

Linee guida per la diagnosi ed il monitoraggio delle gammopatie monoclonali

R. M. Dorizzi¹, G. Marchi²

¹*Fellow della National Academy of Clinical Biochemistry, Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, Azienda Ospedaliera di Verona,*
²*Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, Ospedale di Legnago (VR)*

Il Diagnostic Immunology Resource Committee del College of American Pathologists ha sviluppato le linee guida per la diagnosi ed il monitoraggio delle gammopatie monoclonali. Tale argomento per importanza clinica (Tabella I) ed impatto economico è stato ritenuto da un Comitato composto da Russel H Tomar, Rebecca Johnson, David Keren, Henry Homburger, James Goeken e Thomas Fleisher e da Società come l'American Society of Hematology, l'American College of Rheumatology, il Clinical Center of the National Institutes of Health e la Clinical Immunology Society meritevole di una Consensus Conference che affrontasse tutti gli aspetti e da cui emergessero delle Raccomandazioni finali.

Il Panel era costituito da autorità quali Keren, Goeken, Alexanian, Kyle, John Bernard Henry del Board of Governors del CAP e Gregorio Chejfec, associate Director degli Archives of Pathology & Laboratory Medicine; le linee guida sono state pubblicate sul fascicolo del febbraio 1999 di questo giornale.

Il Diagnostic Immunology Resource Committee si è impegnato a seguire nel tempo l'impatto che queste linee guida avranno attraverso periodici sondaggi presso gli utilizzatori delle raccomandazioni ed a curarne l'aggiornamento periodico (1).

Nomenclatura

Le immunoglobuline monoclonali devono essere chiamate proteine M, termine che non ha nessuna implicazione dal punto di vista strutturale (tranne la natura omogenea) e non implica che il paziente abbia una condizione patologica.

Il termine proteina del mieloma è corretto quando si

riferisce a pazienti affetti da mieloma multiplo che sono la grande minoranza dei soggetti che presentano una proteina M.

Il termine gammopatia monoclonale implica che il paziente presenta una condizione patologica in qualche modo correlata con la proteina M, ma non è corretto se la condizione del paziente non è conosciuta o non è correlata alla proteina M.

Componente monoclonale: alternativa al termine proteina M; tuttavia, poiché la natura della componente è proteica, è preferito il termine più specifico. Paraproteina: Non raccomandato in quanto implica una anomalia strutturale.

La proteina M rilevata da una scansione densitometrica o elettroferografica è denominata picco M.

La valutazione dei pazienti in cui viene identificata una proteina M pone particolari problemi in quanto richiede:

- una attenta valutazione clinica per individuare i pazienti che probabilmente hanno una discrasia delle plasmacellule;
- il rispetto di una sequenza logica nell'esecuzione degli esami;
- l'uso dei migliori metodi analitici a disposizione.

Laboratorio e clinici devono collaborare per ricercare la presenza di gammopatie monoclonali nel modo clinicamente più adeguato ed economicamente più conveniente.

Il lavoro del Panel si è svolto attraverso numerose teleconferenze ed è stato sintetizzato in 4 articoli e delle linee guida finali (2-3):

- un articolo di Alexanian et al si concentra sulla clinica dei soggetti che presentano una proteina M (4);
- un articolo di Kyle descrive la sequenza degli accertamenti da usare per identificare e monitorare nel tempo la proteina M (5);
- un articolo di Keren et al si concentra sugli aspetti analitici (6);
- un articolo di Kallemuchikkal e Gorevic indica quando e come ricercare le crioglobuline (7).

Corrispondenza a: R. M. Dorizzi
 Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche,
 Azienda Ospedaliera di Verona
 Piazzale A. Stefani 1, 37126 Verona
 tel. 045 8073248 – e-mail: dorizzi@easynet.it

Le linee guida sono molto sintetiche e si riducono a 8:

1- Lo studio elettroforetico sierico ed urinario è indicato per tutti i pazienti in cui è sospettata una discrasia delle plasmacellule. E' necessaria l'osservazione diretta del gel e la proteina M deve essere quantificata densitometricamente.

2- La proteina anomala deve essere definita mediante immunofissazione. L'immunofissazione può essere utile anche in caso di elettroforesi negativa in presenza di un sospetto clinico mentre non è indicata nel caso di una gammapatia policlonale evidente all'elettroforesi.

3- La proteina M deve essere monitorata mediante quantificazione densitometrica a meno che una bassa concentrazione di proteina M sia oscurata da altre proteine (in questo caso è da preferire la quantificazione mediante nefelometria). L'immunofissazione non deve essere ripetuta a meno che si registri una variazione nella migrazione elettroforetica, si presentino altri spike o sia necessario confermare una remissione completa.

4- La misurazione diretta delle immunoglobuline con tecnica nefelometrica è indicata per la diagnosi in tutti i pazienti con discrasia plasmacellulare per definire la concentrazione delle immunoglobuline non coinvolte. La determinazione nefelometrica non deve mai essere usata come unico mezzo per lo screening dei pazienti con una proteina M. E' raccomandato di non impiegare l'immunodiffusione radiale.

5- Presenza, tipo ed escrezione quotidiana di catene leggere monoclonali devono essere misurate in tutti i pazienti con mieloma multiplo, macroglobulinemia di Waldenstrom, amiloidosi e malattie correlate. Le modalità raccomandate sono quelle di misurare l'escrezione urinaria delle 24 ore, la misurazione densitometrica del picco delle catene leggere in una aliquota concentrata 100 volte e l'immunofissazione. Non è utile lo screening delle catene leggere monoclonali con la striscia reattiva, l'acido solfosalicilico ed i test di precipitazione al calore.

6- Il monitoraggio della proteina M nel siero e nell'urina va eseguita mediante elettroforesi ad intervalli regolari (1-2 mesi nei pazienti trattati per mieloma multiplo, macroglobulinemia di Waldenstrom ed amiloidosi, un anno per pazienti con gammapatia monoclonale di significato indeterminato).

7- Le crioglobuline devono essere ricercate in tutti i pazienti con una proteina M e che presentano specifiche complicanze dovute alla sensibilità al freddo, soprattutto in presenza di immunoglobuline monoclonali. Devono essere raccolti almeno 10 mL di sangue che devono essere trasportati a 37 °C ed il siero, una volta separato, deve essere conservato a 4 °C per 7 giorni. Nel caso che un precipitato evidente suggerisca la presenza di una crioglobulina, questa deve essere quantificata, solubilizzata e caratterizzata. Lo screening per crioglobuline è scoraggiato in pazienti con sintomi vaghi e non specifici.

8- Le tecniche raccomandate per la valutazione della proteina M è l'elettroforesi ad elevata risoluzione (basata su gel o capillare), l'immunofissazione; l'immunosottrazione è una tecnica promettente in questo ambito.

La clinica (Tabelle II e III)

Plasmocitoma solitario

Una proteina M è presente nel siero o nelle urine nel 50% dei pazienti ma a bassa concentrazione (25 g/L nel siero e > 500 mg die di proteina di Bence Jones) suggerendo in alcuni casi l'esecuzione dell'immunofissazione anche se l'elettroforesi è negativa. La radioterapia porta ad una sopravvivenza esente da malattia di 10 anni per il 30% dei pazienti.

Mieloma multiplo

Il quadro clinico comprende frequentemente forte dolore localizzato, affaticabilità, confusione, insufficienza renale, trombocitopenia.

Mieloma multiplo asintomatico

Circa il 15% dei pazienti è asintomatico al momento della diagnosi. Sono pazienti con una concentrazione di proteina M superiore a 25 g/L e che rimangono stabili per un lungo periodo. La chemioterapia è indicata soprattutto nei casi in cui la proteina M aumenta (> 50 g/L), compare anemia (< 105 g/L) o compare una lesione ossea litica.

Gammopatie monoclonali di incerto significato (Monoclonal gammopathy of Uncertain Significance, MGUS)

Presente nell'1% della popolazione di ultracinquantenni e nel 3% degli ultrasessantenni. La diagnosi differenziale tra MGUS e mieloma multiplo asintomatico è difficile in quei pazienti con una concentrazione di proteina M compresa tra 20 e 30 g/L e di proteina di Bence Jones compresa tra 10 e 50 mg/d. Tuttavia, l'atteggiamento più corretto è quello del follow-up in entrambi i casi.

Kyle si diffonde sulle modalità del follow-up dei pazienti con gammapatia monoclonale. Per esempio:

- Se il paziente non presenta altri aspetti di discrasia plasmacellulare e presenta uno spike di proteina M inferiore a 15 g/L deve essere eseguita una elettroforesi ogni anno. Nella maggior parte dei casi non sono necessari puntato sternale, radiografia dello scheletro e ricerca delle proteina di Bence Jones.

- Se un paziente asintomatico presenta una concentrazione di proteina M compresa tra 15 e 25 g/L, sono raccomandati una quantificazione immunonefelometrica delle immunoglobuline ed elettroforesi urinaria con immunofissazione. L'elettroforesi sierica deve essere ripetuta ogni 3-6 mesi e, se stabile, ogni anno (può essere anticipata se compaiono segni o sintomi suggestivi di malattia).
- Se lo spike di proteina M è maggiore di 25 g/L, sono opportune una radiografia dello scheletro, un puntato midollare ed una tomografia assiale computerizzata dell'addome. Possono essere utili la determinazione di $\beta 2$ microglobulina e proteina C reattiva. Questi controlli vanno ripetuti dopo 2-3 mesi e, se la concentrazione di proteina M è stabile, dopo 3-4 mesi e successivamente dopo 1 anno.
- Una elettroforesi urinaria deve essere eseguita in presenza di uno spike sierico superiore a 15 g/L.

Analisi delle urine

Elettroforesi urinaria su un campione delle 24 ore ed immunofissazione devono essere eseguite in tutti pazienti con proteina M nel siero. In molti laboratori lo screening delle proteine urinarie è eseguito con strisce reattive che spesso non sono sensibili alla proteina di Bence Jones.

Si deve impiegare un campione di urine delle 24 ore che consentano di misurare l'escrezione di proteine delle 24 ore. La quantità di urine può essere espressa in mg/dL o g/L ma è molto più utile refertare in grammi/24 ore poichè il volume urinario dei pazienti può essere molto diverso. Il campione non richiede conservante e può essere conservato a temperatura ambiente.

Nota. Attualmente nel nostro paese viene in generale seguito l'orientamento prevalente in Europa che raccomanda l'esecuzione di elettroforesi ed immunofissazione ad alta sensibilità su campione di urine fresche non concentrate per ovviare alla perdita di

frammenti di catene leggere k e λ a basso peso molecolare.

Crioglobuline

Le modalità di raccolta del prelievo sono critiche. Errori comuni sono: separazione non corretta, dal sangue intero, refrigerazione prima della centrifugazione, volume di campione inadeguato (nel caso di bassa concentrazione di crioglobuline). Kallemmuchikkal e Gorevic raccomandano che 10-20 mL di sangue siano raccolti in siringhe preriscaldate a 37 °C e che il campione sia lasciato coagulare a questa temperatura per 30-60 minuti (7).

1. Tomar RH. College of American Pathologists Conference XXXII on Guidelines for Laboratory Evaluation and Use of Antinuclear Antibodies and Laboratory diagnosis and monitoring of Monoclonal Gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999; 123:103.
2. Goeken JA, Keren DF. Introduction to the report of the Consensus Conference on Monoclonal Gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999; 123:104-5.
3. Keren DF, Alexanian R, Goeken JA, Gorevic PD, Kyle RA, Tonmar RH. Guidelines for clinical and laboratory evaluation of patients with monoclonal gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999; 123:106-7.
4. Alexanian R, Weber D, Liu F. Differential diagnosis of Monoclonal Gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999; 123:108-13.
5. Kyle RA. Sequence of testing for Monoclonal Gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999; 123: 114-8.
6. Keren DF. Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins. Arch Pathol Lab Med 1999; 123: 126-32.
7. Kallemmuchikkal U, Gorevic PD. Evaluation of monoclonal immunoglobulins. Arch Pathol Lab Med 1999; 123:119-25.

Tabella I. Incidenza annuale approssimativa negli Stati Uniti

Condizione	Casi/anno	Sopravvivenza (mediana)
Mieloma multiplo	13000	3
Macroglob.Waldenstrom	3000	5
Amiloidosi	2500	1
Malattia catene pesanti	Rara	?
Plasmocitoma solitario	Raro	= normale
Gammapatia monoclonale	> 1000000	= normale

Tabella II. Segni e sintomi clinici associati frequentemente a mileoma multiplo

Segni e sintomi clinici	Causa frequente
Dolore osseo severo	Frattura patologica (frequentemente vertebra o costola)
Astenia	Anemia (normocromica, normocitica)
Nausea, confusione, poliuria	Ipercalcemia
Nausea ed astenia	Insufficienza renale
Paraplegia	Compressione spinale
Stato confusionale, visione confusa	Iperviscosità (> 50 g/L)
Emorragia	Trombocitopenia
Noduli cutanei	Tumori plasmacellulari

Tabella III. Anomalie frequenti nelle discrasie plasmacellulari

Mieloma multiplo

Segni e sintomi	Dati di laboratorio	Globuline monoclonali
Dolore osseo	Proteine Elevate	IgG
Astenia	Anemia	IgA
Infezioni	Ipercalcemia	IgD
Nausea	Proteinuria	IgE
	Iperazotemia	Catene leggere k e λ
		Non produzione

Malattia di Waldenstrom

Segni e sintomi	Dati di laboratorio	Globuline monoclonali
Astenia	Proteine Elevate	IgM
Sonnolenza	Anemia	
Linfoadenomegalia	Iperviscosità	
Splenomegalia	Crioprecipitato	
Sindrome di Raynaud	Leucemia	
Neuropatia	Nessuno	

Amiloidosi

Segni e sintomi	Dati di laboratorio	Globuline monoclonali
Astenia	Proteine Elevate	IgG
Edema	Proteinuria	IgA
Sincope posturale	Nessuno	IgD
Macroglossia		IgM
Porpora periorbitale		Catene leggere k e λ
Neuropatia		Non produzione

MGUS

Segni e sintomi	Dati di laboratorio	Globuline monoclonali
Nessuno	Proteine Elevate	IgG
		IgA
		IgD
		IgM
		Catene leggere k e λ