

Klinicko-laboratorní aspekty biklonální gamapatie nejistého významu - BGUS

Pika T.¹, Lochman P.², Maisnar V.³, Tichý M.⁴, Minařík J.¹, Hájek R.⁵, Ščudla V.¹

¹ III. interní klinika – nefrologická, revmatologická, endokrinologická, LF UP a FN Olomouc

² Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc

³ IV. interní hematologická klinika, LF UK a FN Hradec Králové

⁴ Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF UK a FN Hradec Králové

⁵ Ústav klinické hematologie, LF OU a FN Ostrava

SOUHRN

Úvod: Biklonální gamapatie nejistého významu (BGUS) je méně obvyklé onemocnění charakterizované přítomností dvou monoklonálních gradientů a relativně příznivým biologickým chováním.

Cíl: Cílem práce bylo posouzení možného přínosu či naopak limitací obvyklých parametrů používaných u monoklonální gamapatie nejistého významu (MGUS) ve skupině jedinců s BGUS.

Metody: Analyzovaná sestava čítala 18 vzorků sér od jedinců s BGUS (9x IgG-IgA, 7x IgG-IgM a 2x IgG-IgG typ). Pro analýzu byl použit turbidimetr SPA Plus a stanovované parametry zahrnovaly sérové hladiny volných lehkých řetězců imunoglobulinu (FreeLite™), hladiny polyklonálních imunoglobulinů a hladiny párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu (HevyLite™).

Výsledky a závěr: Pilotní analýza a zjištěné výsledky potvrzují skutečnost, že u velké části BGUS dochází k ovlivnění některých parametrů užívaných ve stratifikaci a sledování jedinců s MGUS, zejména v případě odlišnosti lehkých řetězců v obou molekulách monoklonálních imunoglobulinů. Jako velmi perspektivní se jeví analýza párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu (HLC), zohledňující možnost izotypové suprese alternativního páru s ovlivněním HLC indexu. Avšak v podmínkách běžné klinické praxe je zřejmé, že zásadní pro určení prognózy BGUS bude nutná izolace a analýza klonálních populací buněk na molekulárně-cyto genetické úrovni.

Klíčová slova: biklonální gamapatie, prognostické faktory, diagnostika.

SUMMARY

Pika T., Lochman P., Maisnar V., Tichý M., Minařík J., Hájek R., Ščudla V.: Clinical and laboratory aspects of biclonal gammopathy of undetermined significance - BGUS

Introduction: Biclonal gammopathy of undetermined significance (BGUS) is a less frequent disease characterized by the presence of two monoclonal gradients and a relatively favourable biological development.

Objective: The objective was to assess potential benefits and/or limitations of laboratory parameters typically used with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) when applied to a group of BGUS patients.

Methods: The analysed batch comprised 18 serum samples from BGUS patients (9x IgG-IgA, 7x IgG-IgM a 2x IgG-IgG type). The assays were performed with a SPA Plus turbidimeter. Serum levels of polyclonal immunoglobulins, free light immunoglobulin chains (FreeLite™), and pairs of heavy/light immunoglobulin chains (HevyLite™) were assayed.

Results and conclusion: The results of the pilot analyses confirm that a significant portion of BGUS patients exhibits changes of certain parameters typically applied to the stratification and monitoring of MGUS patients, particularly when the light chains in both molecules of monoclonal immunoglobulins differ. The analysis of heavy/light immunoglobulin chain pairs (HLC) appears very promising, indicating the possibility of an isotype suppression of the alternative pair affecting the HLC index. It is apparent, however, that the isolation and analysis of cell clones on a molecular and cytogenetic level will be essential for BGUS prognosis in clinical practice.

Key words: biclonal gammopathy, prognostic factors, diagnostics.

Úvod

Jako monoklonální gamapatie (MG) je označována heterogenní skupina onemocnění charakterizovaná přítomností molekul monoklonálního imunoglobulinu (MIG) nebo jejich fragmentů (lehkých, těžkých řetězců), detekovatelných v séru a/nebo v moči, přičemž nejčastější formu představuje monoklonální gamapatie nejistého významu (MGUS) [1, 2]. Jako MGUS je označován bezpříznakový, ale potenciálně maligní stav charakterizovaný nezhoubnou klonální prolifera-

cí plazmatických buněk secernujících monoklonální imunoglobulin při nepřítomnosti zhoubného lymfoproliferativního stavu [1, 2]. MGUS představuje přibližně 60 % všech monoklonálních gamapatií, přičemž 1-2 % jedinců s MGUS ročně transformuje v některou ze zhoubných monoklonálních gamapatií [3, 4]. Řada autorů identifikovala a definovala rizikové faktory určující míru rizika a pravděpodobnost transformace MGUS do některé z forem maligní MG. Ze serologických metod byly identifikovány jako signifikantní prognostické faktory koncentrace a izotyp MIG, a přítomnost supre-

se hladin izotypů polyklonálních imunoglobulinů [5-9]. Stanovení sérových hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu κ a λ (VLŘ) s určením indexu klonality κ/λ , dovolilo lépe identifikovat jedince s vyšším rizikem transformace do zhoubných forem MG [10,11]. Následnou kombinací indexu klonality κ/λ , kvantitativní a izotypu M-proteinu byl vytvořen a všeobecně akceptován stratifikační systém dle Rajkumara, rozdělující nemocné do 4 prognosticky rozdílných skupin s následným doporučením pro optimální přístup sledování [10,12]. Recentní práce rovněž potvrdily přínos stanovení hladin párů volných/těžkých řetězců imunoglobulinu (HLC) s výpočtem jejich vzájemného poměru (HLC ratio), přičemž nejen zmíněný poměr, ale zejména přítomnost suprese alternativního HLC páru představuje významný rizikový faktor [13, 14, 15].

Jako biklonální gamapatie je označována skupina onemocnění charakterizovaná přítomností dvou rozdílných monoklonálních gradientů. Biklonální gamapatie představují přibližně 3-5 % počtu monoklonálních gamapatií a v naprosté většině se jedná o biklonální gamapatie nejistého významu (BGUS) [16]. Cílem naší práce bylo provedení analýzy prognostických ukazatelů obvykle používaných při stratifikaci jedinců s MGUS v souboru jedinců s BGUS s posouzením jejich možného přínosu nebo naopak limitací.

Soubor a metody

Pro analýzu bylo užito zamražených sér deponovaných v sérových bankách FN Hradec Králové (IV. interní hematologická klinika) a FN Olomouc (III. interní klinika) se známými izotypy a kvantitou M-komponent, stanovených standardními laboratorními metodami. Analyzovaný soubor zahrnoval celkem 18 jedinců s BGUS, přičemž v 9 případech se jednalo o biklonální sekreci IgG-IgA, u 7 jedinců byly zjištěny typy IgG-IgM a u 2 jedinců se jednalo o IgG-IgG typ s odlišným typem lehkých řetězců. Analýza vzorků sér byla provedena v laboratořích Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc,

pro analýzu všech vybraných ukazatelů bylo využito unikátní platformy turbidimetru SPA Plus. Pro stanovení sérových hladin volných lehkých řetězců bylo užito souprav FreeLite SPA Plus kappa free (normální rozmezí (NR): 3,3–19,4 mg/l) a FreeLite SPA Plus lambda free (NR: 5,71–26,3 mg/l) s následným výpočtem indexu klonality. Hladiny polyklonálních imunoglobulinů byly stanovovány soupravami Human IgG kit (NR: 7–16 g/l), Human IgA kit (0,7–4 g/l) a Human IgM kit for SPA Plus (0,4–2,3 g/l). Pro analýzu hladin HLC bylo užito souprav HevyLite Human IgG kappa (NR: 3,84–12,07 g/l), IgG lambda (NR: 1,91–6,74 g/l), IgA kappa (NR: 0,57–2,08 g/l), IgA lambda (NR: 0,44–2,04 g/l), IgM kappa (NR: 0,19–1,63 g/l) a IgM lambda kit for the use on the SPA Plus (NR: 0,12–1,01 g/l), vzájemný poměr párů izotypů imunoglobulinu byl zjištěn výpočtem.

Výsledky

Ve skupině jedinců s IgG-IgA typem BGUS byly zjištěny následující laboratorní nálezy. Medián hladiny IgG MIG představoval 5,41 g/l (2,55–14,24 mg/l), medián IgA MIG činil 4,03 g/l (1,0–7,72 g/l). Patologicky zvýšené hladiny volných lehkých řetězců κ a/nebo λ byly zjištěny u osmi z devíti pozorování, avšak abnormální index klonality byl zaznamenán pouze v pěti případech. U tří jedinců s normálním indexem klonality, byly přítomny rozdílné typy lehkých řetězců v molekulách obou MIG. Naopak u výše zmíněných pěti vzorků byly přítomny identické lehké řetězce v obou molekulách MIG. Při analýze celkových hladin polyklonálních imunoglobulinů, byla zjištěna suprese v hladinách IgM pouze u dvou jedinců. Při využití systému HevyLite™, byla zjištěna ve třídě IgG patologie HLC indexu u pěti jedinců, naopak ve třídě IgA byl abnormální index zaznamenán u osmi z devíti případů (obr. 1).

Ve skupině jedinců s IgG-IgM typem BGUS byl medián hladin IgG MIG 4,1 g/l (1–14,6 g/l) a v případě IgM MIG pak 1,9 g/l (1–33,7 g/l). Patologicky zvýšené hladiny volných lehkých řetězců imunoglobulinu κ a/nebo λ byly zjištěny u šesti ze sedmi analyzovaných sér, při-

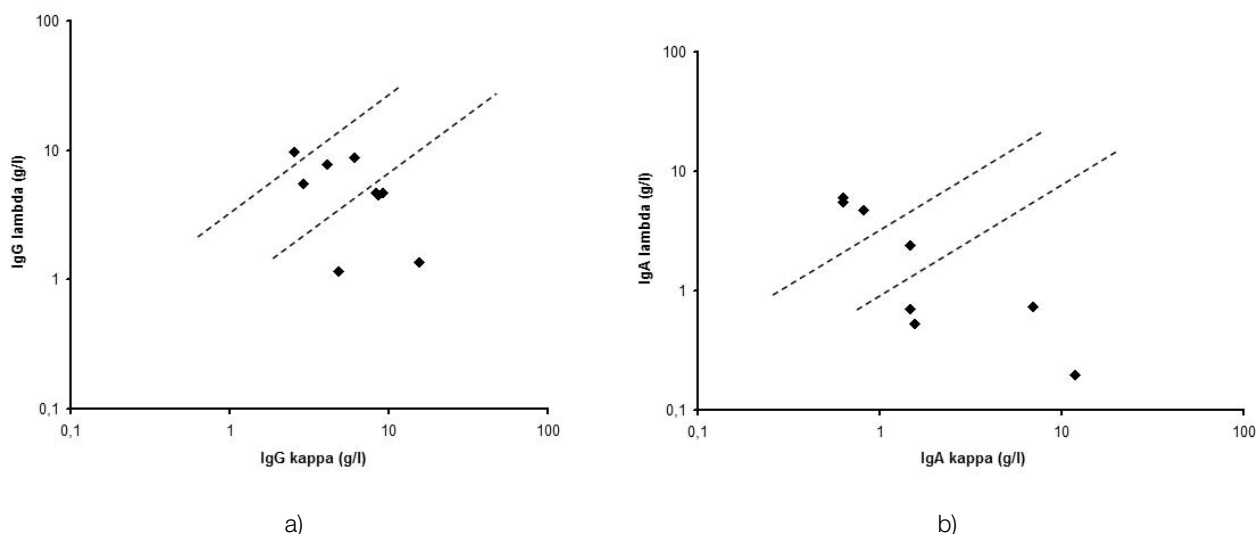


Fig. 1. Analysis of the pairs of heavy/light chains of immunoglobulin in biclonal gammopathy of IgG-IgA type in IgG (a) and IgA (b) classes.

čímž patologie indexu κ/λ byla zjištěna pouze u tří jedinců. U tří zbývajících byly opět přítomny rozdílné typy lehkých řetězců v molekulách obou MIG. V celém souboru nebyla zaznamenána přítomnost suprese hladin polyklonálních imunoglobulinů. Při HLC analýze byla ve třídě IgG zjištěna patologie HLC indexu ve čtyřech, ve třídě IgM pak v pěti případech.

U dvou jedinců s BGUS a identickým IgG typem těžkého řetězce v molekule MIG, byla zaznamenána patologie indexu lehkých řetězců pouze v jednom případě, a to z důvodu extrémně vysokých hladin lehkého řetězce λ (1493 mg/l). Nicméně při provedení HLC vyšetření byly v obou případech hodnoty HLC indexu zcela v mezích normy.

Diskuse

Jak již bylo zmíněno, přítomnost dvou monoklonálních gradientů je základní charakteristikou biklonálních gamapatií. V současnosti někteří autoři doporučují používat pro biklonální gamapatie název spíše „zdvojené paraproteinémie“, pokud nejsou jasně identifikovány dva buněčné klonny imunohistochemicky či průtokovou cytometrií [17, 18]. Je známo, že původcem biklonální gamapatie nemusí být ve všech případech dvě buněčné populace, ale produkce dvou rozdílných MIG může být způsobena pouze jedinou buněčnou linií. Proto je akceptován nejen biklonální, ale i monoklonální původ biklonální gamapatie [16, 18, 19]. Biklonální gamapatie, které mají původ v monoklonální plazmocytární populaci, jsou obvykle způsobeny abnormální rekombinací těžkých řetězců imunoglobulinu („class switch“) během vývoje B-lymfocytů/plazmocytů, vedoucí k biklonální syntéze a sekreci těžkých řetězců. Oba těžké řetězce jsou charakterizovány identickou variabilní oblastí

a jsou konjugovány se stejným typem lehkého řetězce (např. IgM kappa-IgG kappa) [16, 18]. Naopak „pravý“ biklonální typ nese dva různé lehké řetězce (např. IgM kappa-IgG lambda), neboť doposud nebyl popsán možný molekulární mechanismus změny syntézy lehkých řetězců na úrovni plazmatické buňky [16, 19]. U BGUS je většinou velmi dobře patrná predominance jednoho izotypu, který obvykle vykazuje větší variabilitu, přičemž zejména IgA izotyp je z hlediska možné maligní evoluce velmi rizikový a „nevyzpytatelný“ (obr. 2). V klinické praxi je však nutné sledovat oba izotypy.

Provedená pilotní analýza limitovaného souboru jedinců s BGUS poukázala na některé aspekty vyplývající z biologické povahy onemocnění. Při diagnostice, sledování průběhu a hodnocení léčebné odpovědi u monoklonálních gamapatií patří mezi základní vyšetření řada metod sloužících k posouzení přítomnosti klonální plazmocytární nádorové populace. U naprosté většiny metod je využíváno stanovení exprese povrchových/cytoplazmatických lehkých řetězců imunoglobulinu. V případě restrikce jednoho z lehkých řetězců pak lze s velkou mírou jistoty určit přítomnost monoklonální plazmocytární populace. Na tomto principu jsou založeny metody imunohistochemie, imunofluorescence a zčásti i průtokové cytometrie. Analogicky k metodám posuzujícím celulární složku jsou v současnosti používány i systémy detekující nadbytek volných lehkých řetězců v séru (systém FreeLite™), přičemž hodnota vzájemného poměru dominantního (postiženého) a alternativního (nepostiženého) lehkého řetězce vypovídá do jisté míry o přítomnosti monoklonální nádorové populace. Hladiny VLŘ nekorelují s hladinami MIG a jedná se o nezávislý prognostický ukazatel. Samotná hodnota indexu κ/λ je všeobecně akceptována jako prognostický ukazatel nejen u MGUS, ale i mnohočetného myelomu a AL amyloidózy [10, 11, 20]. Při analýze

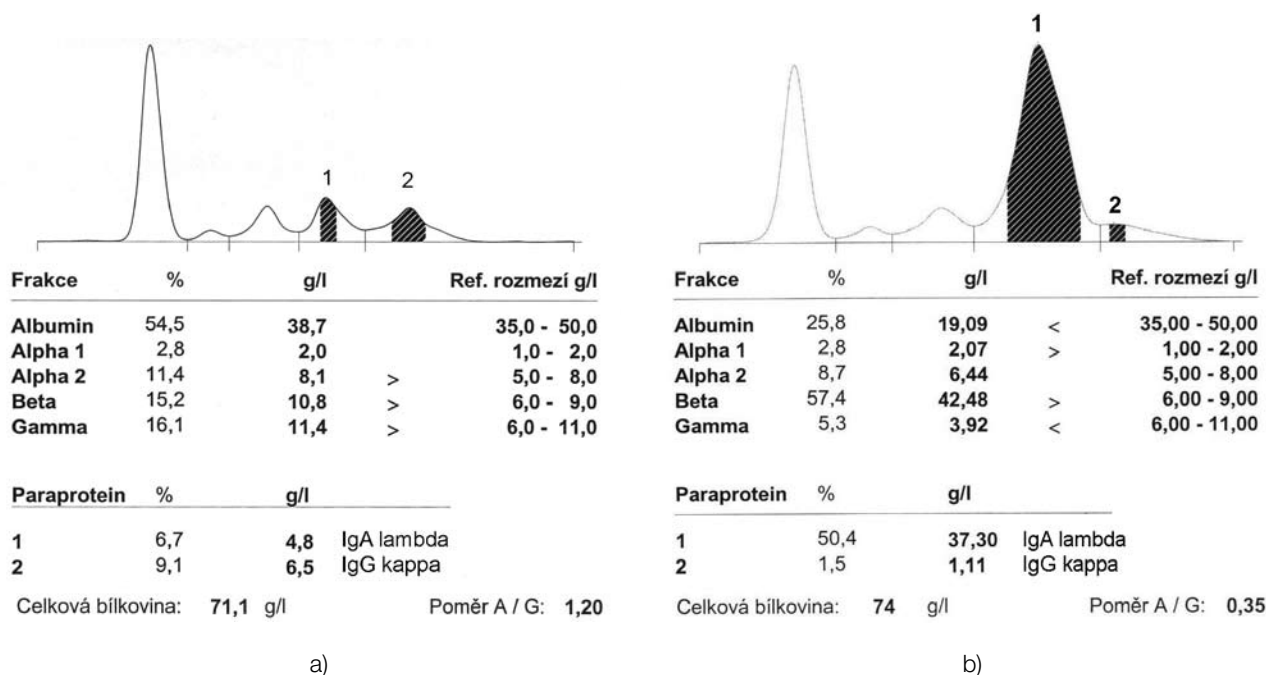


Fig. 2. Serum electrophoresis in biclonal gammopathy IgG κ -IgA λ at the time of diagnosis (a), and at the time of transformation into symptomatic multiple myeloma IgA λ (b).

hladin VLŘ a zejména indexu κ/λ ve skupině jedinců s BGUS byla zjištěna u velké části jedinců normalizační indexu κ/λ , ačkoliv byly přítomny zvýšené absolutní hladiny VLŘ, a to u jedinců s rozdílným typem lehkého řetězce v molekulách MIG. Tento náleží je v souladu se závěry Bradwella et al., který připouští možnost ovlivnění hodnoty indexu κ/λ , právě u biklonálních gamapatií [21]. Jak je tedy patrné, u poměrně velké části jedinců s BGUS nebude možno stanovení indexu κ/λ využít jako stratifikační a prognostický ukazatel. Analýza hladin polyklonálních imunoglobulinů měla v naší práci spíše doplňkový charakter, přičemž suprese nepostíženého imunoglobulinu IgM byla zaznamenána pouze u dvou jedinců s biklonální gamapatií IgG-IgA. Při analýze vzorků sér s využitím HevyLite™ systému byly zjištěny výraznější rozdíly, neboť se jedná o izotypově specifickou analýzu. Největší rozdíly v hladinách a zejména v patologii HLC indexu byly patrné ve třídách IgA a IgM, což je v souladu s předchozími sděleními, naopak v případě IgG třídy nebyly rozdíly tak výrazné, zřejmě z důvodu poměrně vysoké fyziologické variability hladin IgG imunoglobulinu [22, 23]. V případě IgG-IgG BGUS však analýza HLC indexu zcela selhává. Přestože HLC analýza zatím nepatří k běžně využívaným metodám a dosud nemá své jasné indikace, již několik prací potvrdilo přínos v detailnější stratifikaci jedinců s MGUS do prognostických skupin [13, 14, 15]. Recentně publikovaná práce Katzmanna et al. poukazuje na jednoznačný přínos stanovení alternativního HLC páru pro prognózu jedinců s MGUS a umožňuje dále optimalizovat i zavedený Rajkumarův stratifikační systém [14].

Závěr

BGUS patří mezi méně obvyklé klinické jednotky a ačkoliv je známo, že mají stejné biologické chování jako MGUS, velká část prognostických ukazatelů (zejména stanovení VLŘ) využívaných ve stratifikaci MGUS u této jednotky selhává. Pro detailní došetření a zejména pak určení rizikovitosti BGUS bude zřejmě nezbytné využití technik multiparametrické průtokové cytometrie s izolací a separací jednotlivých buněčných klonů s následnou molekulárně-cytogenetickou analýzou či vyšetřením profilu genové exprese, a tím i posouzením rizika možné maligní transformace. Z klinického pohledu nadále platí doporučení klinicko-laboratorního sledování v tří až šestiměsíčních intervalech.

Literatura

1. Špička, I. et al. Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie. Galén 2005, Praha, p. 39-60.
2. The International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Brit J Haematol*, 2003, 121, p. 749-757.
3. Kyle, R. A., Therneau, T. M., Rajkumar, S. V. et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N. Engl. J. Med.*, 2006, 354, p. 1362-9.
4. Ščudla, V., Pika, T. Monoklonální gamapatie nejistého významu ve světle současných poznatků. *Klin. Biochem. Metab.*, 2009, 38, p. 62-71.
5. Kyle, R. A., Therneau, T. M., Rajkumar, S. V. et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, p. 564-569.
6. Baldini, L., Guffanti, A., Cesana, B. M. et al. Role of different hematologic variables in defining the risk of malignant transformation in monoclonal gammopathy. *Blood*. 1996, 87, 912-918.
7. Cesana, C., Klersy, C., Barbarano, L. et al. Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.* 2002, 20, 1625-1634.
8. Veneri, D., Agel, H., Franchini, M. et al. Malignant evolution of monoclonal gammopathy of undetermined significance: analysis of 633 consecutive cases with a long term follow-up. *Haematologica*. 2004, 89, 876-878.
9. Sackmann, F., Pavlovsky, M. A., Corrado, C. et al. Prognostic factors in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica*. 2008, 93, 153-154.
10. Rajkumar, S. V., Kyle, R. A., Therneau, T. M. et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*. 2005, 106, 812-817.
11. Pika, T., Minařík, J., Lochman, P., Bačovský, J., Ščudla, V. Sérové hladiny volných lehkých řetězců imunoglobulinu u monoklonální gamapatie nejistého významu a jejich přínos pro stratifikaci a sledování. *Transfuz. Hematol. dnes*. 2011, 17, 177-181.
12. Kyle, R. A., Durie, B. G. M., Landgren, O. 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, 1121-1127.
13. Katzmann, J. A., Clark, R., Dispenzieri, A. et al. Isotype-specific heavy/light chain (HLC) suppression as a predictor of myeloma development in monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Blood* 2009, 114, abstract 1788.
14. Katzmann, J. A., Clark, R., Kyle, R. A. et al. Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS. *Leukemia* 2012, 10.1038/leu.2012.189.
15. Pika, T., Lochman, P., Klincová, M. et al. Suprese alternativního páru imunoglobulinu koreluje s mírou rizikovitosti MGUS výrazněji nežli suprese hladin polyklonálních imunoglobulinů – dílčí výsledky vyšetření HevyLite™ u MGUS. *Klin. Biochem. Metab.* 2012, 41, 63-71.
16. Kyle, R. A., Robinson, R. A., Katzmann, J. A. The clinical aspects of biclonal gammopathies. *Am. J. Med.* 1981, 71, 999 – 1008.
17. Tichý, M., Vávrová, J., Maisnar, V. Zdvojené paraproteinémie. *Klin. Biochem. Metab.* 2011, 19, 91-92.
18. Tichý, M., Maisnar, V. Zdvojené gamapatie. In *Maisnar, V., Tichý, M. et al., Monoklonální imunoglobuliny – výskyt, význam a možnosti jejich průkazu*. Nucleus –HK, Hradec Králové, 2012, p. 104 – 107.
19. Mahto, M., Balakrishnan, P., Koner, B. C. et al. Rare case of biclonal gammopathy. *IJCRI* 2011, 2. 11-14.
20. Bradwell, A. R. Serum free light chain measurements move to center stage. *Clin. Chem.*, 2005, 51, 5, p. 805-807.

21. **Bradwell, A. R.** Implementation and interpretation of free light chain assays. In *Bradwell A. R, Serum free light chain analysis, 5th edition*. Birmingham, The Binding Site Ltd., 2008, p. 215 - 222.
22. **Bradwell, A. R.** Analysis of immunoglobulin heavy chain/light chain pairs (Hevylite™). In *Bradwell A. R, Serum free light chain analysis, 6th edition*. Birmingham, The Binding Site Ltd., 2010, p. 301-320.
23. **Bradwell, A. R., Harding, S., Fourrier, N. J. et al.** Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clin. Chem.*, 2009, 55, 1646-55.

Sdělení bylo zpracováno s podporou grantu IGA MZČR NT/14400.

Do redakce došlo 2. 2. 2013

Adresa pro korespondenci
MUDr. Tomáš Pika, Ph.D.
III. interní klinika- NRE, Fakultní nemocnice Olomouc
I. P. Pavlova 6, 775 20, Olomouc
Tel.: 585 853 362
Email: tomas.pika@seznam.cz