Perché è importante identificare e segnalare le piccole componenti monoclonali

Giampaolo Merlini
Laboratori di Biotecnologie, Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Pavia

ABSTRACT

Small monoclonal immunoglobulins should not be neglected. The detection of a monoclonal immunoglobulin in serum or urine usually raises concerns about the size of the underlying B-cell-derived clone and possible systemic effects caused by its expansion. However, a small clone can synthesize a very toxic protein, producing systemic damage and protean clinical presentations. The monoclonal protein can aggregate and deposit systemically as occurs in light-chain amyloidosis, monoclonal immunoglobulin deposition disease, and monoclonal cryoglobulinemia. The clone synthesizing noxious monoclonal proteins is often small and sensitive techniques may be required to detect these immunoglobulins. A delay in diagnosis can cause irreversible organ damage and dramatically shorten survival. Prompt recognition of suggestive signs and symptoms should trigger a thorough diagnostic approach to reach the correct diagnosis quickly, as this is the key to effective therapy.

INTRODUZIONE

Il riscontro di una immunoglobulina monoclonale (CM) nel siero o nelle urine è uno degli eventi più frequenti nel laboratorio clinico e identifica i soggetti con gammopatia monoclonale. La prevalenza nella popolazione generale delle gammopatie monoclonali è del 3,2% dopo i 50 anni e raggiunge il 6,6% dopo gli 80 anni (1). E' presente nel 7-8% negli individui dopo i 55 anni che si rivolgono al medico curante per qualsivoglia problema di salute (2). All'esordio, la stragrande maggioranza delle CM non si associa ad alcuna manifestazione clinica e definisce la cosiddetta gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS). Tuttavia, questa condizione può evolvere verso una forma maligna, nella maggior parte dei casi il mieloma multiplo, con un'incidenza per anno che dipende strettamente dalla concentrazione della CM (1). CM IgGκ di modeste concentrazioni (<15 g/L) e non associate ad anomalie del rapporto delle concentrazioni delle catene leggere libere nel siero hanno un rischio di evoluzione assai basso ("low-risk" MGUS) e possono essere monitorate a intervalli di 2-3 anni (3). Questa evidenza di scarsa "pericolosità" delle CM a bassa concentrazione ha spesso indotto sia i clinici che i laboratoristi a considerare la loro segnalazione superflua. In questo contributo si è invece voluto sottolineare l'importanza di segnalare sempre al clinico la presenza di una CM e la necessità di utilizzare tecnologie integrate per la loro scrupolosa ricerca in presenza di un fondato sospetto clinico.

CONDIZIONI CLINICHE ASSOCIATE A PICCOLE COMPONENTI MONOCLONALI

La Figura 1 riporta le condizioni che si possono associare a una CM. Al centro della figura sono le condizioni a maggiore frequenza, dalla MGUS al mieloma "smoldering" fino al mieloma clinicamente

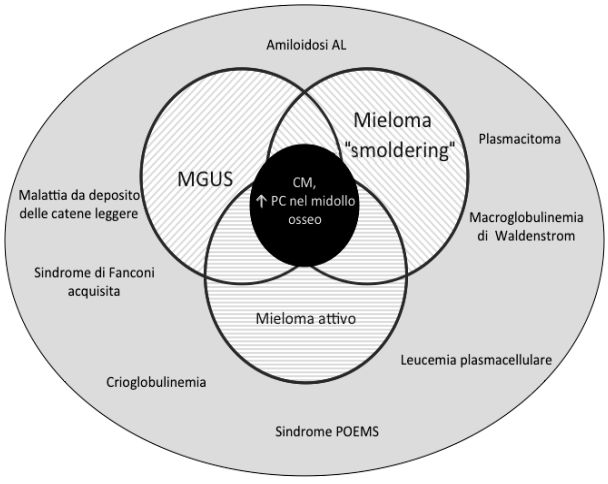


Figura 1
Condizioni cliniche che si associano alla presenza di una immunoglobulina monoclonale (CM) nel siero e/o nelle urine e a un'aumentata percentuale di plasmacellule (PC) nel midollo osseo. MGUS, gammopatia monoclonale di incerto significato; POEMS, polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia; CM, manifestazioni cutanee.

Corrispondenza a: Giampaolo Merlini, Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Laboratori Sperimentali di Ricerca di Biotecnologie e Servizio di Analisi Chimico Cliniche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Pavia. Tel. 0382502995, Fax 0382502990, E-mail gmerlini@unipv.it

Ricevuto: 04.12.2011 Revisionato: 17.12.2011 Accettato: 19.12.2011

manifesto. Alla periferia sono riportate condizioni meno frequenti, di solito caratterizzate da un clone plasmacellulare midollare di modeste dimensioni, ma con espressione clinica importante e a volte severa, come nel caso della amiloidosi da catene leggere libere monoclonali (amiloidosi AL). Queste condizioni sono state discusse in dettaglio qualche anno fa in una specifica rassegna (4). Qui saranno brevemente illustrate alcune condizioni prototipiche.

Crioglobulinemia

Le crioglobuline sono immunoglobuline che precipitano o gelificano, di solito reversibilmente, a temperature inferiori a 37 °C. La classificazione proposta da Brouet et al. (5) ormai 40 anni fa, nonostante le molte modifiche e integrazioni proposte (6), rimane ancora clinicamente valida (7). Questa classificazione prevede tre tipi di crioglobuline: I con crioprecipitato composto esclusivamente da una singola immunoglobulina monoclonale; II con precipitato composto da un fattore reumatoide monoclonale, di solito IgMκ, che lega immunoglobuline IgG policlonali, e III caratterizzato da fattore reumatoide IgM policlonale che lega immunoglobuline IgG policlonali. Il tipo II è il più comune e si associa nella maggior parte dei casi a una infezione da virus dell'epatite C, mentre il tipo III di solito si associa a malattie autoimmuni (7). Il tipo I è relativamente raro, di solito formato da IgG (IgG1 o IgG3), e occasionalmente da IgM o IgA, la cui solubilità è concentrazione dipendente. Si associa frequentemente a mieloma multiplo o alla macroglobulinemia di Waldenström.

Le manifestazioni cliniche dipendono dalla ostruzione dei capillari causata dalla precipitazione delle crioglobuline. Forme rare di depositi organizzati di immunoglobuline monoclonali correlati alle crioglobuline di tipo I includono la cristalcrioglobulinemia e la così detta glomerulonefrite con depositi organizzati microtubulari formati da immunoglobuline monoclonali (GOMMID). Queste condizioni si associano a varie patologie immunoproliferative B cellulari, incluse la leucemia linfatica cronica e il mieloma multiplo. Oltre al coinvolgimento renale, i pazienti con cristalcrioglobulinemia possono presentare vasculopatia sistemica e diffusa artropatia erosiva che può simulare l'artrite reumatoide. La concentrazione della CM può essere modesta in queste condizioni e richiede particolare attenzione nel monitoraggio della malattia (Figura 2).

Malattia da deposito di catene leggere (LCDD)

Le immunoglobuline monoclonali possono depositarsi nei tessuti in forma amorfa, come catene leggere, catene pesanti o catene leggere-pesanti. Gli aspetti immunopatologici, i meccanismi molecolari e l'evoluzione clinica di queste condizioni sono riportati in alcune recenti revisioni della letteratura (8-11). La LCDD è la forma più comune di questo gruppo ed è causata nella maggior parte dei pazienti da catene leggere libere κ. I depositi sono amorfi ed elettrondensi e si distribuiscono caratteristicamente lungo le membrane basali dei nefroni, causando proteinuria e insufficienza renale progressiva. Il coinvolgimento sintomatico di altri organi (cuore, fegato e sistema nervoso periferico) è poco frequente (10-20%).

Dal punto di vista laboratoristico queste condizioni sono particolarmente impegnative perché spesso la

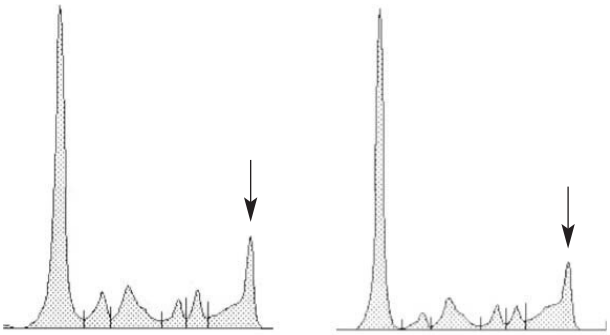


Figura 2
Tracciati elettroforetici sieroproteici di un paziente con cristalcrioglobulinemia, eseguiti prima (sinistra) e dopo (destra) la procedura di plasmaferesi. La concentrazione della componente monoclonale (segnalata dalla freccia) si è ridotta da 12 g/L a 8 g/L, con rapida risoluzione della sintomatologia dolorosa e delle manifestazioni vasculitiche.

Tabella 1
Frequenza e concentrazione delle catene leggere monoclonali κ non visibili alla immunofissazione in pazienti con amiloidosi AL e con malattia da deposito di catene leggere (LCDD). Dati del Centro per l'Amiloidosi di Pavia

Variabile	Amiloidosi AL	LCDD
Numero pazienti	482	9
Età, anni	62 (23-91)[a]	51 (30-61)[a]
Pazienti con depositi formati da catene leggere κ (%)	111 (23%)	8 (89%)
Concentrazione catene leggere κ libere nel siero, mg/L	450 (23-4430)[a]	292 (21-3940)[a]
Concentrazione creatinina nel siero, mg/L	1,1 (0,3-10,3)[a]	1,9 (0,7-9,9)[a]
Pazienti con immunofissazione (siero e urina) negativa, elevata concentrazione di catene leggere κ libere nel siero e con rapporto κ/λ patologico	11	4

[a] *mediana (intervallo).*

catena leggera monoclonale κ forma aggregati di varie dimensioni che si distribuiscono uniformemente nella regione γ-globulinica dell'elettroforesi sieroproteica, senza la formazione di una CM rilevabile con l'immunofissazione anche ad alta risoluzione (Tabella 1). In questi casi, la conferma diagnostica viene fornita, oltre che dalla biopsia renale, dalla misura nefelometrica delle catene leggere κ e dalla presenza nel midollo osseo di un clone plasmacellulare monoclonale.

Amiloidosi da catene leggere libere monoclonali (amiloidosi AL)

Questa condizione è causata da catene leggere monoclonali con anomalie del "folding", che favoriscono la loro aggregazione in strutture fibrillari ordinate in foglietti β che si depositano nei tessuti di numerosi organi vitali (cuore, 74%; rene, 65%; fegato, 17%; tratto gastrointestinale, 8%; tessuti molli, 14%; sistema nervoso periferico, 19%; sistema nervoso autonomo, 16%) causando un danno funzionale progressivo (12, 13). Il clone plasmacellulare midollare è solitamente di piccole dimensioni (mediana della percentuale di plasmacellule midollari: 10%) e nel 48% dei pazienti la CM è formata da catene leggere libere monoclonali, di solito non quantificabili nel tracciato elettroforetico delle sieroproteine mediante densitometria (Figura 3). Delle CM formate da immunoglobuline complete, solo il 62% è quantificabile al densitometro, con una concentrazione mediana di ~11 g/L (Tabella 2). Queste "piccole" CM causano un danno sistemico devastante che, in assenza di terapia, causa la morte del paziente in circa 12 mesi, quasi sempre per cardiopatia. Inoltre, essendo la malattia causata dal danno progressivo originato dalle catene leggere amiloidogeniche, la diagnosi precoce è di vitale importanza per poter instaurare terapie efficaci prima che il danno d'organo, soprattutto cardiaco, sia irreversibile. Pertanto, in presenza di sospetto clinico fondato di amiloidosi AL, il laboratorista deve mettere in atto tutti gli strumenti analitici in grado di identificare la CM.

Numerosi studi hanno dimostrato che la massima sensibilità diagnostica (99-100%) si ottiene combinando obbligatoriamente la immunofissazione del siero e delle urine alla misura delle catene leggere libere nel siero (14, 15). Katzmann et al. hanno confermato la necessità di eseguire la immunofissazione del siero e delle urine, in associazione alla misura delle catene leggere libere nel siero, per identificare la proteina monoclonale nei pazienti con amiloidosi AL e con LCDD (Tabella 3) (16, 17).

Altre condizioni clinicamente rilevanti associate a piccole componenti monoclonali

Una CM, di solito IgAλ, di piccole dimensioni, che spesso richiede l'immunofissazione del siero per la sua identificazione, può associarsi ad una sindrome complessa definita dall'acronimo POEMS ("polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M-protein, skin changes")

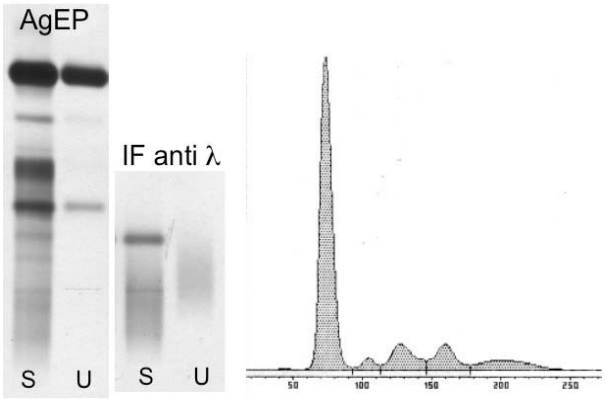


Figura 3
Quadro proteico di un paziente con amiloidosi AL. L'elettroforesi delle proteine (AgEP) del siero (S) su gel di agarosio dimostra solo una modesta ipogammaglobulinemia. Il corrispondente tracciato densitometrico (destra) evidenzia solo una modesta ipogammaglobulinemia in assenza di alcun picco monoclonale. L'elettroforesi delle proteine urinarie (U) evidenzia una proteinuria glomerulare (proteinuria, 4,5 g/L). All'immunofissazione (IF) del siero (S) è presente una banda monoclonale formata da catene leggere libere λ, probabilmente polimerizzate, che pertanto non sono filtrate dal glomerulo renale, per cui l'immunofissazione urinaria (U) non evidenzia alcuna banda monoclonale.

Tabella 2
Caratteristiche delle componenti monoclonali (CM) in una popolazione di 816 pazienti con amiloidosi AL. Dati presentati dall'autore al Congresso dell' "American Society of Hematology" del 2010.

CM complete quantificabili in densitometria	61,6%
Concentrazione CM, g/L	10,8 (5,0-25,5)[a]
Immunofissazione (siero e urine) positiva	94,2%
Tipo di catena pesante:	
γ	38,8%
α	10,0%
μ	3,0%
δ	0,6%
Solo catene leggere	47,6%
Tipo di catena leggera:	
κ	24,6%
λ	75,4%
Rapporto κ/λ alterato	84,8%
Concentrazione iFLC, mg/L	178 (90-477)[a]
Concentrazione dFLC, mg/L	157 (70-460)[a]
Plasmacellule midollari, %	10 (5-16)[a]

iFLC, catene leggere amiloidogeniche; dFLC, differenza fra la concentrazione delle catene leggere amiloidogeniche e la concentrazione delle catene leggere non amiloidogeniche. Ad esempio, in un paziente con amiloidosi AL causata da catene leggere λ, se la concentrazione delle catene leggere λ (iFLC) è 100 mg/L e la concentrazione delle catene leggere κ è 20 mg/L, la dFLC sarà di 80 mg/L.
[a] *mediana (25°-75° percentile).*

Tabella 3
Pannello di esami biochimici per lo screening delle gammopatie monoclonali. Modificato da Katzmann et al.(16)

Condizione	Quadro elettroforetico sieroproteico	Catene leggere libere nel siero	Immunofissazione siero	Immunofissazione urine
Mieloma multiplo	Sì	Sì	-	-
Malattia di Waldenström	Sì	Sì	-	-
Mieloma "smoldering"	Sì	Sì	-	-
MGUS	Sì	Sì	-	-
Plasmacitoma	Sì	Sì	Sì	-
Sindrome POEMS	Sì	Sì	Sì	-
Amilodosi AL	Sì	Sì	Sì	Sì
LCDD	Sì	Sì	Sì	Sì

MGUS, gammopatia monoclonale di incerto significato; POEMS, polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, CM, manifestazioni cutanee; LCDD, malattia da deposito di catene leggere.

(18, 19). Questa sindrome non è di facile diagnosi ed è spesso l'identificazione della CM a indirizzare il clinico verso la diagnosi corretta. La disponibilità di trattamenti efficaci in grado di prevenire la progressione della neuropatia verso forme invalidanti rende ancora più importante l'aspetto diagnostico.

Una CM, più frequentemente IgM, più causare manifestazioni cliniche, anche gravi, attraverso la sua attività anticorpale nei confronti di antigeni eritrocitari (anemie emolitiche) e del tessuto nervoso periferico (polineuropatie) (4, 20). Queste condizioni sono solitamente complesse, con una diagnostica differenziale assai impegnativa, e anche in questo caso l'identificazione della CM può orientare il clinico verso una rapida diagnosi e la pronta istituzione della terapia.

CONCLUSIONI

Questo breve contributo evidenzia come CM anche "piccole" possono causare malattie gravi. Nei soggetti nei quali vi è un fondato sospetto clinico di una patologia correlata a una CM, il laboratorista è chiamato a utilizzare un approccio più ampio possibile, che includa l'immunofissazione di buona qualità, eseguita sul siero e sulle urine, assieme alla quantificazione delle catene leggere libere nel siero. Come recentemente riportato in un editoriale, "we cannot afford to miss a single patient" (21).

BIBLIOGRAFIA

1. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. N Engl J Med 2006;354:1362-9.
2. Aguzzi F, Bergami MR, Gasparro C, et al. Occurrence of monoclonal components in general practice: clinical implications. Eur J Haematol 1992;48:192-5.
3. 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.
4. Merlini G, Stone MJ. Dangerous small B-cell clones. Blood 2006;108:2520-30.
5. Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, et al. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases. Am J Med 1974;57:775-88.
6. Musset L, Diemert MC, Taibi F, et al. Characterization of cryoglobulins by immunoblotting. Clin Chem 1992;38:798-802.
7. Passerini G, Basile U. Ricerca, quantificazione e caratterizzazione delle crioglobuline: indicazioni per un protocollo condiviso. Biochim Clin 2010;34:218-22.
8. Gertz MA. Managing light chain deposition disease. Leuk Lymphoma 2011 Dec 5 [Epub ahead of print]
9. Masai R, Wakui H, Togashi M, et al. Clinicopathological features and prognosis in immunoglobulin light and heavy chain deposition disease. Clin Nephrol 2009;71:9-20.
10. Keeling J, Herrera GA. An in vitro model of light chain deposition disease. Kidney Int 2009;75:634-45.
11. Ronco P, Plaisier E, Mougenot B, et al. Immunoglobulin light (heavy)-chain deposition disease: From molecular medicine to pathophysiology-driven therapy. Clin J Am Soc Nephrol 2006;1:1342-50.
12. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. N Engl J Med 2003;349:583-96.
13. Merlini G, Seldin DC, Gertz MA. Amyloidosis: pathogenesis and new therapeutic options. J Clin Oncol 2011;29:1924-33.
14. Palladini G, Russo P, Bosoni T, et al. Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine. Clin Chem 2009;55:499-504.
15. Bochtler T, Hegenbart U, Heiss C, et al. Evaluation of the serum-free light chain test in untreated patients with al amyloidosis. Haematologica 2008;93:459-62.
16. Katzmann JA, Kyle RA, Benson J, et al. Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. Clin Chem 2009;55:1517-22.
17. Albertini R, Merlini G. La misura delle catene leggere libere delle immunoglobuline nel siero: aspetti analitici e clinici. Biochim Clin 2010;34:26-9.
18. Dispenzieri A. POEMS syndrome: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. Am J Hematol 2011;86:591-601.
19. Dispenzieri A. Ushering in a new era for POEMS. Blood 2011;117:6405-6.
20. Stone MJ, Merlini G, Pascual V. Autoantibody activity in Waldenstrom's macroglobulinemia. Clin Lymphoma 2005;5:225-9.
21. Merlini G. Serum-free light chain analysis: works in progress. Clin Chem Lab Med 2009;47:1021-2.