

Nell'amiloidosi da catene leggere immunoglobuliniche monoclonali la riduzione delle catene leggere libere circolanti si associa a diminuzione della concentrazione sierica del pro-peptide natriuretico di tipo B*

Francesca Lavatelli¹, Giovanni Palladini¹, Tiziana Bosoni², Gianvico Melzi d'Eril³, Remigio Moratti², Giampaolo Merlini¹

Centro per lo Studio delle Amiloidosi Sistemiche, ¹Laboratorio di Biotecnologie - Dipartimento di Biochimica, ²Laboratorio di Chimica Clinica, IRCCS Policlinico San Matteo e Università di Pavia, 27100 Pavia, e ³Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche, Università dell'Insubria, 21100 Varese

ABSTRACT

In monoclonal immunoglobulin light-chain amyloidosis, the reduction of circulating free light-chains is associated with a decrease in serum concentration of pro-natriuretic peptide type B

AL amyloidosis is caused by tissue deposition of fibrils derived from monoclonal immunoglobulin light-chains. Heart involvement is the main prognostic determinant and its severity can be evaluated by the quantitation of N-terminal pro-natriuretic peptide type B. The measurement of the circulating free light-chains makes it possible to estimate the concentration of the amyloidogenic precursor. The modifications of the concentration of these two markers measured before and after therapy were significantly correlated ($p < 0.02$). Reducing the synthesis of the amyloidogenic light-chain promptly translates into an improvement of myocardial dysfunction and increases survival, despite the amount of amyloid deposited (i.e. echo-pattern) remains unaltered.

RIASSUNTO

L'amiloidosi AL è causata dalla deposizione nei tessuti di fibrille derivate da catene leggere libere monoclonali. Il coinvolgimento cardiaco è il principale fattore prognostico e la sua severità può essere valutata attraverso la misurazione del frammento N-terminale del pro-peptide natriuretico di tipo B. La determinazione delle catene leggere libere circolanti permette di stimare la concentrazione del precursore amiloidogenico. La misurazione di questi due marcatori prima e dopo la chemioterapia in 21 pazienti con AL ha mostrato una significativa correlazione tra le loro modificazioni ($p < 0.02$). La riduzione della sintesi della catena leggera amiloidogenica e della sua concentrazione sierica si traduce prontamente in un miglioramento della funzione cardiaca, nonostante la quantità di sostanza amiloide depositata (valutata ecocardiograficamente) rimanga inalterata.

INTRODUZIONE

L'amiloidosi AL è causata dall'aggregazione di catene leggere immunoglobuliniche monoclonali in fibrille insolubili con conseguente danno dei tessuti, disfunzione d'organo e con esito fatale (1). L'interessamento del cuore è comune e porta ad una grave alterazione della funzione di tale organo. Il coinvolgimento miocardico rappresenta il principale fattore prognostico nell'amiloidosi AL e costituisce la causa di morte nella maggioranza dei pazienti (2, 3).

Per valutare la compromissione cardiaca nell'AL, oltre all'ecocardiografia, sono stati recentemente proposti marcatori biochimici, quali la troponina sierica T ed il frammento N-terminale del pro-peptide natriuretico di tipo B (NT-proBNP) (4, 5). L'NT-proBNP è un indicatore sensibile di cardiomiopatia in corso di amiloidosi, il principale determinante prognostico ed uno strumento utile per monitorare la risposta alla terapia (4). Recentemente, un indice pro-

gnostico basato sulla concentrazione delle troponine I e T nel siero e su quella dell'NT-proBNP è stato proposto per i pazienti con amiloidosi AL trattati con trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche (6).

Le terapie attualmente disponibili per questa forma di amiloidosi hanno lo scopo di ridurre la concentrazione sierica della catena leggera amiloidogenica colpendo il clone plasmacellulare responsabile della sintesi. La disponibilità di un test quantitativo per le catene leggere libere (FLC) nel siero e nelle urine rende possibile misurare la concentrazione del precursore e le sue modificazioni in seguito alla chemioterapia (7, 8).

Il meccanismo molecolare alla base del danno d'organo nell'amiloidosi AL non è ancora stato definito, nonostante alcune osservazioni sperimentali indichino che gli oligomeri di catene leggere circolanti possano essere in gran parte responsabili della tossicità da amiloidosi (9, 10).

Sulla base di queste evidenze, abbiamo analizzato la

*Lavoro premiato al Congresso SIBioC 2004, Padova. Accettato nel 2005.

relazione tra funzionalità cardiaca, valutata per mezzo della concentrazione sierica dell'NT-proBNP, e la risposta ematologica alla chemioterapia, valutata per mezzo della concentrazione delle catene leggere libere, in pazienti con amiloidosi AL.

PAZIENTI E METODI

La concentrazione sierica di NT-proBNP e quella di FLC sono state determinate al momento dell'arruolamento nello studio ed alla valutazione della risposta al trattamento in 21 pazienti consecutivi con amiloidosi AL riferiti al Centro per lo Studio delle Amiloidosi Sistemiche di Pavia.

Tutti i pazienti presentavano una malattia clinicamente evidente, con depositi di sostanza amiloide dimostrati biopicamente ed in tutti era presente una discrasia plasmacellulare. In tutti è stato accertato un coinvolgimento cardiaco sintomatico in base a criteri clinici ed ecocardiografici (4). Lo spessore del setto interventricolare all'ecocardiografia è stato utilizzato come una stima dell'entità dei depositi di amiloide nel cuore. I pazienti con insufficienza renale (creatinina sierica >12 mg/L) sono stati esclusi dalla studio, in considerazione dell'alterazione del metabolismo dell'NT-proBNP.

La concentrazione delle FLC circolanti è stata misurata usando un *latex-enhanced immunoassay* (The Binding Site, Birmingham, UK) su analizzatore nefelometrico Behring BN II (Dade Behring, Deerfield, IL, USA). L'intervallo di riferimento per le catene leggere libere kappa e per le catene leggere libere lambda è, rispettivamente, 3.3-19.4 mg/L e 5.7-26.3 mg/L, con un rapporto kappa/lambda medio di 0.59 (95%, IC 0.3-1.2).

La concentrazione sierica di NT-proBNP è stata determinata in elettrochemiluminescenza con un sandwich immunoassay (ECLIA, Roche, Basel, Switzerland) su Elecsys System 2010. I limiti superiori dell'intervallo di riferimento variano in base all'età ed al sesso e sono 10.4 pmol/L negli uomini < 50 anni, 18 pmol/L nelle donne <50 anni, 26.4 pmol/L in uomini ≥ 50 anni e 39.8 pmol/L in donne ≥ 50 anni. La precisione nelle serie è stata calcolata pari al 3.5% a 23.9 pmol/L (22 campioni) e al 2.6% a 1318 pmol/L (22 campioni), la precisione fra le serie è 3.9% a 25 pmol/L (22 campioni) e 3.1% a 1403.3 pmol/L (22 campioni).

I pazienti sono stati trattati con chemioterapia. La risposta al trattamento è definita come una riduzione della concentrazione delle catene leggere libere circolanti pari ad almeno il 50% di quella iniziale.

RISULTATI

Ventuno pazienti sono stati arruolati nello studio. Dodici erano di sesso maschile, con un'età mediana di 59 anni (range 28-75 anni). In tutti i pazienti è stata individuata una componente monoclonale nel siero mediante elettroforesi ad alta risoluzione su gel di agarosio ed immunofissazione (17λ, 4 κ). La concentrazione mediana nel siero di NT-proBNP nell'intero gruppo di pazienti era 302 pmol/L

(range: 40-3762 pmol/L).

In 11 pazienti (52%) abbiamo osservato una riduzione maggiore del 50% delle FLC circolanti ed in 9 casi (43%) la concentrazione di FLC ed il rapporto kappa/lambda si sono normalizzati, con la scomparsa della componente monoclonale all'immunofissazione (remissione completa) in 7 casi (33%).

La risposta al trattamento è stata accompagnata da una riduzione della concentrazione sierica di NT-proBNP in tutti i pazienti (mediana: 70%, range: 30-95%), senza un'evidente riduzione degli spessori di parete all'ecocardiografia. In tre pazienti su 11 il valore di NT-proBNP si è normalizzato. In 6 pazienti su 11 lo scompenso cardiaco si è risolto.

La correlazione tra le variazioni nella concentrazione di FLC e di NT-proBNP era significativa ($p < 0.02$, test di Spearman, figura 1).

DISCUSSIONE

La diminuzione delle catene leggere libere circolanti indotta dal trattamento è stata accompagnata da una riduzione simultanea della concentrazione dell'NT-proBNP sierico in tutti i pazienti e dalla risoluzione dello scompenso cardiaco nella maggioranza di essi, senza una concomitante riduzione dello spessore delle pareti cardiache all'ecocardiografia.

Questi risultati indicano che la riduzione della concentrazione delle catene leggere amiloidogeniche circolanti si traduce immediatamente in un miglioramento della funzione miocardica, nonostante la quantità della sostanza amiloide già depositata (lo spessore del setto interventricolare) rimanga inalterata. Le catene leggere amiloidogeniche circolanti, quindi, sembrano esercitare un effetto tossico diretto sui cardiomiociti. Questi risultati evidenziano l'importanza di ottenere una rapida diminuzione della concentrazione del precursore amiloidogenico circolante nei pazienti con amiloidosi AL.

BIBLIOGRAFIA

1. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med*. 2003;349:583-596.
2. Dubrey SW, Cha K, Andersen J, Chamarthi B, et al. The clinical features of immunoglobulin light-chain (AL) amyloidosis with heart involvement. *Q J Med* 1998;91:141-157.
3. Kyle RA, Gertz MA. Primary systemic amyloidosis: clinical and laboratory features in 474 cases. *Semin Hematol*. 1995;8:45-59.
4. Dispenzieri A, Kyle RA, Gertz MA, Therneau TM, et al. Survival in patients with primary systemic amyloidosis and raised serum cardiac troponins. *Lancet*. 2003;361:1787-1789.
5. Palladini G, Campana C, Klersy C, Balduini A, et al. Serum N-terminal pro Brain Natriuretic Peptide is a sensitive marker of myocardial dysfunction in AL amyloidosis. *Circulation* 2003;107:2440-2445.
6. Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, Lacy MQ, et al. Prognostication of survival using cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell tran-

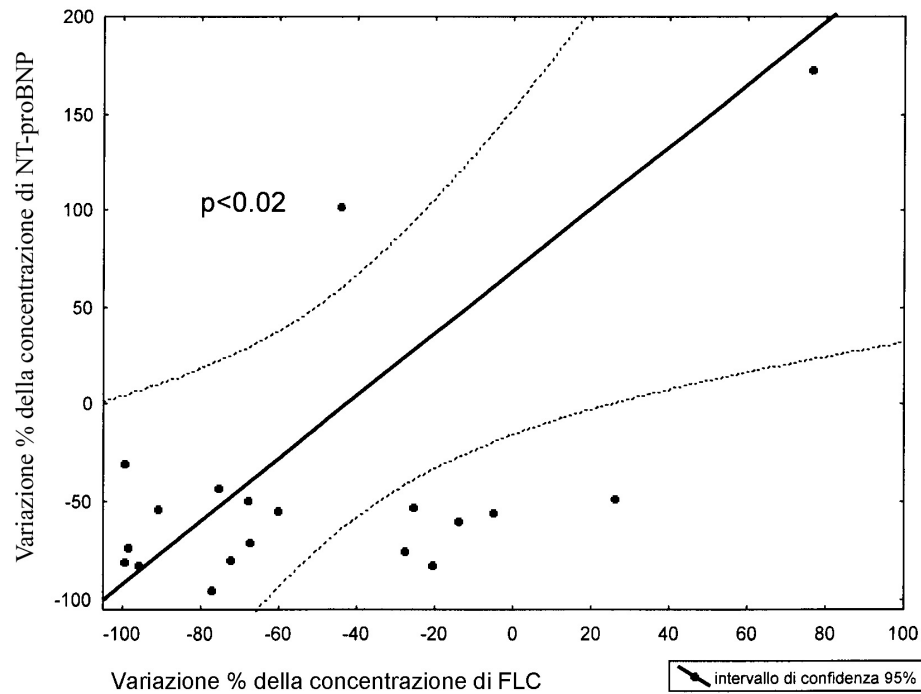


Figura 1

Correlazione tra le variazioni di concentrazione sierica di NT-proBNP e di FLC, prima e dopo la chemioterapia, in 21 pazienti con amiloidosi AL

- splantation. *Blood* 2004;104:1881-1887.
7. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001;47:673-680.
 8. Lachmann HJ, Gallimore R, Gillmore JD, Carr-Smith HD, et al. Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy. *Br J Haematol*. 2003;122:78-84.
 9. Liao R, Jain M, Teller P, Connors LH, et al. Infusion of light chains from patients with cardiac amyloidosis causes diastolic dysfunction in isolated mouse hearts. *Circulation* 2001;104:1594-1597.
 10. Brenner DA, Jain M, Pimentel DR, Wang B, et al. Human amyloidogenic light chains directly impair cardiomyocyte function through an increase in cellular oxidant stress. *Circ Res*. 2004;94:1008-1010.