

Una gammopatia monoclonale di difficile tipizzazione

Francesca Gulli¹, Umberto Basile¹, Silvia Borrello², Cecilia Zuppi³

¹Laboratorio di Analisi Immunologiche, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, ²Laboratorio di Analisi Immunologiche, Istituto di Patologia Generale, e ³Istituto di Biochimica e Biochimica Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Università Cattolica del Sacro Cuore, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Policlinico "A. Gemelli", Roma

ABSTRACT

A monoclonal gammopathy of difficult characterization. IgD monoclonal gammopathy is a rare event, but its recognition and management are quite important because the condition is potentially life-threatening. This paper reports a peculiar case of IgD monoclonal gammopathy. The monoclonal protein was rapidly degraded by proteolysis and the usual laboratory tests showed different immunochemical patterns. The study of the proteolytic dynamic of the monoclonal immunoglobulin allowed us to obtain the complete characterization of the monoclonal component.

INTRODUZIONE

Le immunoglobuline D (IgD), scoperte nel 1964, sono una classe di immunoglobuline con PM di ~185.000 Da e un'emivita di 2,8 giorni, la cui funzione biologica non è del tutto nota (1). Le peculiarità delle IgD sono state ben descritte in una serie di articoli (1-4); in particolare, è opportuno ricordare che la molecola possiede, tra i frammenti Fab e Fc, una regione "hinge" molto lunga che la rende particolarmente suscettibile alla proteolisi (2, 3).

Concentrazioni plasmatiche elevate di IgD sono state segnalate in diverse situazioni cliniche, quali infezioni, malattie autoimmuni e allergiche, immunodeficienze e linfomi (4). Tuttavia, non esiste nella pratica clinica una motivazione per la richiesta di misurazione delle IgD, nemmeno per la sindrome da iperIgD, una rara affezione descritta per la prima volta nel 1984 (5).

Come tutte le altre immunoglobuline, le IgD possono derivare da un unico clone plasmacellulare in espansione. Le IgD monoclonali presentano delle peculiarità rispetto alle altre immunoglobuline monoclonali, per cui è opportuno un approccio diagnostico specifico, già descritto recentemente e diffusamente su questa rivista (6-8). Vale la pena di ricordare qui solo la necessità di effettuare una immunofissazione (IFE) con gli antisieri anti-IgD e anti-IgE in tutti i campioni con IFE positiva soltanto con antisieri anti-catene leggere o, laddove il laboratorio sia sprovvisto di tali antisieri, di inviare il campione in una struttura dove possa essere eseguita la diagnostica

completa. Qualora il picco monoclonale fosse scarsamente visibile o mal identificabile nel tracciato elettroforetico, in analogia a quanto consigliato per le altre immunoglobuline, il monitoraggio dovrebbe essere eseguito con la misura nefelometrica della IgD (9, 10).

Il mieloma IgD è una rara malattia ad eziologia multifattoriale che costituisce circa il 2% di tutti i mielomi. E' caratterizzato da una componente monoclonale IgD quasi sempre (90% dei casi) legata a una catena leggera di tipo lambda con una proteinuria di Bence Jones pure di tipo lambda (11,12). La rarità dei mielomi IgD kappa è stata spiegata con un blocco della secrezione di questa molecola che sarebbe degradata intracellularmente (7,11,12). Dal punto di vista clinico, il mieloma IgD si presenta con caratteristiche più aggressive rispetto agli altri tipi di mieloma e presenta più frequentemente insufficienza renale (11,12).

CASO CLINICO

Viene illustrato un caso di un paziente maschio di 60 anni, che presentava difficoltà interpretative dei tracciati elettroforetici e di IFE, caratterizzati da una notevole variabilità nel tempo.

Il paziente, in seguito a un ricovero presso un altro nosocomio, è stato indirizzato al nostro Day Hospital di Ematologia dove si è presentato nel luglio 2011 con una sintomatologia di astenia e dolori diffusi. All'esame elettroforetico del quadro sieroproteico, eseguito con tecnologia capillare (Capillarys Sebia), si evidenziava un

Corrispondenza a: Umberto Basile, Laboratorio di Analisi Immunologiche, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Policlinico "A. Gemelli", L.go A. Gemelli 8, 00168 Roma. Tel. 0630154739, Fax 0630156700, E-mail basile.umberto@rm.unicatt.it

Ricevuto: 27.07.2012

Revisionato: 22.10.2012

Accettato: 23.10.2012

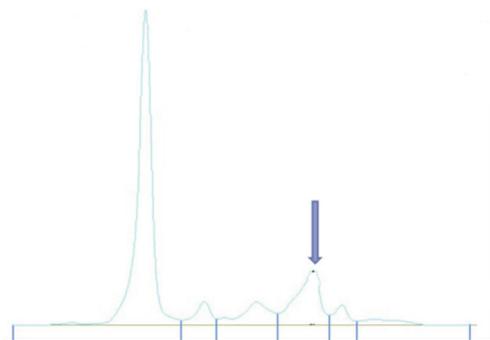


Figura 1

Tracciato elettroforetico del siero del paziente con presenza di componente monoclonale in zona β_1 -globuline (freccia).

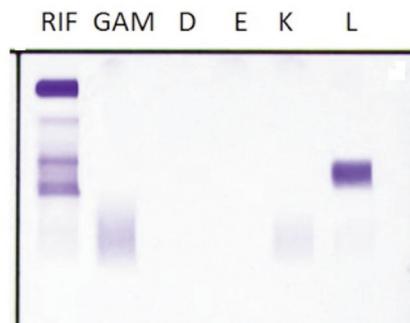


Figura 2

Immunofissazione del siero del paziente eseguita dopo 7 giorni di conservazione del campione a 4 °C, positiva per catene leggere lambda.

picco monoclonale in zona β_1 (Figura 1), tipizzato come catene leggere libere lambda (Figura 2). L'elettroforesi urinaria e l'IFE di screening con antisiero pentavalente (anti-gamma, alfa, mu, kappa e lambda) denotava la presenza di una banda monoclonale in zona β tipizzata successivamente come proteina di Bence Jones di tipo lambda. Le IFE sieriche e urinarie e l'elettroforesi urinaria erano eseguite in gel di agarosio con gli antisieri e secondo le indicazioni del produttore (Hydrasis Sebia). Queste prime IFE, sierica e urinaria, erano eseguite dopo una conservazione per una settimana dei campioni a 4 °C.

Si osservava anche un aumento moderato della creatininemia e marcato della β_2 -microglobulina nel siero, associati a una diminuzione della concentrazione ematica di emoglobina e della concentrazione sierica delle tre principali classi immunoglobuliniche. La biopsia osteomidollare e l'aspirato del midollo mostravano un massivo infiltrato di plasmacellule (60%), spesso plurinucleate con nuclei tondi e citoplasma basofilo.

Sulla base di tali risultati, il consulente ematologo poneva diagnosi di mieloma micromolecolare di tipo lambda.

Il paziente, dopo un periodo di terapia convenzionale (13) della durata di due mesi, era sottoposto a monitoraggio di laboratorio. I dati ematochimici non presentavano variazioni significative. L'IFE, eseguita in questa occasione nella stessa giornata del prelievo, era positiva per una componente monoclonale IgD lambda (Figura 3), confermata da un'altra eseguita nello stesso giorno su un secondo campione di siero. Il siero era conservato a 4 °C e rianalizzato dopo 5 giorni evidenziando la completa scomparsa della reattività con la catena pesante δ e la conservazione della reattività con l'antisiero anti-catene leggere lambda. I risultati facevano ipotizzare che la modificazione del "pattern" immunofissativo a due mesi di distanza fosse attribuibile alla degradazione della immunoglobulina monoclonale IgD, particolarmente rapida rispetto ad altri casi da noi osservati (6). La conferma di questa ipotesi era ottenuta ripetendo l'immunofissazione a intervalli di 2, 4 e 7 giorni

su un nuovo campione di siero, conservato sempre a 4 °C (Figura 4). Si notava una riduzione progressiva della reattività con la catena pesante δ , mentre veniva conservata (seppur attenuata) quella con la catena leggera lambda. Questo risultato dimostrava l'estrema velocità di degradazione di questa immunoglobulina monoclonale. Anche l'elettroforesi sieroproteica, eseguita dopo 7 giorni, mostrava un'importante riduzione del picco in zona β (Figura 5); tale riduzione era particolarmente evidente se si confrontava il tracciato con quello originale del paziente (Figura 1). Risultati del tutto sovrapponibili a quelli descritti erano ottenuti eseguendo l'IFE con antisieri di origine diversa (Siemens Healthcare), fugando il dubbio che si potesse essere in presenza di un mancato riconoscimento dell'antigene.

Come ulteriore conferma dell'ipotesi di una accelerata proteolisi della molecola, abbiamo pretrattato un campione di siero appena prelevato dal paziente con un inibitore della proteasi (acido ϵ -aminocaproico), nella quantità di due gocce ogni 4 mL di siero. Su questo campione, conservato a 4 °C per 7 giorni, era eseguita una IFE, che ha evidenziato la stabilità della IgD lambda monoclonale così trattata, consentendone il riconoscimento immunologico (Figura 6).

La suscettibilità alla proteolisi delle IgD è data dalla presenza di una lunga regione "hinge" facilmente degradabile (1-3); nel nostro caso, tuttavia, la velocità del fenomeno era particolarmente elevata. Per spiegare la mancata rilevazione da parte dell'anticorpo anti- δ usato per l'IFE, si può ipotizzare che la degradazione riguardi sia il frammento Fab2 che quello Fc attraverso meccanismi del tipo pepsina-papaina, che per l'azione "a cascata" degli enzimi proteolitici porti alla completa degradazione del frammento Fc. La degradazione dei due segmenti Fab risulta essere di minore intensità, ma costante nel tempo, come evidenziato dalla diminuzione di intensità del colore nelle corsie con reazione con l'antisiero anti-lambda, dovuta alla ridotta concentrazione di tali frammenti. Studi approfonditi sulla struttura di questa particolare IgD potrebbero far piena luce sul fenomeno degradativo osservato, che si è

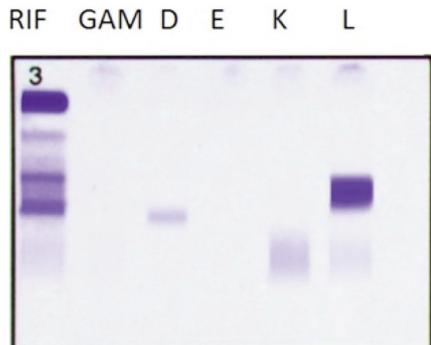


Figura 3
 Immunofissazione del siero del paziente alla seconda visita, eseguita il giorno stesso del prelievo, positiva per IgD lambda più presenza di catene leggere libere monoclonali di tipo lambda.

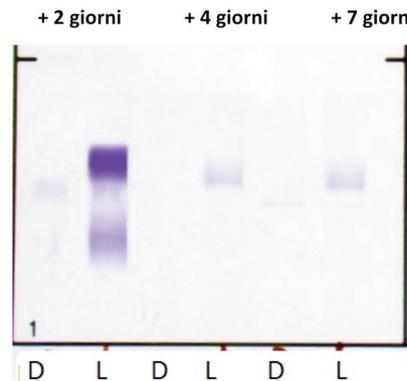


Figura 4
 Immunofissazione del siero del paziente effettuata a tempi diversi di permanenza del campione a 4 °C. È evidente l'attenuarsi della reazione immunologica, sia con le catene δ che con le catene lambda, con il trascorrere del tempo.

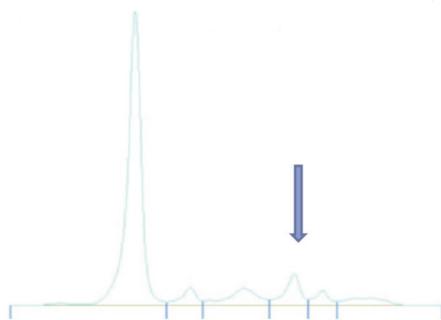


Figura 5
 Elettroforesi sieroproteica del paziente eseguita dopo 7 giorni di permanenza del campione a 4 °C.

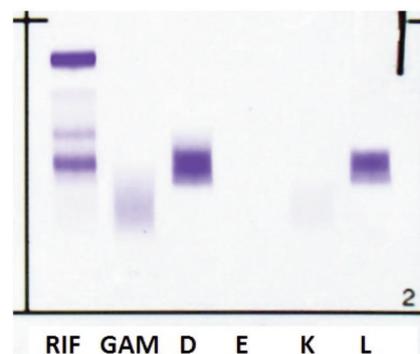


Figura 6
 Immunofissazione del siero del paziente effettuata dopo trattamento con inibitore della proteasi. Dopo 7 giorni di conservazione a 4 °C la reattività della intera immunoglobulina (catene pesanti e leggere) è totalmente conservata.

rivelato particolarmente intenso.

CONCLUSIONI

La gammopatia monoclonale IgD, sebbene rara, è una situazione con la quale il laboratorio che si occupa di diagnostica proteica è chiamato a confrontarsi. In questi casi viene richiesto un approccio diagnostico differenziato rispetto a quello normalmente applicato per le altre componenti monoclonali. Il caso qui illustrato presenta ulteriori peculiarità, che hanno potuto essere riconosciute e risolte solo grazie a una particolare attenzione a parte dello specialista di laboratorio

BIBLIOGRAFIA

1. Chen K, Cerutti A. New insight into the enigma of immunoglobulin D. *Immunol Rev* 2010;237:160-79.
2. Griffiths RW, Gleich GJ. Proteolytic degradation of IgD and its relation to molecular conformation.

3. Goyert SM, Hugli TE, Spiegelberg HL. Site of "spontaneous" degradation of IgD. *J Immunol* 1977;118:2138-44.
4. Vladutiu AO. Immunoglobulin D: properties, measurement and clinical relevance. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000;7:131-40.
5. Ammouri W, Cuisset L, Rouage S, et al. Diagnostic value of serum immunoglobulinaemia D level in patients with a clinical suspicion of hyper IgD syndrome. *Rheumatology* 2007;46:1597-600.
6. Basile U, Gulli F, Storti S, et al. Determinazione del CD138 solubile nel siero di pazienti affetti da mieloma multiplo IgD. *Biochim Clin* 2011;35:56-61.
7. Righetti G, Graziani MS. Sei casi di gammopatia monoclonale IgD. *Biochim Clin* 2011;35:417-22.
8. De Biasi F, Fornasir L, Snidero A, et al. Un caso di gammopatia monoclonale IgD clinicamente asintomatica e stabile dopo 15 anni di monitoraggio. *Biochim Clin* 2012;36:384-5.
9. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al. on behalf of the International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* *J Biol Chem* 1972;247:4543-8.

- 2006;20:1-7.
10. Graziani MS, Caldini A, Basile U, et al. Indicazioni per la misura delle principali proteine sieriche. *Biochim Clin* 2012;36:244-67.
 11. Sinclair D. IgD myeloma: clinical, biological and laboratory features. *Clin Lab* 2002;48:617-22.
 12. Jancelawicz Z, Takatsuki K, Sugai S, et al. IgD multiple myeloma. Review of 133 cases. *Arch Int Med* 1975;135:87-93.
 13. Barosi G, Merlini G, Billio A, et al. SIE, SIES, GITMO evidence-based guidelines on novel agents (thalidomide, bortezomib and lenalidomide) in the treatment of multiple myeloma. *Ann Hematol* 2012;91:875-88.