

Il ruolo della medicina di laboratorio nella gestione delle gammopatie monoclonali

A cura di Giovanni Cigliana

Con il termine gammopatie monoclonali (GM) vengono comprese un gruppo eterogeneo di situazioni di significato biologico/clinico che hanno in comune una proliferazione clonale di plasmacellule o di linfociti B secernenti immunoglobuline monoclonali intere o loro frammenti (catene leggere, catene pesanti) che vengono evidenziate come componenti monoclonali (CM) nel siero e/o nelle urine di questi pazienti. Rilevare, caratterizzare e misurare la CM è di fondamentale importanza nel guidare la diagnosi iniziale, stratificare il rischio di una eventuale progressione e nel monitorare la risposta alla terapia (1).

Il riscontro di una CM non è un evento raro. Gli studi epidemiologici forniscono stime diverse in quanto la prevalenza della condizione è fortemente dipendente dall'età dei soggetti considerati (più elevata nell'età anziana), dalla tipologia di popolazione esaminata (generale o ospedalizzata), nonché dalla sensibilità per il rilevamento delle CM delle tecniche elettroforetiche utilizzate per l'indagine (2-3).

Metodologie di laboratorio

Il sostanziale contributo del laboratorio nei diversi contesti clinici presuppone una specifica competenza volta ad una attenta ricerca, tipizzazione e misurazione delle CM anche più piccole (4-5) e alla costante collaborazione tra clinico e laboratorista per una appropriata gestione di questi pazienti. Per approfondire gli specifici argomenti di seguito trattati si rimanda ai documenti elaborati dal Gruppo Proteine della SIBioC (6-7-8).

L'elettroforesi delle sieroproteine (S-EF) è la tecnica che consente di rilevare l'omogeneità chimico-fisica della proteina secreta dal clone plasmacellulare ed è quindi, al momento, l'esame di elezione per la rilevazione delle CM sieriche e per la loro quantificazione. La S-EF viene eseguita sia a scopo di screening per la ricerca di una eventuale CM, sia per il monitoraggio del paziente con CM. La spettrometria di massa (9) sta emergendo come esame alternativo che potrebbe consentire di superare le diverse problematiche che affliggono la S-EF.

La caratterizzazione immunologica delle CM viene effettuata con **immunofissazione su gel di agarosio (S-IF)** o con immunosottrazione con tecnica capillare (S-IS) ed è necessaria per la conferma della natura immunoglobulinica della CM evidenziata al tracciato elettroforetico e per identificare l'isotipo della catena pesante e la classe della catena leggera della immunoglobulina secreta dal clone (8). La S-IF consente inoltre di evidenziare CM non rilevabili al tracciato elettroforetico o perché presenti in scarsa quantità (cloni oligosecernenti o secernenti IgD o IgE o catene leggere) o perché nascoste da altre proteine presenti fisiologicamente e migranti nella stessa zona elettroforetica (7-8).

La ricerca della proteina di Bence Jones (PBJ) nelle urine viene eseguita in primo luogo qualitativamente con una **immunofissazione urinaria (U-IF)** che consente di evidenziare la caratteristica di monoclonalità della catena leggera identificata. La quantificazione della PBJ dei campioni risultati positivi alla ricerca qualitativa, viene successivamente eseguita su un campione temporizzato tramite determinazione indiretta con scansione densitometrica del picco evidenziato misurato in rapporto alle proteine totali urinarie, oppure tramite determinazione diretta con saggi nefelometrici/turbidimetrici delle catene leggere libere. In entrambi i casi le metodiche utilizzate mostrano una serie di problemi tecnici ad oggi non interamente risolti (10-11).

La quantificazione nefelometrica/turbidimetrica delle catene leggere libere nel siero kappa (κ) e lambda (λ) (**serum Free Light Chain, sFLC**), sviluppata nei primi anni 2000 (12-13) ha segnato un rilevantissimo avanzamento nella diagnostica e nel monitoraggio laboratoristico dei pazienti con GM. Uno sbilanciamento quantitativo delle concentrazioni delle catene leggere libere kappa e lambda (rappresentato dal rapporto κ/λ , rFLC) viene ritenuto (sia pure con alcune riserve e cautele) una prova indiretta di clonalità. Questo esame fa oramai indiscutibilmente parte del pannello iniziale della valutazione di un paziente con CM (provata o sospetta) ed è in grado di rivelare e misurare una CM a catene leggere in quasi tutti i pazienti con malattia non secernente od oligosecernente e con amiloidosi AL (14). La misura delle sFLC può sostituire in alcuni casi la determinazione della PBJ (15); tuttavia nella amiloidosi AL ed in altre situazioni caratterizzate da CM esigue o comunque elusive, la misura delle sFLC deve comunque essere associata ad S-IF ed U-IF per garantire la massima sensibilità diagnostica (16).

Il laboratorio è poi presente nella gestione del paziente con CM con altri esami al di fuori dalla diagnostica proteica, con determinazioni mirate alla verifica di un eventuale danno d'organo causato dal clone plasmacellulare. Tra queste rientrano la misurazione della **creatinina sierica**, della stima della **velocità di filtrazione glomerulare (eGFR)**, delle **proteine totali urinarie** e della **albumina urinaria** relative al danno renale, la determinazione della **emoglobina** per la rilevazione della anemia, la misura del calcio sierico per la valutazione del versante osseo del mieloma multiplo e la misura del **frammento aminoterminale del pro-peptide natriuretico di tipo B (NT-proBNP)** e delle **troponine cardiache** per la messa in evidenza e il monitoraggio del danno cardiaco nella amiloidosi AL (17).

Inoltre, in alcuni Laboratori di centri specializzati il contributo della Medicina di Laboratorio viene ulteriormente approfondito con gli esami specialistici ad indirizzo Oncoematologico di **Citogenetica, Citofluorimetria, Diagnostica Molecolare, Proteomica**.

Bibliografia

1. Adami F, Berno T, Riva M, Lessi F, Graziani M. Gammopatie monoclonali; quadri clinici principali e ruolo del Laboratorio. *Biochim Clin* 2019; on-line: 15.10.2019 DOI: 10.19186/BC_2019.070
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, Rajkumar SV. Epidemiology of the plasma-cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol* 2007;20:637-64
4. Merlini G, Stone MJ. Dangerous small B clones. *Blood* 2006;108:2520-30.
5. Merlini G. Perché è importante identificare e segnalare le piccole componenti monoclonali. *Biochim Clin* 2012;36:25-8.
6. Graziani MS, Dolci A, Greco C, et al. per il Gruppo di Studio Proteine di SIBioC. Indicazioni per la richiesta di elettroforesi proteica. *Biochim Clin* 2008;32:48-51.
7. Dolci A, Vernocchi A per il Gruppo di Studio Proteine di SIBioC. Aspetti metodologici nella ricerca e caratterizzazione delle componenti monoclonali nel siero. *Biochim Clin* 2012;36:84-9.
8. Caldini A, Graziani M, Basile U, et al. Il contributo della diagnostica proteica nella gestione delle gammopatie monoclonali. *Biochim Clin* 2014;38:47-53.
9. Milani P, Murray DL, Barnidge DR, et al. The utility of MASS-FIX to detect and monitor monoclonal proteins in the clinic. *Am J Hematol* 2017;92:772-9.
10. Graziani MS, Merlini GP, Petrini C for the IFCC Committee on Plasma Proteins and the SIBioC Study Group on Proteins. Guidelines for the analysis of Bence Jones Protein. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:338-46.
11. Dimopoulos M, Kyle R, Fermand JP, et al. Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. *Blood* 2011;117:4701-5.
12. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001;47:673-80.
13. 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.
14. Kumar S, Dispenzieri A, Katzmann JA, et al. Serum immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value and correlations with clinical features. *Blood* 2010;116:5126-9.
15. Caldini A, Graziani M. La determinazione delle catene leggere libere nel siero può sostituire la ricerca e quantificazione della proteinuria di Bence Jones nella pratica clinica? *Biochim Clin* 2013;37:405-18.
16. 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.

17. Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J ClinOncol* 2012;30:4541-9.