

La Macroglobulinemia di Waldenström

Test Medici



SUPPORT • EDUCATION • RESEARCH

IWMF

International Waldenström's
Macroglobulinemia Foundation



MACROGLOBULINEMIA DI WALDENSTRÖM

ANALISI MEDICHE

Dichiarazione di vision di IWWMF

Un mondo senza WM (Macroglobulinemia di Waldenström).

Dichiarazione di mission di IWWMF

Sostenere e informare chiunque si trovi ad affrontare la Macroglobulinemia di Waldenström (WM) mentre continuano i progressi della ricerca per pervenire a una cura.

Per realizzare questa vision, l'IWWMF offre a pazienti affetti da WM, operatori di cura, familiari e amici sei preziosi strumenti:

- **Informazione** attraverso il nostro sito web e le nostre **pubblicazioni** scritte in maniera facilmente comprensibile ai pazienti per promuovere la conoscenza di questa rara malattia
- **Istruzione** presso il nostro Forum annuale di istruzione che permette a pazienti e operatori di cura di acquisire nozioni su questa malattia attraverso presentazioni di medici e ricercatori nel campo della WM
- **Aggiornamenti costanti** sulla WM e l'IWWMF, forniti attraverso la nostra rivista trimestrale **IWWMF Torch** e i nostri **Bollettini**
- **Sostegno** tra pari attraverso la condivisione dell'esperienza di altri individui che si sono trovate nella stessa situazione
- **Informazione** rivolta a medici e operatori sanitari che hanno una limitata esperienza su questa rara malattia
- **Ricerca** rivolta a migliorare i trattamenti mentre si continua a ricercare una cura
Poiché la WM è una malattia rara, l'IWWMF si affida a tutte le persone per il proprio sostegno finanziario e ai volontari per lo svolgimento di gran parte del proprio lavoro.

Publicato da International Waldenström's Macroglobulinemia Foundation (IWWMF)

Queste informazioni sono fornite gratuitamente dall'IWWMF. Ti chiediamo di prendere in considerazione di aderire e/o dare un contributo alla IWWMF per permetterci di continuare a fornire materiali come questo e di promuovere la ricerca al fine di ottenere sempre migliori trattamenti e la guarigione per la Macroglobulinemia di Waldenström. Puoi aderire e/o versare un contributo sul nostro sito web, www.iwwmf.com, oppure inviare un'offerta a: 6144 Clark Center Avenue, Sarasota, FL 34238.

La IWWMF è un'organizzazione non-profit esentasse 501(c)(3), Fed ID #54-1784426.

Revisione del 2020

PREMESSA E RINGRAZIAMENTI

Questa pubblicazione è stata preparata per coloro che sono interessati alla Macroglobulinemia di Waldenström (WM). In generale, lo scopo è quello di fornire una pubblicazione di riferimento semplice sulle analisi mediche normalmente impiegate per la diagnosi e il monitoraggio dello stato di malattia in pazienti affetti da WM, con particolare attenzione all'esame emocromocitometrico completo (CBC), alla conta differenziale dei globuli bianchi e alle immunoglobuline.

I nostri più sentiti ringraziamenti vanno al Dr. Jorge Castillo, MD, del Dana-Farber Cancer Institute per la sua revisione medica della versione 2020.

Originariamente scritto dal Dr. Guy Sherwood, MD, CCFP, FAAFP, 2007

Revisione di Linda Nelson e Sue Herms, 2016, 2020

Copyright 2007, 2016, 2020 dell'IWMF

Indice

Introduzione	1
Esami del sangue e del siero per i pazienti affetti da WM	1
<i>Esame emocromocitometrico completo (CBC) e conta differenziale dei globuli bianchi</i>	1
<i>Conta reticolocitaria</i>	6
<i>Immunoglobuline sieriche</i>	7
<i>Viscosità sierica</i>	12
<i>Catene leggere sieriche libere (sFLC, di tipo kappa e lambda)</i>	13
<i>Beta 2 microglobulina sierica</i>	14
Altri esami selezionati per i pazienti affetti da WM	14
<i>Pannello metabolico di base e pannello metabolico completo</i>	14
<i>Esami delle urine</i>	14
<i>Biopsia del midollo osseo (BOM)</i>	15
<i>Citometria a flusso</i>	15
Analisi genetiche	16
<i>Reazione a catena della polimerasi (PCR)</i>	16
<i>Sequenziamento del genoma</i>	16
Analisi per alcune condizioni associate alla WM	17
<i>Amiloidosi</i>	17
<i>Anemia</i>	17
<i>Malattia da agglutinine fredde (CAD)</i>	18
<i>Crioglobulinemia</i>	19
<i>Neuropatia periferica (PN)</i>	19
<i>Disturbi visivi</i>	19

Introduzione

Solitamente, le prime fasi del processo di cura includono un colloquio con il proprio medico e la condivisione della propria storia medica. L'esame obiettivo eseguito del vostro medico identifica le alterazioni corporee, individuando problemi e anomalie fisiche. Da tali informazioni derivano diverse diagnosi provvisorie o differenziali.

A questo punto, di norma, vengono prescritte delle analisi che aiutano il medico a restringere il campo di ricerca della diagnosi corretta e a raggiungere un accordo provvisorio sugli obiettivi terapeutici. Le analisi mediche, di per sé, non portano alla diagnosi e non costituiscono l'unico fattore determinante per stabilire una terapia; rappresentano piuttosto una tessera del puzzle e come tale devono essere considerate.

Le seguenti analisi mediche sono accompagnate da informazioni sui segni e i sintomi tipicamente riscontrabili in pazienti affetti da WM. Tuttavia, è importante riconoscere che i pazienti le cui analisi presentano valori simili possono presentare sintomi di tipo e intensità marcatamente diversi. I pazienti devono essere coscienti del fatto che molti di questi sintomi e segni, nonché i risultati delle analisi mediche, possono essere associati anche ad altre condizioni e che la causa non è necessariamente la WM.

Le seguenti sezioni, ove applicabile, includono i "risultati normali" in unità metriche. Il sistema metrico è praticamente d'uso universale nei sistemi sanitari di tutto il mondo; la principale differenza tra le varie nazioni è costituita dalla nomenclatura di concentrazione utilizzata. I "risultati normali" qui riportati per ciascuna analisi sono approssimativi, poiché ogni laboratorio stabilisce i propri intervalli "normali" di riferimento, che trovate accanto ai vostri risultati personali. Gli intervalli di riferimento del vostro laboratorio potrebbero differire leggermente da quelli sottoindicati.

Esami del sangue e del siero per i pazienti affetti da WM

Il sangue è un tessuto fluido che svolge molte importanti funzioni vitali nel corpo umano. La più importante di queste funzioni è il trasporto e l'erogazione di ossigeno dai polmoni ai tessuti del corpo e il successivo trasporto dei gas di scarto, principalmente l'anidride carbonica, dai tessuti del corpo ai polmoni, perché siano eliminati. Il sangue svolge altre funzioni vitali, come il trasporto e la distribuzione delle cellule del sistema immunitario, la coagulazione, la partecipazione ai sistemi di mantenimento dell'equilibrio acido-base e del bilancio idrico del corpo, la regolazione della temperatura corporea, il trasporto di nutrienti e ormoni ai tessuti corporei e il trasporto dei rifiuti, per la loro successiva eliminazione, a livello di reni, polmoni e tessuti cutanei.

Il sangue è circa tre volte più denso dell'acqua, ha un gusto lievemente salato ed è leggermente alcalino o basico (pH 7,4). Le arterie trasportano sangue ricco di ossigeno, rosso vivo, dai polmoni ai tessuti, mentre le vene trasportano sangue povero di ossigeno, rosso scuro, dai tessuti nuovamente ai polmoni.

Il sangue presenta due componenti principali: il plasma, che è la porzione liquida, di color paglierino chiaro, che contiene proteine, enzimi, nutrienti e altre molecole disciolte; e gli elementi figurati che sono globuli rossi, globuli bianchi e piastrine.

Alcuni dei seguenti esami ematici vengono eseguiti su sangue intero, mentre altri solo sulla componente sierica. Il siero è costituito dal plasma senza i fattori di coagulazione. Se viene prelevato sangue intero per gli esami sierologici, questo viene lasciato coagulare e il siero viene drenato per effettuare ulteriori analisi.

Esame emocromocitometrico completo (CBC) e conta differenziale dei globuli bianchi

L'esame emocromocitometrico completo (Complete Blood Count, CBC), o più semplicemente emocromo completo, consiste in un insieme di esami di routine che valutano i globuli rossi, i globuli bianchi e le piastrine. L'emocromo è un esame automatizzato che può essere realizzato in modo rapido e, occasionalmente, richiede una valutazione definitiva da parte di un anatomo-patologo o di un ematologo mediante esame microscopico diretto. L'emocromo misura l'ematocrito, l'emoglobina, il volume (MCV) dei singoli globuli rossi (GR), l'emoglobina per GR (MCH), la concentrazione di emoglobina nei globuli rossi (MCHC) e il numero di globuli rossi, globuli bianchi (GB) e piastrine. La conta differenziale dei globuli

bianchi o “formula leucocitaria” conta i singoli tipi di globuli bianchi, compresi neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili e basofili. Se la conta automatizzata è anormale, si esegue una conta differenziale manuale per verificare i risultati. La formula leucocitaria manuale è una procedura piuttosto laboriosa e comporta la preparazione di un vetrino per microscopia, la conta visiva delle cellule e l’analisi della loro morfologia al microscopio.

Questa sezione passerà in rassegna più dettagliatamente:

1. i globuli rossi: compresi la conta dei globuli rossi, l’ematocrito, l’emoglobina e gli indici eritrocitari (MCV, MCH e MCHC);
2. i globuli bianchi o leucociti: comprese la conta leucocitaria e la formula leucocitaria;
3. le piastrine: conta piastrinica e volume piastrinico medio.

1. I globuli rossi

Conta dei globuli rossi (GR)

Il ruolo più importante del globulo rosso è quello di trasportare ossigeno dai polmoni ai tessuti e trasportare successivamente i gas di scarto dai tessuti ai polmoni per la loro eliminazione.

Perché si esegue questo esame?

1. Per valutare il numero e le dimensioni dei globuli rossi.
2. Per determinare il contenuto e le caratteristiche dell’emoglobina dei globuli rossi.
3. Per contribuire alla diagnosi di problemi di salute collegati al sangue.

Quali sono i risultati normali?

1. **Uomini:** 4,2-5,4 milioni di GR per microlitro di sangue ($4,2-5,4 \times 10^{12}/l$). **Donne:** 3,6-5,0 milioni di GR per microlitro di sangue ($3,6-5 \times 10^{12}/l$).

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Una riduzione del numero di globuli rossi può indicare anemia, sovraccarico di liquidi o grave sanguinamento.
2. Un numero elevato può indicare policitemia (uno stato patologico caratterizzato dall’aumento dei GR).
3. Sono necessari ulteriori esami per determinare la diagnosi precisa.

Ematocrito (Hct)

Quest’analisi misura semplicemente la percentuale (%) di globuli rossi in un campione di sangue. I risultati possono variare in base al sesso e all’età del paziente, con individui più giovani come lattanti e bambini che presentano valori più bassi.

Perché si esegue questo esame?

1. Per facilitare la diagnosi di malattie del sangue.
2. Per aiutare a calcolare il volume e la concentrazione delle cellule del sangue.

Quali sono i risultati normali?

1. **Uomini:** 42% + 54%. **Donne:** 38% + 46%.

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Un ematocrito basso può indicare anemia, sovraccarico di liquidi o una significativa perdita di sangue.
2. Un ematocrito alto può indicare policitemia, disidratazione o altre condizioni.

Emoglobina (Hb o Hgb)

La molecola di emoglobina è la metallo-proteina contenente ferro presente nei globuli rossi. La sua funzione è trasportare l'ossigeno nel sangue. L'emoglobina costituisce fino al 97% del peso secco del GR. Il valore di emoglobina indicato nell'emocromo completo misura la quantità di emoglobina per volume di sangue intero.

Perché si esegue questo esame?

1. Per rilevare anemia o policitemia o per valutare la risposta a varie terapie.
2. Per fornire ulteriori informazioni oltre a quelle ottenute dall'emocromo completo.

Quali sono i risultati normali?

1. La concentrazione di emoglobina varia leggermente a seconda del tipo di campione ottenuto (campione capillare dal dito, circolazione centrale attraverso una via venosa centrale, o più frequentemente vene periferiche). I valori di Hb dipendono anche dal sesso della persona e il valore massimo diminuisce con l'età dell'individuo.
2. **Uomini:** 14-18 g/dl o 140-180 g/l. **Donne:** 12-16 g/dl o 120-160 g/l.

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Valori di emoglobina bassi possono indicare anemia, recente perdita di sangue o sovraccarico di liquidi.
2. Valori di emoglobina elevati si osservano comunemente nella policitemia o nella disidratazione.

Indici eritrocitari

Gli indici eritrocitari forniscono informazioni importanti sul volume e le dimensioni (MCV), il peso dell'emoglobina (MCH) e la percentuale di emoglobina (MCHC) dei globuli rossi presenti in un dato campione.

Perché si esegue questo esame?

1. L'informazione è importante per la diagnosi e la valutazione di un'anemia.

Quali sono i risultati normali?

1. MCV (volume corpuscolare medio), rapporto tra ematocrito e conta di globuli rossi: 80-100 fl.
2. MCH (emoglobina corpuscolare media), peso dell'emoglobina in un globulo rosso medio: 26-32 pg.
3. MCHC (concentrazione corpuscolare media di emoglobina), la percentuale di emoglobina in un dato volume di globuli rossi: 30-60% g/dl.

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Il MCV calcola le dimensioni medie dei GR e rileva se essi sono microcitici (piccoli), macrocitici (grandi) o normocitici (normali). GR piccoli sono comunemente osservati nell'anemia da carenza di ferro, mentre GR grandi sono tipici di alcuni stati di carenza vitaminica. Il MCV è un valore chiave nel valutare un'anemia.
2. L'MCH fornirà spesso indizi sullo stato della sintesi dell'emoglobina. Valori bassi sono osservati negli stati di malattia cronica, nell'anemia da deficit di ferro, ecc.
3. I valori di MCHC sono utili nel distinguere i globuli rossi normocromici (di colore normale) dai globuli rossi ipocromici (più pallidi) e ipercromici (più scuri), che possono essere presenti in alcuni stati patologici.

Ampiezza di distribuzione dei globuli rossi (RDW)

La RDW fornisce una misura quantitativa della variazione di dimensioni dei GR circolanti.

Perché si esegue questo esame?

1. Un test piuttosto avanzato per valutare grossolanamente la distribuzione per età della popolazione dei globuli rossi, in quanto i GR più giovani sono più grandi dei GR vecchi.

Quali sono i risultati normali?

1. 13,5% + 15,5%.

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Un valore aumentato può spesso indicare una risposta alla terapia per un'anemia, in quanto i GR giovani (più grandi) sono prodotti a una velocità maggiore del solito.
2. Un valore basso suggerirà una popolazione di GR statica, con scarsa variabilità nelle dimensioni (e nell'età).

2. I globuli bianchi

Conta dei globuli bianchi (GB)

Conosciuta anche come conta leucocitaria, la conta dei globuli bianchi (GB) determina quanti globuli bianchi ci sono in un volume dato di sangue. In un giorno qualsiasi, i GB possono variare di un valore che arriva fino a 2000, a causa di esercizio intenso, stress o infezione. Il numero di globuli bianchi può aumentare o diminuire significativamente in alcune malattie, ma come strumento diagnostico la conta leucocitaria è utile soprattutto se si tengono in considerazione anche la conta differenziale e lo stato di salute del paziente.

Perché si esegue questo esame?

1. Per individuare infezione, infiammazione e alcuni tumori ematologici.
2. Per determinare la necessità di ulteriori valutazioni, come la formula leucocitaria o l'aspirato e la biopsia del midollo osseo.
3. Per monitorare la risposta di un paziente a una terapia oncologica.

Quali sono i risultati normali?

1. Le conte leucocitarie normali variano da 4000 a 10.000 GB per millimetro cubo (mm^3) di sangue intero ($4-10 \times 10^9/\text{l}$).

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Una conta leucocitaria elevata, definita leucocitosi, spesso indica infezione. Anche eventi stressanti come traumi, ictus o attacchi cardiaci possono innalzare transitoriamente i GB. Alcuni tumori ematologici sono caratterizzati da un aumento della conta leucocitaria. Alcuni individui possono presentare una leucocitosi benigna.
2. Una bassa conta leucocitaria, definita leucopenia, spesso indica problemi del midollo osseo. Agenti chimici tossici e infezioni virali possono causare una riduzione dei GB. Influenza o altre infezioni virali, febbre tifoide, morbillo, mononucleosi infettiva, epatite e rosolia possono caratteristicamente causare leucopenia. Alcuni individui possono presentare una leucopenia benigna.

Conta differenziale dei globuli bianchi

La formula leucocitaria, o conta differenziale dei globuli bianchi, è usata per valutare la distribuzione dei cinque principali tipi di globuli bianchi, o leucociti: neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili e basofili.

Perché si esegue questo esame?

1. Per valutare la capacità dell'organismo di resistere a e superare un'infezione.
2. Per determinare lo stadio e la gravità di un'infezione.
3. Per individuare infezioni parassitarie.
4. Per individuare e valutare reazioni allergiche.
5. Per individuare e identificare vari tipi di leucemia e linfoma.

Quali sono i risultati normali?

La tabella seguente fornisce i livelli relativi dei cinque tipi di globuli bianchi classificati nella formula leucocitaria. In alcuni laboratori viene utilizzato il termine "granulociti", che si riferisce al numero totale e/o alla percentuale di globuli bianchi che contengono granulazioni nel citoplasma. Questi comprendono neutrofili, eosinofili e basofili.

Tipo cellulare	Percentuale di cellule	Numeri assoluti
Neutrofili	48% - 77%	$1,9-8,0 \times 10^3/\text{mm}^3$
Linfociti	16% - 43%	$0,9-5,0 \times 10^3/\text{mm}^3$
Monociti	0,6% - 9,6%	$0,16-1,0 \times 10^3/\text{mm}^3$
Eosinofili	0,3% - 7%	$0,0-0,8 \times 10^3/\text{mm}^3$
Basofili	0,3% - 2%	$0,0-0,2 \times 10^3/\text{mm}^3$

Qual è il significato di un risultato anormale?

La tabella seguente riassume il modo in cui distribuzioni differenziali anormali di globuli bianchi possono indicare un'ampia gamma di malattie e condizioni patologiche:

	Aumentato da:	Diminuito da:
Neutrofili	<ul style="list-style-type: none">• Infezioni• Traumi• Malattie metaboliche• Risposta allo stress• Malattia infiammatoria• Leucemie	<ul style="list-style-type: none">• Soppressione midollare• Infezioni• Malattie di fegato e milza• Malattie vascolari del collagene• Carenza vitaminica
Eosinofili	<ul style="list-style-type: none">• Malattie allergiche• Infezioni parassitarie• Malattie cutanee• Neoplasie maligne• Vari altri meccanismi	<ul style="list-style-type: none">• Risposta allo stress• Traumi• Sindrome di Cushing
Basofili	<ul style="list-style-type: none">• Leucemie• Anemie emolitiche• Linfoma di Hodgkin• Malattia infiammatoria cronica• Malattia renale	<ul style="list-style-type: none">• Ipertiroidismo• Ovulazione• Gravidanza• Stress
Linfociti	<ul style="list-style-type: none">• Infezioni• Disturbi endocrini• Malattie immunitarie• Leucemia linfatica cronica• Malattie infiammatorie	<ul style="list-style-type: none">• Grave malattia• Terapia corticosteroidica• Immunosoppressione• Chemioterapia• Neoplasie maligne
Monociti	<ul style="list-style-type: none">• Infezioni• Malattie vascolari del collagene• Leucemie• Linfomi	<ul style="list-style-type: none">• Immunosoppressione

3. Le piastrine

Conta piastrinica

Le piastrine, o trombociti, sono i più piccoli elementi figurati del sangue. Esse favoriscono la coagulazione del sangue dopo una lesione.

Perché si esegue questo esame?

1. Per contribuire a determinare se il sangue coagula normalmente.
2. Per valutare la funzione piastrinica.
3. Per determinare gli effetti della chemioterapia o della radioterapia sulla produzione di piastrine.
4. Per diagnosticare e monitorare un grave aumento o una grave diminuzione della conta piastrinica.

Quali sono i risultati normali?

1. Le conte piastriniche normali variano da 130.000 a 400.000 piastrine per mm³ di sangue intero (130-400 × 10⁹/l).

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Basse conte piastriniche (trombocitopenia) possono essere causate dalla soppressione del midollo osseo dovuta a un tumore o a un'infezione, da carenza di acido folico o vitamina B12, dall'intrappolamento delle piastrine in una milza ingrandita, da un aumento della distruzione delle piastrine causato da patologie immunitarie o da danno meccanico alle piastrine. Una conta piastrinica che scende sotto 20.000 può talvolta causare un sanguinamento spontaneo. Quando scende sotto 5.000 può verificarsi un sanguinamento letale nel sistema nervoso centrale o una massiva emorragia gastrointestinale. Alcuni individui possono presentare una trombocitopenia benigna.
2. Un'elevata conta piastrinica (trombocitosi) può essere causata da un grave sanguinamento, da un'infezione, da un tumore, da un'anemia da carenza di ferro o da un intervento chirurgico, una gravidanza o un'asportazione della milza recenti. Una conta elevata può anche essere causata da patologie infiammatorie. Alcuni individui possono presentare una trombocitosi benigna.

Volume piastrinico medio (MPV)

Ulteriori informazioni sulla funzione piastrinica si ottengono dal volume piastrinico medio (MPV).

Perché si esegue questo esame?

1. La misurazione delle dimensioni medie delle piastrine spesso può offrire prove indirette della patogenesi della trombocitopenia (bassa conta piastrinica).

Quali sono i risultati normali?

1. Le dimensioni medie delle piastrine sono 7,2-11,1 fl.

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Si osservano piastrine di grandi dimensioni in presenza di trombocitopenia derivante da un'aumentata distruzione delle piastrine, o raramente nei difetti congeniti della funzione piastrinica.
2. Il volume piastrinico medio aumenta perché le nuove piastrine, più grandi, rappresenteranno una percentuale maggiore delle piastrine circolanti.
3. Un minore MPV può essere osservato nelle malattie del midollo osseo, in cui la produzione di piastrine di buona qualità risulta compromessa.

Conta reticolocitaria

I reticolociti sono globuli rossi immaturi. Essi sono generalmente più grandi dei globuli rossi maturi. Si può valutare l'effettiva produzione di GR misurando la conta reticolocitaria. Il numero di reticolociti è espresso come percentuale della conta totale dei globuli rossi. Generalmente, quanto più è alta la conta reticolocitaria, tanto più ampia sarà la distribuzione dei globuli rossi (RDW).

Perché si esegue questo esame?

1. Per rilevare un'anemia o monitorare il suo trattamento.
2. Per distinguere fra vari tipi di anemia.
3. Per aiutare a valutare le perdite ematiche o la risposta del midollo osseo all'anemia.

Quali sono i risultati normali?

1. I reticolociti costituiscono lo 0,5-2,0% della conta dei globuli rossi.

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Una bassa conta reticolocitaria indica una scarsa produzione di nuovi globuli rossi come avviene nell'anemia ipoplastica o perniciosa. Insufficienza del midollo osseo, anemia aplastica e sindrome mielodisplasica producono ugualmente basse conte reticolocitarie.
2. Una conta reticolocitaria elevata dimostra la risposta a una terapia per anemia, o la risposta del midollo osseo sano ad anemia o perdita di sangue.

Immunoglobuline sieriche

La concentrazione delle immunoglobuline M (IgM) e il suo aumento o diminuzione sono uno dei principali indicatori dell'attività di cellule B tumorali nella WM. I medici utilizzano i livelli di IgM come parte dei criteri per la diagnosi di WM e come marcatore principale della progressione di malattia e dell'efficacia del trattamento. I livelli di IgM sono un indicatore della remissione o della ricaduta di malattia, e molti useranno i livelli di IgM e soprattutto il loro andamento nel tempo come evidenza laboratoristica di quando i sintomi possono comparire e richiedere un trattamento.

La IgM monoclonale è l'immunoglobulina prodotta dalle cellule B monoclonali della WM. Le molecole di IgM monoclonale hanno tutte la stessa composizione molecolare. In rarissime occasioni un paziente con WM può presentare due tipi di proteine IgM monoclonali provenienti da due differenti cloni di cellule B tumorali. Alcuni pazienti possono anche avere una IgM monoclonale proveniente da una linea cellulare tumorale di WM e una seconda immunoglobulina monoclonale di una classe differente (in genere IgG) prodotta da un'altra linea cellulare neoplastica. Anche questo evento è raro e una completa trattazione della biclonalità va oltre lo scopo del presente opuscolo. Le IgM policlonali prodotte dalle cellule B normali del sistema immunitario hanno differenti composizioni molecolari in base all'antigene contro cui le IgM stesse sono dirette. Gran parte delle IgM policlonali è prodotta in risposta a patogeni esterni, mentre la IgM monoclonale delle cellule B della WM è secreta dalle cellule tumorali in assenza di una stimolazione antigenica.

Pazienti e medici devono prestare attenzione alla possibilità che l'IgM monoclonale circolante interferisca con una o più analisi di laboratorio eseguita su analizzatori automatici in fase liquida, precipitando durante l'analisi o a causa delle proprietà leganti specifiche dell'IgM.

In tale situazione gli artefatti più comuni sono un valore basso di colesterolo HDL, un valore elevato di bilirubina, nonché una conta di fosfato inorganico alterata. Altri rari esempi potenziali includono l'interferenza con la misura di colesterolo LDL, proteina C-reattiva, antistreptolisina O, creatinina, glucosio, sodio, cloruro, bicarbonato, azoto ureico, albumina, ferro e calcio inorganico.

Per ottenere misurazioni accurate è possibile ripetere l'analisi sugli stessi campioni utilizzando un metodo diverso o diluendoli. Questi casi possono verificarsi in pazienti i cui medici ignorano la presenza sottostante di proteina monoclonale e possono risultare in una cattiva gestione dei pazienti con gammopatia monoclonale, in particolare per quanto riguarda i valori del colesterolo HDL e LDL e la stima del rischio cardiovascolare.

Le due metodiche di laboratorio più comuni per misurare la concentrazione di IgM nel siero di un paziente sono la nefelometria e l'elettroforesi.

1. Misurazione mediante nefelometria

La nefelometria è una metodica per misurare la "nebulosità" di un liquido come l'acqua potabile. Un termine più comune è "torbidità", analizzata da un nefelometro. Il nefelometro misura la quantità di luce che viene persa per diffusione

nell'attraversamento di una soluzione. Particelle o grandi molecole come la proteina IgM sospese nel siero causano un fenomeno di diffusione della luce.

Un nefelometro legge la luce che viene diffusa dalle particelle, e non l'intensità del fascio diretto una volta che è passato attraverso il campione. Pertanto, un campione senza particelle non causerà una diffusione del fascio luminoso e avrà un valore pari a zero. Se nel campione vengono introdotte delle particelle, o prodotte tramite precipitazione, la luce sarà diffusa e l'intensità della luce diffusa potrà essere misurata con un rilevatore di luce. L'intensità della diffusione della luce è direttamente proporzionale alla quantità di particelle in sospensione nella soluzione.

Il nefelometro è usato per misurare le immunoglobuline (IgG, IgA, IgM e IgD) presenti nel siero. Le IgE vengono misurate con una tecnica più sensibile come il dosaggio immunoenzimatico. Queste tecniche si differenziano in certa misura tra loro, ma in generale al campione di siero viene addizionata una certa quantità di acqua distillata e viene successivamente introdotto uno specifico antigene che indurrà la precipitazione dell'immunoglobulina interessata nella soluzione fino a formare delle piccole particelle. Queste particelle Ig/antigene causeranno la diffusione della luce. La quantità di luce proveniente dal precipitato Ig/antigene può essere confrontata con i valori standardizzati di una concentrazione di Ig nota.

Sia le IgM monoclonali sia quelle policlonali reagiranno con l'antigene e precipiteranno in modo da diffondere la luce. La nefelometria non può stabilire quante delle IgM totali sono monoclonali. Tuttavia, noi sappiamo che in condizioni normali le IgM policlonali di un sistema immunitario normale variano da 50 a 300 mg/dl; possiamo quindi dedurre che un valore di 1000 mg/dl corrisponda a 800 mg/dl di IgM monoclonale (se assumiamo che il valore "normale" medio delle IgM è di 200 mg/dl). Naturalmente, questa è una semplificazione eccessiva, che tuttavia risulta soddisfacente nella maggior parte dei casi in quanto un valore di IgM statico non è importante quanto una misurazione dell'andamento del valore di IgM nel tempo. Tuttavia, occorre tenere in considerazione il fatto che i valori di IgG e IgA sono spesso ridotti nei pazienti con WM.

Perché si esegue questo esame?

1. Per fornire una misurazione rapida e accurata della concentrazione sierica di IgA, IgG e IgM.

Quali sono i risultati normali?

1. IgA: 60-400 mg/dl.
2. IgG: 750-1600 mg/dl.
3. IgM: 50-300 mg/dl.

Qual è il significato di un risultato anormale?

Risultati anormali delle IgA:

1. Livelli aumentati di IgA: infezioni croniche (in particolare dell'apparato gastrointestinale), malattia infiammatoria intestinale, febbre reumatica, MGUS di tipo IgA, mieloma multiplo di tipo IgA.
2. Livelli ridotti di IgA: deficit di IgA ereditario, agammaglobulinemia, ipogammaglobulinemia, gastroenteropatia con perdita di proteine, chemioterapia e/o immunoterapia.

Risultati anormali delle IgG:

1. Livelli aumentati di IgG: mieloma multiplo di tipo IgG, MGUS IgG, infezioni croniche, iperimmunizzazione, epatopatia, artrite reumatoide (e altre malattie del tessuto connettivo), febbre reumatica.
2. Livelli ridotti di IgG: agammaglobulinemia, ipogammaglobulinemia, linfoma, leucemia, preeclampsia, chemioterapia e/o immunoterapia.

Risultati anormali delle IgM:

1. Livelli aumentati di IgM: mononucleosi infettiva, linfosarcoma, macroglobulinemia di Waldenström, MGUS IgM, mieloma multiplo di tipo IgM, artrite reumatoide (e altre malattie del tessuto connettivo).
2. Livelli ridotti di IgM: agammaglobulinemia, ipogammaglobulinemia, leucemia, chemioterapia e/o immunoterapia.

2. Misurazione mediante elettroforesi

L'elettroforesi sieroproteica (ETF) è una tecnica di laboratorio usata molto comunemente per valutare pazienti con livelli elevati di proteine sieriche, come nella MW e nel mieloma multiplo. In alcuni casi, nonostante la presenza di livelli normali di proteine sieriche, si esegue un'elettroforesi per condizioni come disturbi neurologici inspiegati e altre malattie.

L'ETF di base separa le proteine del siero in base alle loro proprietà fisiche: la carica netta (positiva o negativa) delle molecole proteiche, e le dimensioni e la forma delle proteine. Esistono esami elettroforetici particolari che si usano occasionalmente in caso di necessità: tra essi vi sono l'elettroforesi zonale e l'immunofissazione/immunofluorescenza.

Il tracciato di un'elettroforesi tipica dipende dalla concentrazione dei due tipi principali di proteine sieriche: albumina e globuline. L'albumina, prodotta dal fegato, è la principale costituente proteica del siero normale. Le globuline, viceversa, rappresentano in genere una frazione molto più piccola delle proteine sieriche. L'identificazione di sottogruppi di globuline e la determinazione della loro quantità relativa sono i principali obiettivi dell'elettroforesi.

L'albumina, che è la componente principale delle proteine sieriche normali, è rappresentata conseguentemente dal picco più alto del tracciato elettroforetico e si trova nella posizione più vicina all'elettrodo positivo. Le seguenti cinque componenti proteiche rappresentano i sottogruppi di globuline: alfa 1, alfa 2, beta e gamma. I picchi delle globuline migrano in direzione dell'elettrodo negativo, con la frazione gamma che è la più vicina all'elettrodo negativo stesso.

Indicazioni per l'esecuzione dell'elettroforesi sieroproteica

- Sospetto di mieloma multiplo, macroglobulinemia di Waldenström, amiloidosi primaria o patologie correlate.
- Neuropatia periferica inspiegata (non attribuita a un diabete di lunga data, esposizione a tossine, chemioterapia, ecc.).
- Anemia di nuova insorgenza associata a insufficienza renale e dolore osseo.
- Lombalgia con sospetto di mieloma multiplo.
- Ipercalcemia (livelli di calcio elevati nel sangue), perdita di peso, spossatezza, dolore osseo, sanguinamenti anormali.
- Formazioni a rouleaux (impilamento e aggregazione dei globuli rossi) osservate nello striscio di sangue periferico.
- Insufficienza renale associata ad aumento delle proteine sieriche.
- Frattura patologica o lesione litica inspiegata identificata tramite radiografia.
- Proteinuria (presenza di proteine nell'urina) di Bence-Jones.

Componenti delle proteine sieriche

L'albumina costituisce circa il 60% delle proteine sieriche totali. È responsabile del mantenimento della pressione osmotica colloidale del plasma e funge da principale proteina trasportatrice per le grandi molecole come gli acidi grassi, la bilirubina, molti farmaci e alcuni ormoni.

La frazione delle alfa 1 globuline include alfa 1-antitripsina, globulina legante la tiroxina e transcortina. Le alfa 2 globuline sono costituite da ceruloplasmina, alfa2-macroglobulina e aptoglobina.

La frazione delle beta globuline è composta principalmente da transferrina e beta-lipoproteine. Raramente, IgA, IgM e talvolta IgG, insieme a proteine del complemento, possono essere identificate nella frazione beta.

La frazione delle gammaglobuline è particolarmente interessante per i pazienti con WM e i loro medici, in quanto le immunoglobuline migrano verso questa regione del quadro elettroforetico. Benché le immunoglobuline si possano riscontrare nell'intero spettro elettroforetico, le IgM sono tipicamente ben rappresentate nella regione gamma. La proteina C-reattiva (PCR), un indicatore infiammatorio, è localizzata nell'area tra le frazioni beta e gamma. La figura 1 sottostante mostra il tracciato di un'elettroforesi tipica.

Interpretazione dei risultati dell'elettroforesi

I livelli delle proteine sieriche variano in risposta ai cambiamenti fisiologici dell'organismo dovuti a infiammazione acuta, neoplasie maligne, lesioni traumatiche, necrosi tissutale, ustioni e lesioni chimiche.

Come sottolineato in precedenza, l'interpretazione dell'elettroforesi è principalmente focalizzata sulla regione gamma, che contiene le immunoglobuline. Benché molte condizioni possano causare un aumento in regione gamma, diversi stati patologici possono causare la comparsa di un picco appuntito omogeneo. Le gammopatie monoclonali, come la WM, la MGUS e il mieloma multiplo, costituiscono un gruppo di malattie caratterizzate dalla proliferazione di un singolo clone di cellule B o plasmacellule immature che producono una proteina M omogenea. In questi casi, alla ETF si osserva un caratteristico picco M. Si veda la figura 2.

Perché si esegue questo esame?

1. Le gammopatie monoclonali sono tipiche di un processo clonale maligno o potenzialmente tale. Le gammopatie policlonali, invece, possono essere il risultato di un ampio numero di processi reattivi o infiammatori, come infezioni, malattie del tessuto connettivo, epatopatie, neoplasie maligne, malattie ematologiche e linfoproliferative, e altre condizioni infiammatorie.

Quali sono i risultati normali?

1. Albumina: 3,3-5,7 g/dl
Alfa 1: 0,1-0,4 g/dl
Alfa 2: 0,3-0,9 g/dl
Beta: 0,7-1,5 g/dl
Gamma: 0,5-1,7 g/dl

2. Una proteina M (proteina monoclonale) è caratterizzata dalla presenza di un picco acuto e ben definito nella regione gamma. Una gammopatia policlonale è caratterizzata da un picco ampio nella regione gamma.

3. È importante notare che in alcuni pazienti l'ETF può apparire normale perché l'immunoglobulina monoclonale completa è assente o presente a un livello inferiore alla sensibilità del test.

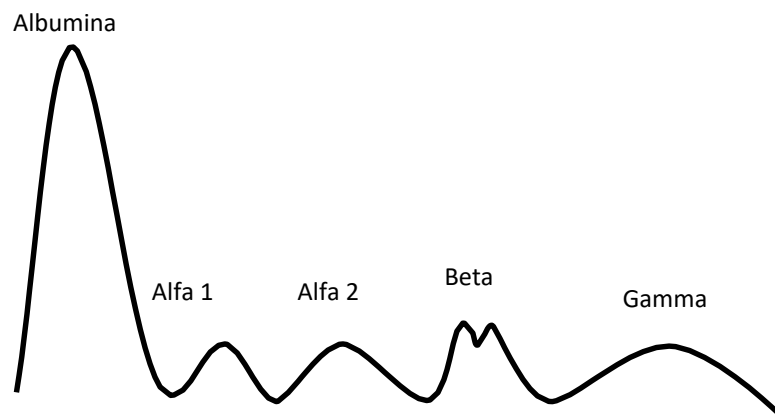


Figura 1 Tipico tracciato elettroforetico normale delle proteine sieriche

Qual è il significato di un risultato anormale?

Dopo avere determinato tramite ETF la presenza di una banda proteica localizzata (picco M) solitamente nella regione gamma, è necessario identificare il tipo di gammopatia tramite elettroforesi per immunofissazione (IFE). Di per sé la presenza di un'anomalia ha raramente valore diagnostico. Tuttavia, fornisce degli indizi. Di solito vengono effettuate delle analisi di follow-up per identificare la natura della patologia sottostante. Queste possono includere la biopsia del midollo osseo, la citometria a flusso, l'analisi delle urine, test genetici per mutazioni specifiche, ecc. Le cause più comuni della gammopatia monoclonale sono la gammopatia monoclonale di significato incerto (MGUS), il mieloma multiplo, la macroglobulinemia di Waldenström, altri linfomi e l'amiloidosi.

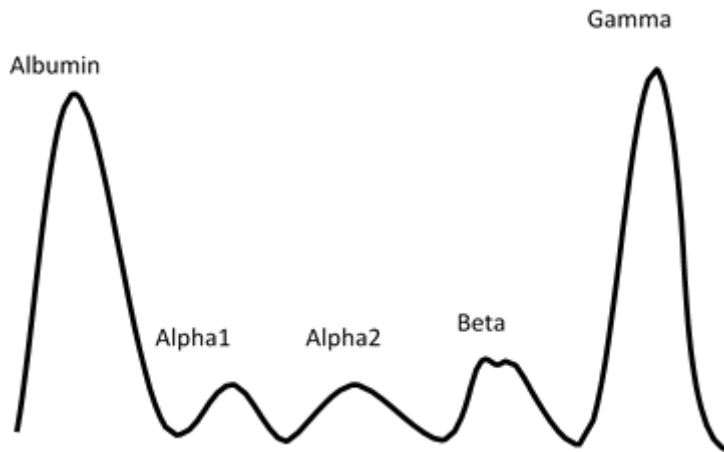


Figura 2 Tracciato elettroforetico delle proteine sieriche (SPE) alterato in un paziente con gammopatia monoclonale.

La seguente tabella riassume i tracciati di elettroforesi proteica e le diverse condizioni e malattie associate:

<p>Aumento dell'albumina Disidratazione</p> <p>Riduzione dell'albumina Malattia cronica cachettica o debilitante Infezioni croniche Emorragia, ustioni o enteropatia con perdita di proteine Compromissione della funzione epatica derivante da ridotta sintesi di albumina Malnutrizione Sindrome nefrosica Gravidanza</p> <p>Aumento delle alfa 1 globuline Gravidanza</p> <p>Riduzione delle alfa 1 globuline Deficit di alfa 1-antitripsina</p> <p>Aumento delle alfa 2 globuline Insufficienza surrenale Terapia adreno-corticosteroidica Diabete mellito in fase avanzata Sindrome nefrosica</p> <p>Riduzione delle alfa 2 globuline Malnutrizione Anemia megaloblastica Enteropatia con perdita di proteine Grave epatopatia Malattia di Wilson</p>	<p>Aumento delle beta globuline Cirrosi biliare Carcinoma Malattia di Cushing Diabete mellito Ipotiroidismo Anemia da carenza di ferro Ipertensione maligna Nefrosi Poliarterite nodosa Ittero ostruttivo Gravidanza nel terzo trimestre</p> <p>Riduzione delle beta globuline Malnutrizione</p> <p>Aumento delle gammaglobuline Amiloidosi Infezioni croniche Leucemia linfatica cronica Cirrosi Linfoma di Hodgkin Macroglobulinemia di Waldenström Altri linfomi delle cellule B Mieloma multiplo Malattie reumatoidi o del collagene (patologie del tessuto connettivo)</p> <p>Riduzione delle gammaglobuline Agammaglobulinemia Ipogammaglobulinemia</p>
--	---

Viscosità sierica

Per viscosità sierica si intende la proprietà della frazione sierica del sangue di resistere allo scorrimento. È confrontata con la viscosità dell'acqua distillata a temperatura ambiente ed è in funzione della concentrazione di proteine nel siero.

Un'elevata viscosità sierica (iperviscosità) può essere causata da una sovrabbondanza di immunoglobuline, come la IgM nella WM. La plasmferesi è il trattamento di elezione per la gestione iniziale dell'iperviscosità. Il trattamento ottimale dell'iperviscosità è costituito dal trattamento del disturbo sottostante (tramite chemioterapia, immunoterapia, ecc). Se il processo patologico sottostante non viene trattato, l'iperviscosità si ripresenterà dopo la plasmferesi.

Durante l'analisi il siero viene lasciato scorrere attraverso un tubicino (viscosimetro) e la velocità di scorrimento viene cronometrata e confrontata con la velocità di scorrimento dell'acqua distillata. Più il valore della viscosità sierica è elevato, più viscoso (denso) è il siero.

Perché si esegue questo esame?

1. L'analisi della viscosità sierica viene effettuata per monitorare un paziente a rischio di sindrome da iperviscosità.

Quali sono i risultati normali?

1. La viscosità sierica normale è 1,0-1,8.
2. Non esiste una soglia diagnostica (cut off) per l'iperviscosità, in quanto pazienti diversi presenteranno sintomi a valori diversi.

Catene leggere sieriche libere (sFLC, di tipo kappa e lambda)

Quest'analisi viene prescritta per facilitare l'individuazione, la diagnosi e il monitoraggio delle malattie delle cellule plasmatiche, compresa la WM, il mieloma multiplo, e l'amiloidosi, e per monitorare l'efficacia del trattamento. È più sensibile nel rilevare livelli bassi di catene leggere libere nel sangue rispetto alle tradizionali analisi delle proteine sieriche (elettroforesi sieroproteica ed elettroforesi per immunofissazione).

Le immunoglobuline sono formate da due catene leggere e due catene pesanti. Le catene pesanti di ogni molecola di immunoglobulina sono costituite da uno di cinque tipi, indicati con le lettere dell'alfabeto greco mi (μ)-(IgM), gamma (γ)-(IgG), alfa (α)-(IgA), delta (δ)-(IgD) e epsilon (ϵ)-(IgE). Le catene leggere di ogni molecola di immunoglobulina appartengono a uno dei due tipi indicati con le lettere greche kappa (κ) e lambda (λ). In genere, le cellule plasmatiche producono più catene leggere che catene pesanti e più catene leggere κ che catene leggere λ . Le catene leggere in eccesso non si uniscono a catene pesanti e circolano nel sangue come catene leggere libere (FLC).

Nelle malattie delle cellule plasmatiche, come la WM, il mieloma multiplo o l'amiloidosi, le cellule maligne si dividono in maniera incontrollata e producono grandi quantità di un'immunoglobulina monoclonale anormale (proteina M). Questa proteina può assumere la forma di un'immunoglobulina intatta o quella di un suo componente, come una catena leggera kappa o lambda o, raramente, una catena pesante.

L'analisi delle catene leggere sieriche libere può essere eseguita insieme all'elettroforesi sieroproteica per individuare una produzione di proteina monoclonale anormale (proteina M) e calcolare il rapporto tra catene leggere libere kappa e lambda. Se l'elettroforesi delle proteine risulta anormale, si esegue l'elettroforesi per immunofissazione per determinare quale delle immunoglobuline è presente in quantità eccessiva. Se viene identificata una malattia del plasma, l'analisi delle catene leggere libere può essere prescritta periodicamente per monitorare la condizione e valutare l'efficacia del trattamento.

Perché si esegue questo esame?

1. L'analisi delle FLC viene spesso eseguita al momento della valutazione diagnostica iniziale per stabilire un valore basale che serva da riferimento futuro. Tuttavia, ad oggi non è ritenuta necessaria per determinare la risposta alla terapia o per monitoraggi di routine nella maggior parte dei pazienti affetti da WM. Può essere utile per alcuni pazienti in cui è in corso la valutazione per amiloidosi delle catene leggere o malattia da depositi di catene leggere, e per coloro che già presentano una di queste due condizioni.

Quali sono i risultati normali?

1. Kappa (κ): 3,3-19,4 mg/l. Lambda (λ): 5,7-26,3 mg/l.

2. Le catene leggere libere sono normalmente presenti nel sangue a bassi livelli, con un rapporto kappa/lambda di circa 0,26-1,65.

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. Un aumento (monoclonale) del livello delle singole catene leggere coinvolte kappa o lambda ben al di sopra dell'intervallo normale associato a un aumento del rapporto FLC coinvolte/FLC non coinvolte suggerisce che le cellule di WM producono più proteina monoclonale e stanno proliferando. La situazione contraria suggerisce che il paziente potrebbe rispondere al trattamento. Tali valori possono anticipare un cambiamento delle IgM di diverse settimane. Quello che conta è l'andamento.

2. I risultati delle analisi devono essere correlati nel tempo con il livello della proteina M all'ETF, l'IgM alla nefelometria, l'emoglobina, la conta piastrinica, la conta leucocitaria, l'analisi della funzionalità renale, l'analisi del midollo osseo, la

capacità generale del paziente di svolgere le attività quotidiane, lo stato di altre malattie di cui potrebbe soffrire il paziente, e il parere dell'oncologo sullo stato di malattia.

Beta 2 microglobulina sierica

La beta 2 microglobulina sierica (beta-2-M) è una piccola proteina di membrana associata alle proteine del complesso maggiore di istocompatibilità delle catene pesanti di classe I ed è presente sulla superficie di tutte le cellule nucleate. I livelli di beta 2 microglobulina nel siero sono elevati in malattie associate a un turnover cellulare aumentato.

I livelli sono elevati in diverse condizioni benigne come infiammazione cronica, malattie epatiche, disfunzione renale, alcune infezioni virali acute, e in alcune neoplasie maligne, in particolare quelle ematologiche associate alle linee cellulari B, come la WM e il mieloma multiplo.

Perché si esegue questo esame?

Essendo un marcatore non specifico che può essere presente in diverse condizioni, il solo livello elevato di beta 2 microglobulina non può essere utilizzato per stabilire una diagnosi, ma rientra spesso in una serie di esami usati per determinare prognosi e trattamento.

Quali sono i risultati normali?

1. 0-3 µg/ml

Qual è il significato di un risultato anormale?

1. La beta 2 microglobulina può essere elevata in misura proporzionale alla massa tumorale ed è importante, se usata insieme ad altre analisi, per determinare la prognosi. Livelli bassi di beta 2 microglobulina nel siero, se usati insieme ad altre analisi, possono indicare una diminuzione dell'attività della malattia o l'assenza di malattia. Allo stesso modo, livelli in aumento possono riflettere l'aumento del carico di malattia.

Altri esami selezionati per i pazienti affetti da WM

Pannello metabolico di base e pannello metabolico completo

Un pannello metabolico di base (BMP) è un insieme di esami del sangue costituito da sette o otto analisi biochimiche ed è uno dei test di laboratorio più comuni prescritti dagli operatori sanitari. Il BMP fornisce informazioni importanti sullo stato dei fluidi e degli elettroliti (calcio, potassio e sodio), sulla funzionalità renale (azotemia, creatinina) e sui livelli di zucchero (glucosio) nel sangue. È usata spesso come strumento di screening durante l'esame obiettivo, in quanto fornisce una panoramica sulla funzione metabolica dell'organismo. Il pannello metabolico completo (CMP) include analiti aggiuntivi come proteine totali, globulina, albumina, magnesio, e analisi della funzionalità epatica come ALT (alanina aminotransferasi), AST (aspartato aminotransferasi) e bilirubina totale. La discussione di ogni singola analisi esula dagli scopi della presente pubblicazione, ma occorre notare che con la progressione di malattia nella WM i livelli di molti di questi analiti possono essere alterati. In particolare, con l'aumentare delle IgM, le proteine totali e la globulina aumentano e l'albumina può diminuire. Raramente, i pazienti affetti da WM possono presentare complicazioni renali associate alla malattia, che possono risultare in livelli alterati di azotemia, creatinina e determinati elettroliti.

Esami delle urine

Proteine di Bence-Jones: complessi anormali di due unità (dimeri) di catene leggere di immunoglobuline riscontrati nelle urine di alcuni pazienti, in particolare quelli affetti da mieloma multiplo e macroglobulinemia di Waldenström.

L'elettroforesi delle proteine viene eseguita su un campione di urina raccolto su un periodo di 24 ore, seguita da immunofissazione.

Analisi delle urine: esame a basso costo in cui un singolo campione di urina è esaminato alla ricerca di diverse malattie. L'analisi determina la presenza o l'assenza di: peso specifico (concentrazione dell'urina), pH (acidità), proteine (principalmente albumina), glucosio (zucchero), chetoni (prodotti del metabolismo dei lipidi), globuli rossi, globuli bianchi (leucociti), bilirubina (indicativa di epatopatie o distruzione dei globuli rossi), e urobilinogeno (indicativo di epatopatie). L'analisi al microscopio dell'urina può anche individuare la presenza di cellule, batteri o lieviti, e cristalli. Se i risultati presentano delle anomalie, possono essere necessarie ulteriori analisi.

Acido urico: piccolo prodotto di scissione delle purine, che fanno parte del DNA, l'acido urico viene secreto principalmente dai reni e dal tratto gastrointestinale. In caso di aumento di acido urico, questo si deposita sotto forma di cristalli in vari tessuti: le articolazioni del ginocchio, del gomito, della caviglia e, in particolare, dell'alluce sono le aree favorite. "Gotta" è il termine generale usato per indicare la condizione infiammatoria e molto dolorosa causata dalla deposizione di cristalli di acido urico nelle articolazioni. L'acido urico aumenta in presenza di un rapido turnover cellulare, come in caso di tumore (in particolare durante la chemioterapia quando vi sono grandi quantità di cellule che muoiono), in conseguenza di terapia farmacologica (in particolare diuretici e alcuni farmaci chemioterapici), e in molte altre situazioni.

Biopsia del midollo osseo (BOM)

Il midollo osseo è il tessuto molle presente all'interno di alcune ossa (tra cui anca e bacino, sterno, vertebre) ed è la sede in cui sono prodotti i globuli rossi, i globuli bianchi e le piastrine.

L'agoaspirato e la biopsia di midollo osseo vengono eseguiti quando vi è necessità di spiegare un reperto anomalo relativo alla conta dei globuli rossi, dei globuli bianchi o delle piastrine di un soggetto. Questa procedura può anche essere eseguita quando un medico desidera valutare lo stato di una patologia ematologica nota, determinare la necessità di trattamento, determinare se un trattamento per una patologia nota richiede un'ulteriore modifica, o per valutare il risultato di un particolare trattamento (ad es. dopo chemioterapia).

La biopsia del midollo osseo può anche fornire informazioni importanti riguardo a un produzione normale di globuli rossi nel midollo o a eventuali problemi nella produzione di determinate linee cellulari sanguigne.

Questa procedura viene eseguita in anestesia locale o con una blanda sedazione. Le biopsie di midollo osseo sono generalmente ottenute dalla spina iliaca postero-superiore (porzione postero-superiore dell'osso del bacino). La cute è pulita con una soluzione antisettica e la regione è anestetizzata con un anestetico locale. Si introduce un ago di grosso calibro e per l'aspirazione si asporta un campione di liquido in cui è sospeso il midollo osseo. Per ottenere un campione biptico, si asporta una porzione solida di cellule midollari accompagnate da osso. I campioni ottenuti sono valutati da un anatomopatologo e viene formulata una diagnosi. Con i campioni dell'aspirato e della biopsia è possibile eseguire esami più specifici, come la citometria a flusso (si veda oltre) e lo staining delle cellule midollari per identificare antigeni di superficie (immunofenotipizzazione). Il fastidio derivante dalla procedura varia secondo i pazienti: la maggior parte dei soggetti avverte un dolore sordo profondo all'osso durante la procedura e successivamente per alcuni giorni – da qui l'uso diffuso di eseguire la procedura sotto leggera sedazione, se disponibile.

Citometria a flusso

Questo esame misura la percentuale di cellule in un campione di midollo osseo e include informazioni sulle caratteristiche delle cellule: dimensioni, forma, granuli e presenza di marcatori/antigeni tumorali.

Questi antigeni di superficie presenti sulle cellule possono essere identificati tramite anticorpi marcati con molecole fluorescenti. Le cellule marcate con anticorpi vengono sospese in flusso liquido. Tale flusso passa attraverso un'apparecchiatura detta citometria a flusso, uno strumento di rilevazione elettronico su base laser in grado di analizzare migliaia di cellule al secondo, identificarle e isolarle in base alle caratteristiche sopraelencate.

La citometria a flusso può essere utilizzata nella diagnosi della WM. Se nel midollo osseo non sono presenti cellule WM, ma si riscontra la mutazione MYD88 insieme a livelli elevati di IgM o a un picco M di IgM, la diagnosi sarà di MGUS

(gammopatia monoclonale di significato incerto). Un numero elevato di cellule WM è segno di WM attiva o “smoldering” (asintomatica) che probabilmente progredirà in WM.

Analisi genetiche

Reazione a catena della polimerasi (PCR)

La reazione a catena della polimerasi (PCR) è in grado di individuare e identificare organismi patogeni, favorire la diagnosi di malattie genetiche, individuare relazioni biologiche, come la relazione genitore-figlio, e identificare e caratterizzare mutazioni e riarrangiamenti genetici presenti in alcuni tipi di tumore.

La PCR è una tecnica di genetica molecolare utilizzata per amplificare determinati frammenti di DNA o RNA al fine di analizzarli. La PCR è una procedura eseguita in vitro e costituita da cicli termici consistenti in cicli ripetuti di riscaldamento e raffreddamento della reazione che hanno lo scopo di scindere il DNA e replicarlo per via enzimatica. I primer (piccoli frammenti di DNA) contenenti le sequenze complementari alla regione bersaglio e un enzima detto DNA-polimerase sono componenti indispensabili per consentire un’amplificazione selettiva e ripetuta. Con l’avanzare della PCR, il DNA generato viene usato a sua volta come modello per la replicazione, dando il via a una catena di reazioni nella quale il modello di DNA viene amplificato in modo esponenziale. I segmenti amplificati vengono confrontati con altri segmenti di nucleotidi di una fonte conosciuta per verificare se un particolare segmento di DNA è presente nel campione prelevato dal paziente.

La mutazione MYD88 L265P espressa in oltre il 90% dei pazienti affetti da WM può essere individuata mediante la PCR. La presenza o l’assenza di questa mutazione è considerata sempre più importante nella diagnosi e nel trattamento dei pazienti con WM, e la PCR per la mutazione è stata inclusa tra le raccomandazioni per il workup diagnostico della WM. Dal 30% al 40% circa dei pazienti con WM ospitano mutazioni di CXCR4, e la presenza di tali mutazioni è correlabile a ridotti tassi di risposta e minore sopravvivenza libera da progressione con ibrutinib. Le mutazioni di CXCR4 possono manifestarsi come mutazioni frameshift (CXCR4^{FS}), in cui un’inserzione o delezione nella sequenza del DNA determina lo spostamento della cornice (frame) di lettura del DNA, o come mutazioni non senso (CXCR4^{NS}), in cui una mutazione in una sequenza del DNA determina la precoce terminazione della sintesi proteica.

Sequenziamento del genoma

Il sequenziamento completo del genoma (WGS) è un metodo che consente di determinare la sequenza completa del DNA (genoma completo) di un singolo organismo, stabilendo l’ordine dei nucleotidi, o basi (adenina, timina, guanina e citosina), che ne costituiscono il DNA. Quasi ogni campione biologico umano contenente una copia completa di DNA può fornire il materiale genetico necessario per il sequenziamento completo del genoma. Tali campioni includono saliva, cellule epiteliali, midollo osseo, capelli (purché contengano un follicolo), ecc.

Oggi il sequenziamento completo del genoma viene eseguito con strumenti particolari tramite un procedimento automatizzato. In linea di principio il sequenziamento completo del genoma è in grado di fornire dati grezzi su tutti i sei miliardi di nucleotidi presenti nel DNA di un singolo individuo. Poiché il sequenziamento genera molti dati, i risultati vengono archiviati in forma elettronica e richiedono potenza computazionale e capacità di archiviazione elevate.

Il sequenziamento completo del genoma delle cellule WM presenti nel midollo osseo, insieme ad altre analisi di conferma, è stato usato per dimostrare la diffusione dell’espressione della mutazione MYD88 L265P nei pazienti affetti da WM e le mutazioni di CXCR4. La presenza o l’assenza di queste mutazioni è di ausilio alla diagnosi e al trattamento della WM.

Sono disponibili altre variazioni del sequenziamento del genoma, compreso il sequenziamento completo dell’esoma, una tecnica per il sequenziamento delle sole porzioni di DNA che codificano per le proteine (esoma). L’uomo presenta circa 180.000 di questi geni, che rappresentano l’1% circa del genoma umano, o approssimativamente 30 milioni di paia di basi. Lo scopo di questo approccio è identificare le variazioni genetiche responsabili di alcune malattie comuni evitando l’alto costo attualmente sostenuto per il sequenziamento completo del genoma.

Il sequenziamento del genoma, pur non essendo attualmente impiegato nel setting clinico della WM, è divenuto uno strumento di ricerca ampiamente diffuso, è alla base di molte scoperte recenti sulla malattia e viene incluso nelle analisi svolte in alcuni trial clinici. Con il diminuire dei costi del sequenziamento del genoma, possiamo aspettarci di vedere aumentare il suo utilizzo clinico.

Analisi per alcune condizioni associate alla WM

Amiloidosi

L'amiloidosi è un gruppo di malattie a eziologie differenti caratterizzate dall'accumulo di proteine fibrillari insolubili (amiloide) in vari organi e tessuti del corpo, in modo tale da compromettere le funzioni vitali. Gli stati patologici associati possono essere infiammatori, ereditari o neoplastici, e la deposizione può essere locale o sistemica. Nella WM l'amiloidosi è generalmente causata da frammenti di catene leggere e interessa principalmente i reni e il cuore.

Per diagnosticare un'amiloidosi e determinare quali parti del corpo ne sono colpite possono essere usati molti esami. Una biopsia è il solo modo per formulare una diagnosi definitiva di amiloidosi. La biopsia consiste in una piccola quantità di tessuto, in genere grasso addominale, colorata per la presenza di amiloide ed esaminata al microscopio. Un metodo alternativo è una biopsia mediante agoaspirato (Fine Needle Aspiration Biopsy, FNAB) di grasso sottocutaneo. Indagini di diagnostica per immagini possono essere utilizzate per rilevare se sono colpiti organi come il cuore o i reni. Le biopsie possono anche essere prelevate da fegato, nervi, cuore o reni. Queste procedure sono più invasive.

L'immunofluorescenza diretta è usata per rilevare la presenza di depositi di immunocomplessi in tessuti come i reni e nella diagnosi istologica di amiloidosi. In questa tecnica una molecola di interesse è rilevata direttamente, usando un anticorpo marcato con una molecola fluorescente.

Una volta effettuata la diagnosi, lo stato di attività della malattia nei pazienti con amiloidosi delle catene leggere può essere monitorato tramite l'analisi delle catene leggere libere descritto nella sezione precedente.

Anemia

La definizione più semplice di anemia è una condizione che si verifica quando i globuli rossi di un individuo sono insufficienti. È la patologia del sangue più comune e la manifestazione più classica dell'infiltrazione linfoplasmocitica nel midollo osseo dei pazienti affetti da WM. I sintomi dell'anemia spesso danno inizio al percorso che conduce a una diagnosi di WM. Questi possono includere: pallore, debolezza, affaticamento, stordimento, palpitazioni e affanno.

Per diagnosticare l'anemia, un medico può ricorrere all'anamnesi patologica e familiare, eseguire un esame obiettivo e prescrivere un esame emocromocitometrico completo (CBC), descritto in precedenza in questa pubblicazione. Sono particolarmente interessanti il numero dei globuli rossi, l'ematocrito, l'emoglobina e gli indici eritrocitari. I globuli rossi possono anche essere analizzati al microscopio per verificarne dimensioni, forma e colore insoliti.

Il medico può prescrivere analisi aggiuntive per determinare le cause sottostanti. Queste possono includere la ricerca di una fonte di perdita ematica cronica (colonscopia, endoscopia), carenza di ferro (analisi del ferro ematico), carenze vitaminiche, la presenza di agglutinine a freddo, test antiglobulina diretto, esami delle urine, test chimici sierologici, ecc. Nella WM occorre spesso analizzare un campione di midollo osseo per diagnosticare in maniera completa la causa dell'anemia.

Esistono più di 400 tipi di anemia, suddivisi in tre gruppi principali in base alla causa generale:

Anemia da perdita ematica: perdita dei globuli rossi tramite sanguinamento, che si verifica spesso in modo lento e inosservato per un lungo periodo di tempo. Le cause più comuni di questo tipo di sanguinamento cronico sono:

- condizioni gastrointestinali come ulcere, emorroidi, gastriti (infiammazione dello stomaco) e tumori;
- uso di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) come aspirina o ibuprofene, che possono causare ulcere e gastriti;
- altre condizioni mediche come gravidanze multiple e ciclo mestruale abbondante.

Anemia causata da una produzione di globuli rossi ridotta o compromessa: con questo tipo di anemia, l'organismo può produrre un numero troppo esiguo di globuli rossi o le cellule ematiche possono non funzionare correttamente. I globuli

rossi possono essere malfunzionanti o in numero ridotto a causa di alterazioni della forma, anomalie dell'emoglobina, carenza di minerali e vitamine essenziali per una corretta produzione di globuli rossi, o malattie croniche del midollo osseo. Le condizioni associate a queste cause di anemia includono:

- malattie ereditarie – anemia falciforme, talassemia
- anemia da carenza di ferro
- carenza di vitamine, p. es. vitamina B-12 e folati
- disturbi al midollo osseo e alle cellule staminali – anemia aplastica, mielodisplasia
- altre malattie croniche come la leucemia o il linfoma – le cellule tumorali aumentano e affollano le normali cellule staminali del midollo, che non riescono più a fornire all'organismo la quantità necessaria di globuli rossi. Alcuni tumori possono produrre chemochine, o sostanze che possono interferire con il normale meccanismo di formazione dei globuli rossi. Le malattie renali croniche possono causare anemia poiché i reni non producono a sufficienza l'eritropoietina, un ormone che stimola la produzione dei globuli rossi.

Anemia causata dalla distruzione dei globuli rossi: quando i globuli rossi diventano fragili e si rompono prematuramente (emolisi) si parla di anemia emolitica. L'anemia emolitica può essere presente fin dalla nascita o comparire in un secondo momento. A volte le cause restano ignote. Le cause note di anemia emolitica includono:

- fattori di stress come infezioni, farmaci, veleno di serpenti o ragni, o alcuni cibi, come le fave, se il soggetto presenta una carenza di glucosio-6-fosfato-deidrogenasi (G6PD)
- tossine generate da malattie epatiche o renali in stadio avanzato
- protesi vascolari, valvole cardiache prostetiche, tumori, ustioni gravi, esposizione ad alcune sostanze chimiche, grave ipertensione, e disturbi della coagulazione
- una milza ingrossata può intrappolare i globuli rossi e distruggerli prima della normale morte cellulare programmata
- attacco improprio del sistema immunitario: in rari casi di WM, le cellule B tumorali producono IgM monoclonale, che scatena un attacco di anticorpi contro i globuli rossi dell'organismo stesso a basse temperature, causandone la distruzione. Tale condizione è detta malattia delle da agglutinine fredde o anemia emolitica fredda. Si veda **Malattia da agglutinine fredde** di seguito.

Malattia da agglutinine fredde (CAD)

La malattia da agglutinine fredde è un'anemia emolitica autoimmune causata da autoanticorpi detti agglutinine fredde che a temperature molto basse si legano ai globuli rossi presenti nei capillari della cute e dei tessuti sottocutanei, causando la distruzione dei globuli rossi (emolisi). Se questi anticorpi sono presenti in grandi quantità, possono scatenare una distruzione significativa di globuli rossi causando anemia. Le agglutinine fredde sono rilevabili a bassi livelli nei pazienti normali, ma solitamente sono insignificanti. La presenza di agglutinine fredde viene utilizzata per facilitare la diagnosi di alcuni tipi di polmonite atipica e di anemia emolitica.

Per diagnosticare la malattia da agglutinine fredde e determinare le eventuali condizioni associate vengono utilizzate diverse analisi. Queste includono l'emocromocitometrico completo, la conta reticolocitaria, le analisi delle urine, la titolazione delle agglutinine fredde, test chimici sierologici e il test antiglobulina diretto (detto anche TAD o test di Coombs diretto). Ulteriori analisi possono includere prove sierologiche per malattie infettive e autoimmuni, elettroforesi sieroproteica, agoaspirato e la biopsia di midollo osseo, e citometria a flusso. Alcune analisi del sangue vengono alterate se effettuate a temperatura ambiente in laboratorio e possono richiedere una ripetizione dopo il riscaldamento dei campioni.

Crioglobulinemia

Crioglobuline significa letteralmente “anticorpi freddi nel sangue”, in riferimento al fatto che gli anticorpi coinvolti precipitano a temperature inferiori a 37°C (temperatura corporea) per poi ri-dissolversi se riscaldati. Contrariamente agli autoanticorpi delle agglutinine fredde, le crioglobuline non si legano ai globuli rossi. Le crioglobuline possono causare diversi sintomi poiché l’anticorpo precipitato ostruisce fisicamente i vasi sanguigni più piccoli. I pazienti affetti da WM con crioglobulinemia possono presentare dolore, cianosi e intorpidimento delle dita delle mani e dei piedi quando esposti al freddo. La malattia clinica può anche essere associata alla formazione di depositi di immunocomplessi antigene-anticorpo (immunocomplessi crioprecipitanti) nei reni e in altri tessuti.

Sono stati descritti tre tipi di crioglobulinemia: tipo I (crioglobuline monoclonali); tipo II (mista essenziale, immunocomplessi di IgM monoclonali e IgG policlonali) osservabile anche nelle malattie autoimmuni; tipo III (mista policlonale, immunocomplessi di IgM policlonale e IgG policlonale) osservabili in malattie autoimmuni, infezioni e altre patologie.

I pazienti con WM devono effettuare le analisi per la crioglobulinemia al momento della diagnosi, poiché questa può rendere difficile il trattamento e alterare i risultati di altre analisi di laboratorio usate per gestire la malattia. Per l’analisi della crioglobulina, un campione di sangue viene prelevato a una temperatura di 37°C e mantenuto caldo, mentre il siero viene rimosso mediante centrifuga. Il campione di siero viene incubato a 4°C e tenuto sotto controllo per osservarne la precipitazione. Il tipo I tende a precipitare entro 24 ore, mentre il tipo III può impiegare fino a 7 giorni. Altre analisi possono contribuire a caratterizzare il tipo e la gravità della crioglobulinemia presente. Queste includono il fattore reumatoide e altri autoanticorpi, la titolazione del siero per infezioni virali e di altro tipo, gli esami delle urine, le analisi dei complementi, l’elettroforesi sieroproteica, la viscosità sierica, lo studio delle funzioni epatiche e la biopsia dei tessuti.

Neuropatia periferica (PN)

La neuropatia periferica è una condizione clinica che comporta un problema permanente o transitorio nella funzione dei nervi al di fuori del midollo spinale. Nella WM, la neuropatia può essere causata dall’IgM monoclonale che si lega ad alcuni componenti dei nervi, ad esempio la guaina mielinica, e li attacca, o da alcuni trattamenti per la WM neurotossici. I sintomi di una neuropatia possono comprendere intorpidimento, debolezza, dolore urente e perdita di riflessi. Il dolore può essere lieve o intenso e invalidante.

È possibile effettuare diverse analisi per determinare la causa e l’estensione della neuropatia, che vengono utilizzate contestualmente alla situazione clinica del paziente:

Elettromiografia (EMG): l’elettromiografia misura le minuscole scariche elettriche prodotte nel muscolo scheletrico sia a riposo sia durante la contrazione volontaria, ed è usata nella diagnosi di una malattia neuromuscolare. L’elettrodo per l’EMG è introdotto attraverso la cute e viene quindi registrata la scarica elettrica, o potenziale di unità motoria, che ne deriva. Gli studi della conduzione nervosa, che costituiscono un protocollo diagnostico separato, possono essere eseguiti contemporaneamente. Gli studi della conduzione nervosa misurano la velocità a cui i nervi trasportano i segnali elettrici, e sono spesso usati per diagnosticare una neuropatia periferica, nonché una sindrome del tunnel carpale.

Studi della conduzione nervosa: questi studi costituiscono una metodica non invasiva per valutare la capacità di un nervo di trasportare un impulso nervoso e la sua velocità di trasmissione. I nervi periferici motori e sensitivi più grandi sono stimolati elettricamente a vari intervalli lungo il decorso di un nervo motore. Tipicamente, si pongono due placche metalliche sulla cute a una certa distanza l’una dall’altra. Uno stimolo elettrico passa attraverso una placca e causa la scarica del nervo, producendo un potenziale d’azione muscolare “composto” che può essere misurato e registrato.

Esami del sangue: esami utilizzati per la valutazione di diabete, deficit di cobalamina, disfunzione della tiroide, infezione da HIV, malattia di Lyme, sifilide e malattie autoimmuni, nonché anticorpi anti-MAG e anti-gangliosidi.

Disturbi visivi

La WM può provocare alterazioni della vista, in particolare se un paziente mostra segni di iperviscosità dovuta a livelli elevati di IgM, di solito superiori a 3000 mg/dl. Alcune analisi usate per monitorare i disturbi visivi includono:

Fundoscopia (esame del fondo oculare, oftalmoscopia): consiste nell’esame della parte posteriore dell’occhio (fondo oculare) con un oftalmoscopio e fa parte dell’esame di routine di un paziente. L’oftalmoscopia consente una valutazione

ingrandita dei vasi sanguigni, dei nervi e della retina. Utilizzando questa tecnica possono essere facilmente osservati emorragie retiniche, distacchi di retina, tumefazione dei vasi sanguigni, come può avvenire nei pazienti con elevata viscosità del sangue e altre anomalie.

Tonometria: tecnica che misura la pressione intraoculare (in mm Hg) tramite pressione diretta o getto d'aria sul bulbo oculare. La tonometria è usata per diagnosticare e gestire il glaucoma e l'ipertensione oculare, e nell'esame oftalmologico di routine. La pressione intraoculare normale varia da 15 a 20 mm Hg. Un oftalmologo con esperienza nel campo della WM ha osservato che una viscosità sierica elevata potrebbe rappresentare un fattore di rischio per il glaucoma sia a bassa che ad alta pressione, ma gli oncologi esperti nella WM non hanno rilevato un'associazione tra glaucoma e WM.

Dichiarazione di vision di IWWMF

Un mondo senza WM (Macroglobulinemia di Waldenström)

Dichiarazione di mission di IWWMF

Sostenere e informare chiunque si trovi ad affrontare la Macroglobulinemia di Waldenström (WM) mentre continuano i progressi della ricerca per pervenire a una cura

Publicato da International Waldenström's Macroglobulinemia Foundation (IWWMF)

Queste informazioni sono fornite gratuitamente. Ti chiediamo di prendere in considerazione di aderire e/o dare un contributo a IWWMF per permetterci di continuare a fornire materiali come questo e di promuovere la ricerca al fine di ottenere sempre migliori trattamenti e la guarigione per Macroglobulinemia di Waldenström. Puoi aderire e/o dare un contributo sul nostro sito web, www.iwwmf.com, oppure puoi spedire un'offerta a: 6144 Clark Center Avenue, Sarasota, FL 34238.



6144 Clark Center Avenue
Sarasota, FL 34238
Ph: 941-927-4963 Fax: 941-927-4467
www.iwwmf.com
Email: info@iwwmf.com