieve.

Nei successivi 4 anni, il paziente era seguito presso il Centro Antidiabetico senza più eseguire un'elettroforesi delle sieroproteine. Era quindi nuovamente ricoverato in Geriatria per insufficienza renale (creatininemia, 225 μmol/L) e anemizzazione; l'elettroforesi rivelava una CM di 3 g/L (Figura 4B) e una proteinuria di Bence Jones <100 mg/L. Il paziente decedeva dopo 20 giorni dal ricovero per insufficienza renale.

Commento

Questo interessante caso illustra l'evoluzione di una piccola CM IgD in assenza di alcun segno di danno d'organo fino alla espansione clonale con insufficienza renale e anemia. Anche per questo caso vale il commento al caso precedente: le piccole CM non devono mai essere trascurate.

Caso 4

Si trattava di un donatore di sangue, maschio di 53 anni. All'interno dei controlli medici annuali per i donatori (2005), l'elettroforesi sieroproteica presentava una piccola CM in zona γ, tipizzata come IgD lambda secondo il percorso già descritto in precedenza (Figura 5). Era anche presente proteinuria di Bence Jones in quantità lieve; gli altri parametri ematochimici erano tutti inalterati. Il paziente eseguiva una biopsia midollare, che rilevava la presenza di un 15% di plasmacellule mature. Il soggetto è unicamente da 5 anni a monitoraggio periodico senza che si sia osservato nessun cambiamento delle caratteristiche del tracciato elettroforetico o alterazioni dei parametri ematochimici.

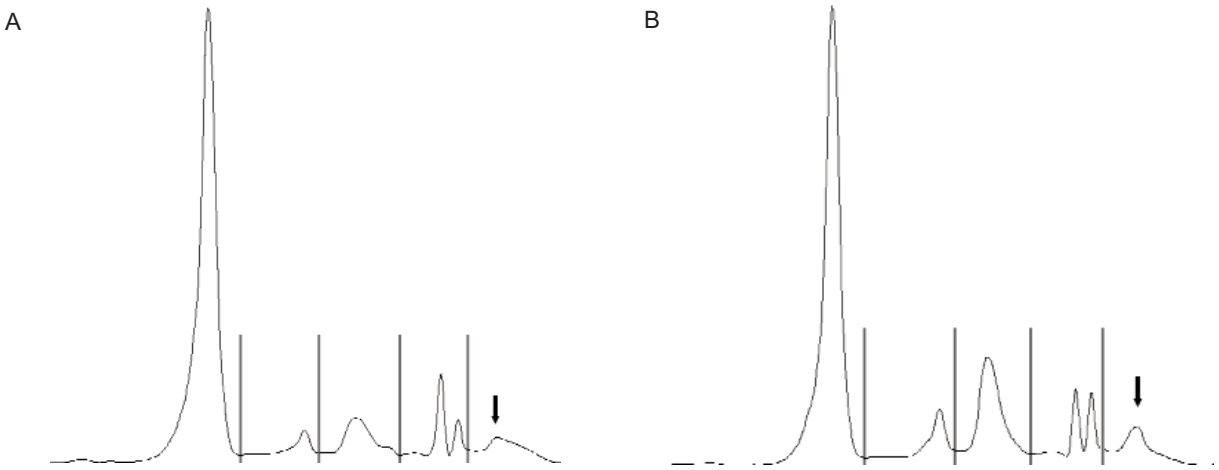


Figura 4
Caso 3: A) tracciato elettroforetico delle sieroproteine eseguito nel corso del primo accertamento diagnostico; la freccia indica la sospetta componente monoclonale; B) tracciato eseguito dopo circa 4 anni; la freccia indica la componente monoclonale significativamente aumentata.

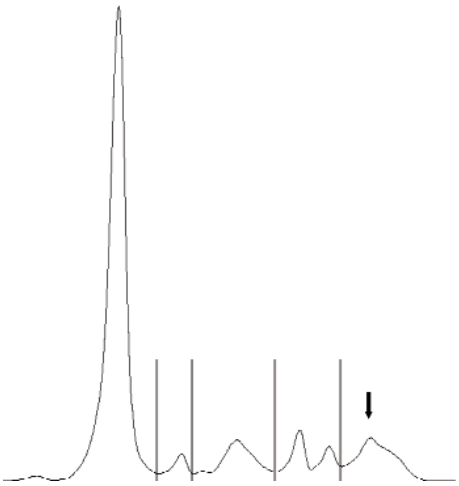


Figura 5
Caso 4: tracciato elettroforetico delle sieroproteine; la freccia indica la sospetta componente monoclonale.

Commento

La presenza di una CM IgD lambda accompagnata da proteinuria di Bence Jones, seppure in quantità molto lieve, in associazione all'assenza di segni di danno d'organo e alla presenza di una percentuale del 15% di plasmacellule mature, identifica il caso come un mieloma "smoldering". I mielomi "smoldering" IgD sono alquanto rari: solitamente, le CM IgD sono infatti associate a mieloma multiplo. La letteratura sull'argomento non riporta, a nostra conoscenza, casi di mieloma "smoldering" IgD (17, 18).

Caso n 5

Si trattava di un paziente ambulatoriale maschio di 48 anni. Nella Figura 6A è presentato il tracciato elettroforetico delle sieroproteine. L'ISE identificava la CM come catene leggere libere kappa e l'IFE consentiva di tipizzarla come CM IgD kappa (Figura 6B). Era presente proteinuria di Bence Jones (catene leggere libere monoclonali kappa). Non è stato possibile ottenere notizie cliniche di questo paziente in quanto residente in altra provincia.

Commento

Sebbene le IgD monoclonali kappa siano rare, questo caso dimostra la necessità di intraprendere il percorso diagnostico già illustrato (sottoporre a indagine con antisieri anti-δ e anti-ε i campioni con positività alle sole catene leggere) anche nel caso la tipizzazione ISE iniziale identifichi la CM come catene leggere libere kappa e non solo quando la positività è osservata per le catene lambda.

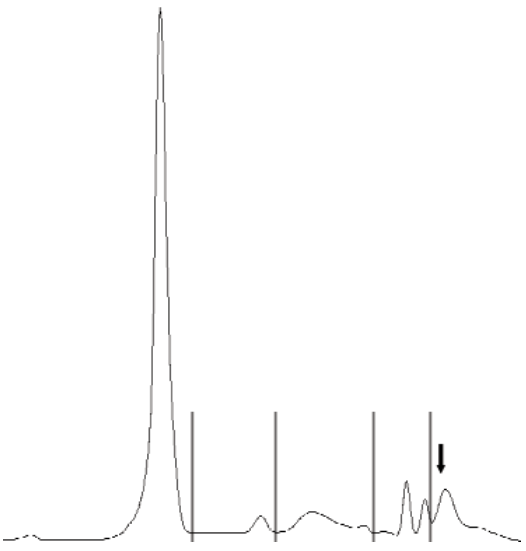
Caso 6

Si trattava di una paziente femmina di 83 anni, con ampulloma trattato con protesi bilio-pancreatica, ricoverata nel 2008 in Gastroenterologia per colangite in rapida evoluzione. La paziente era gravemente compromessa con cardiopatia sclerotico-ipertensiva e broncopneumopatia ostruttiva. Nella Figura 7 è presentato il tracciato dell'elettroforesi sieroproteica; il consueto percorso diagnostico identificava la sospetta CM come IgD kappa. La consulenza ematologica non dava seguito a ulteriori accertamenti a causa dello stato generale della paziente, che peraltro a due anni di distanza si mantiene stabile, pur nella gravità della condizione. Anche la concentrazione della CM si mantiene invariata.

Commento

Questo rappresenta un secondo caso di IgD kappa, ma con caratteristiche elettroforetiche leggermente

A



B

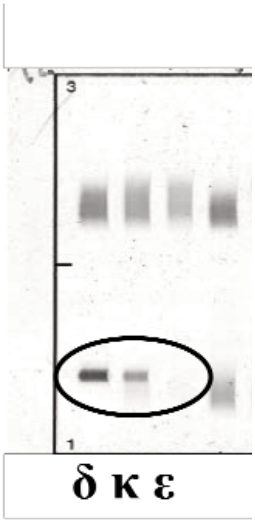


Figura 6
Caso 5: A) tracciato elettroforetico delle sieroproteine; la freccia indica la componente monoclonale (CM); B) tipizzazione mediante immunofissazione: CM IgD kappa.

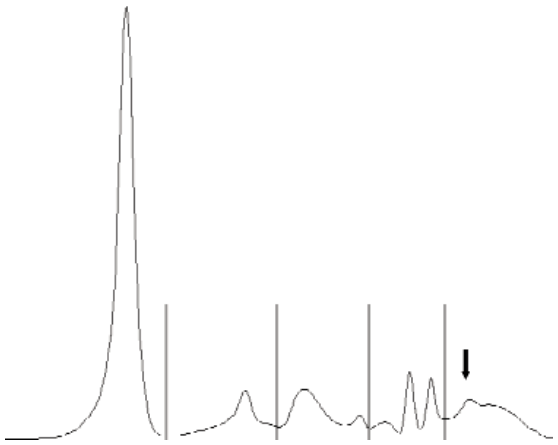


Figura 7
Caso 6: tracciato elettroforetico delle sieroproteine; la freccia indica la sospetta componente monoclonale.

diverse dal precedente: piccola CM evidenziata in zona γ.

CONCLUSIONI

La gammopatia monoclonale IgD, sebbene rara, è una situazione con la quale il laboratorio che si occupa di diagnostica proteica delle malattie ematologiche si deve prima o poi confrontare. Questa evenienza richiede una gestione che esula dall'usuale approccio diagnostico, come descritto nella presentazione dei casi clinici. E' opportuno quindi che il laboratorista sia consapevole di questa possibilità e che operi in conseguenza o affrontando il problema diagnostico direttamente o anche semplicemente riconoscendolo e organizzando il riferimento del paziente o l'invio del campione biologico ad altri laboratori più attrezzati. In entrambi i casi, la professionalità e l'esperienza del laboratorista sono fondamentali per la gestione del paziente con queste problematiche.

BIBLIOGRAFIA

1. Vladutiu AO. Immunoglobulin D: properties, measurement and clinical relevance. Clin Diagn Lab Immunol 2000;7:131-40.
2. Chen K, Cerutti A. New insight into the enigma of immunoglobulin D. Immunol Rev 2010;237:160-79.
3. Zegers I, Keller T, Schreiber W, et al. Characterization of the new serum protein reference material ERM-DA470k/IFCC: value assignment by immunoassay. Clin Chem 2010;56:1880-8.
4. Kyle RA. Sequence of testing for monoclonal gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999;123:114-8.
5. Keren DF. Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins Arch Pathol Lab Med 1999;123:126-32.
6. van der Meer JW, Vossen JM, Radl J, et al. Hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever: a new syndrome. Lancet 1984;8286:1087-90.
7. Korppi M, Van Gijn ME, Antila K. Hyperimmunoglobulinemia IgD and periodic fever syndrome in children. Review on therapy with biological drugs and case report. Acta Paediatr 2011;100:21-5.
8. Ammouri W, Cuisset L, Rouaghe S, et al. Diagnostic value of serum immunoglobulinaemia D level in patients with a clinical suspicion of hyper IgD syndrome. Rheumathology 2007;46:1597-600.
9. Graziani MS, Dolci A, Greco C, et al. Indicazioni per la richiesta di elettroforesi proteica. Biochim Clin 2008;32:48-51.
10. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al. on behalf of the International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia 2006;20:1467-73.
11. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G. et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. Leukemia 2009;23:215-24.
12. Basile U, Gulli F, Cigliana G, et al. Determinazione del CD138 solubile nel siero di pazienti affetti da mieloma multiplo IgD. Biochim Clin 2011;35:56-61.
13. Bladè J, Lust JA, Kyle RA. Immunoglobulin D multiple myeloma: presenting features, response to therapy and survival in a series of 53 cases. J Clin Oncol 1994;12:2398-404.
14. Bladè J, Kyle RA. Non-secretory myeloma, immunoglobulin D myeloma, and plasma cell leukemia. Hematol Oncol Clin North Am 1999;13:1259-72.
15. Sinclair D. IgD myeloma: clinical, biological and laboratory features. Clin Lab 2002;48:617-22.
16. Harle L, Chan C, Bhagavan NV, et al. A healthy young man presenting with multiple rib fractures. Clin Chem 2010;56:1390-3.
17. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. Curr Hematol Malig Rep 2010;5:62-9.
18. 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.