

Il contributo della diagnostica proteica nella gestione delle gammopatie monoclonali

Anna Caldini¹, Maria Stella Graziani², Umberto Basile³, Ivana Cataldo⁴, Giovanni Cigliana⁵, Maria Teresa Muratore⁶, Michele Mussap⁷, Alessandro Terreni¹, Arialdo Vernocchi⁸, Giampaolo Merlini⁹ per il Gruppo di Studio SIBioC Proteine

¹Laboratorio Generale, Dipartimento Aziendale Integrato di Diagnostica Laboratorio, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

²Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

³Laboratorio di Immunologia, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Facoltà di Medicina, Università Cattolica del Sacro Cuore, Policlinico "A. Gemelli", Roma

⁴Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Clinicizzato SS Annunziata, Chieti

⁵Patologia Clinica, Dipartimento di Prevenzione e Diagnostica Oncologica, Istituto Nazionale Tumori Regina Elena, IRCCS, Roma

⁶Laboratorio di Analisi, Ospedale Belcolle, Azienda Unità Sanitaria Locale, Viterbo

⁷Laboratorio Centrale, IRCCS Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino-IST, Genova

⁸Centro di Medicina di Laboratorio e Anatomia Patologica MultiLab, IRCCS MultiMedica, Milano

⁹Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Laboratorio di Biotecnologie e Tecnologie Biomediche, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo, Pavia

ABSTRACT

Protein diagnostics in the management of monoclonal gammopathies. This document examines laboratory tests to be used for the management of monoclonal gammopathies in different clinical scenarios, from screening to monitoring and assessment of the response to therapy. The content is based on international recommendations and guidelines currently available. It includes sections on the analytical aspects of different tests (serum protein electrophoresis, typing and quantification of monoclonal components, Bence Jones protein determination and free light chain measurement) and on their clinical significance as well. Different clinical settings are examined: screening, diagnosis, risk stratification, monitoring and response assessment. For each of those, laboratory tests to be used are indicated. Aim of the document is to help clinical laboratories avoiding unnecessary tests, ensuring in the meantime that all the investigations required for an optimal patient management are carried out.

PREMESSE

Definizione di componente monoclonale

Una componente monoclonale (CM) è una immunoglobulina (intera o una sua parte) secreta da un singolo clone di cellule B in espansione, che viene evidenziata (se prodotta in quantità sufficiente) al tracciato elettroforetico sierico o urinario come una proteina singola, migrante in una specifica zona del tracciato stesso. La tecnica elettroforetica permette di evidenziare l'omogeneità molecolare della proteina e di

quantificarla; le tecniche di immunofissazione e/o di immunosottrazione permettono di tipizzarla immunologicamente, definendo il tipo di catena pesante e leggera che la compongono (1-3). La presenza di una CM definisce la condizione clinica di gammopatia monoclonale (GM); tuttavia, l'assenza di CM nel siero e/o nelle urine non esclude la condizione clinica di GM.

Epidemiologia

Il riscontro di una CM non è un evento raro. Gli studi epidemiologici forniscono stime diverse in quanto la

Corrispondenza a: Anna Caldini, Laboratorio Generale, Dipartimento Aziendale Integrato di Diagnostica Laboratorio, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Largo Brambilla 35, 50134 Firenze. Tel. 0557949452, Fax 0557949162, E-mail caldinia@aou-careggi.toscana.it

Ricevuto: 07.11.2013

Accettato: 07.11.2013

prevalenza della condizione è fortemente dipendente dall'età dei soggetti considerati (più elevata nell'età anziana), dalla tipologia di popolazione esaminata (generale o ospedalizzata), nonché dalla sensibilità per il rilevamento delle CM delle tecniche elettroforetiche utilizzate per l'indagine. Gli studi numericamente più importanti riportano in Italia una prevalenza del 2,9% in una popolazione ospedalizzata, da 11 a 75 anni, di 35.000 soggetti (4), in una popolazione generale del Minnesota (USA) di ~22.000 individui una prevalenza del 3,4% nei soggetti >50 anni, che sale al 4,2% considerando la prevalenza dello 0,8% della gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS) da catena leggera (5, 6), mentre in una popolazione giapponese di 52.000 individui la prevalenza era 2,1% nei soggetti >42 anni e 3,0% nei soggetti nella fascia 70-79 anni (7). Tutti gli studi rilevano una prevalenza maggiore nel sesso maschile e un marcato aumento con l'avanzare dell'età. Le osservazioni disponibili concordano inoltre sul fatto che la grande maggioranza delle CM è di entità medio-piccola (<10 g/L) e che ~70% di esse è di tipo IgG.

Rilevanza clinica

La maggior parte delle CM (>50%) viene classificata come MGUS (8), termine coniato 35 anni fa per definire una condizione clinica nella quale il rilevamento della CM non è associato alla presenza di mieloma multiplo (MM) o di altre patologie correlate (9). MGUS è associata a un basso ma continuo rischio di progressione verso patologie evolutive (~1% l'anno) ed è considerata una condizione di pre-malignità (10). Una percentuale prossima al 35% delle CM ha una diagnosi di MM o di altre patologie correlate (mieloma asintomatico, plasmocitoma solitario, linfoma) e ~10% di AL-amiloidosi (AL) (8). Una piccola percentuale (<5%) è associata a patologie rare, quali la crioglobulinemia, la malattia da deposizione di catene leggere e la sindrome POEMS (polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, componente monoclonale e alterazioni cutanee), nelle quali la CM può essere anche di entità molto piccola (8, 11, 12). Le conseguenze per l'organismo della presenza di una CM sono molto variegata e spaziano dagli effetti causati dal clone plasmacellulare in evoluzione neoplastica (anemia, insufficienza renale, lesioni ossee) agli effetti causati dall'accumulo in circolo di una proteina tossica (amiloidosi, neuropatie periferiche, malattia da deposizione di catene leggere) fino a nessun effetto rilevabile, ma alla presenza di una condizione di rischio indefinito (8, 10-12).

SCOPO DEL DOCUMENTO

Lo scopo del presente documento è quello di fornire le indicazioni sul corretto percorso da adottare in laboratorio al momento del primo riscontro di una CM e durante il successivo monitoraggio del paziente, con l'obiettivo di evitare la duplicazione di esami ridondanti, assicurando al contempo l'esecuzione di tutte le indagini

necessarie alla gestione ottimale del paziente con GM.

ASPETTI METODOLOGICI E SIGNIFICATO CLINICO

L'aspetto metodologico in questo ambito è di primaria importanza; il Gruppo di Studio Proteine di SIBioC - Medicina di Laboratorio ha prodotto alcuni documenti al riguardo, a cui si rimanda per i dettagli (3, 13, 14). Qui sono elencati i principali requisiti di qualità degli esami di laboratorio utili in questo campo, assieme al significato e alle motivazioni di tali indagini, che nei successivi paragrafi vengono suggerite in relazione al contesto clinico e che sono basate sulle linee guida e raccomandazioni internazionali disponibili (15-23). Considerata l'importanza dell'aspetto metodologico, si suggerisce fortemente l'adesione a VEQ che considerino specificamente queste indagini.

Elettroforesi sieroproteica

L'elettroforesi delle sieroproteine (S-EF) rappresenta l'esame di elezione per la rivelazione delle CM sieriche e per la loro quantificazione, essendo in grado di rilevare l'omogeneità molecolare della proteina (2). Qualunque sia la tecnica prescelta (gel di agarosio o elettroforesi capillare) è importante che il metodo adottato sia a elevata risoluzione, raggiungendo una sensibilità <1 g/L (3) e che il personale addetto all'ispezione visiva dei tracciati sia specificamente formato e in possesso di un'adeguata esperienza. Alcuni esperti concordano sulla necessità di definire un periodo di addestramento prima dell'attività in autonomia e raccomandano di stabilire programmi di formazione continua per il personale che opera in questo settore diagnostico (24).

S-EF viene effettuata sia a scopo di screening per evidenziare la presenza di una CM, che durante il successivo inquadramento diagnostico e il monitoraggio dei pazienti con GM, sia per la quantificazione della CM che per evidenziare alterazioni qualitative della CM rispetto ai quadri precedenti (15, 19-22).

Tipizzazione delle CM sieriche

La tipizzazione (o caratterizzazione immunologica) della CM sierica (S-IFE), effettuata tramite immunofissazione su gel d'agarosio o per sottrazione in elettroforesi capillare, ha lo scopo di confermare la natura immunoglobulinica e la monoclonalità della banda evidenziata dalla S-EF. Consente anche l'attribuzione della catena pesante e leggera dell'immunoglobulina coinvolta. È inoltre in grado di mettere in evidenza anche CM non rilevabili dal tracciato S-EF, perché di lieve entità o comigranti con altre proteine presenti fisiologicamente; questa capacità è maggiormente attribuibile all'immunofissazione, essendo questa una tecnica dotata di sensibilità più elevata rispetto alla immunosottrazione (3). S-IFE deve essere effettuata obbligatoriamente al primo riscontro di una CM (ma anche nel sospetto della presenza di una CM), in quanto il tipo di immunoglobulina coinvolta

fornisce elementi utili sia ai fini diagnostici che prognostici. Se la tipizzazione standard (che utilizza antisieri anti- κ , λ , γ , α e μ) risulta positiva per le sole catene leggere, è necessario che S-IFE venga effettuata utilizzando anche gli antisieri anti- ϵ e δ per escludere la presenza di una rara gammopatia IgD o IgE. La tipizzazione deve inoltre essere eseguita durante il monitoraggio del paziente tutte le volte che il tracciato S-EF mostri alterazioni qualitative della morfologia della CM rispetto ai precedenti e per confermare la scomparsa della CM per la definizione della risposta completa dopo trattamento (17, 19-22). Come per la S-EF, è importante che il metodo adottato per S-IFE sia a elevata risoluzione e che il personale addetto alla sua interpretazione sia sufficientemente specializzato.

Quantificazione della CM sierica

Il modo più corretto di misurare la CM sierica è per proporzione diretta con la concentrazione delle proteine totali sieriche dopo delimitazione del picco monoclonale nel tracciato elettroforetico (3). L'accuratezza di questa modalità non è però ottimale in quanto influenzata in modo non trascurabile dall'operatore (25, 26). Inoltre, le due tecniche separative disponibili (gel di agarosio e tecnologia capillare) presentano differenze non trascurabili (27).

La misura immunochimica della CM è inaccurata e perciò non consigliabile in quanto soffre di alcune limitazioni quali: la contemporanea misura insieme all'immunoglobulina monoclonale di quelle policlonali, che possono essere ancora significativamente rappresentate nel campione; l'assenza di parallelismo nel saggio immunologico tra lo standard policlonale usato per la calibrazione e le immunoglobuline monoclonali; infine, la CM può presentare specificità antigeniche poco o mal riconosciute nell'antisiero policlonale. Questi problemi possono comportare sia sovrastime che sottostime non trascurabili (28). Qualora però la CM non sia quantificabile dal tracciato S-EF, perché poco rappresentata o non ben separata da altre proteine sieriche, può essere utilizzata la misura immunochimica della catena pesante della CM, pur in presenza dei problemi menzionati (17). In particolare, queste problematiche analitiche sono rilevanti quando una piccola CM è inserita in un quadro di immunoglobuline conservate o aumentate; in questi casi, oltre a fornire la misura immunochimica della immunoglobulina monoclonale, potrebbe essere utile segnalare che la CM è di piccola entità (ad es., <1 g/L).

Per tutte queste ragioni, è importante che il singolo paziente sia monitorato, per quanto possibile, sempre con lo stesso metodo e che questo sia chiaramente indicato sul referto (29). La quantificazione della CM è un parametro cardine per la gestione del paziente con GM in quanto in tutte le malattie secernenti è un indice della

massa tumorale. La quantificazione della CM è necessaria nella diagnostica differenziale, nella stratificazione del rischio e nella valutazione della risposta alla terapia (15, 17, 19, 23). Recentemente è stato sviluppato un nuovo metodo che consente la misurazione separata delle immunoglobuline in base alla catena leggera, in grado di misurare separatamente, ad esempio, le IgA κ dalle IgA λ (30). Studi preliminari indicano che questo metodo può essere utile quando la CM non è facilmente misurabile densitometricamente (31). Nessuna linea guida ha tuttavia ancora incluso questo metodo nelle sue raccomandazioni¹.

Determinazione della proteina di Bence Jones

Sia a livello nazionale che internazionale, le linee guida raccomandano di utilizzare per la ricerca della proteina di Bence Jones (PBJ) l'immunofissazione urinaria, in quanto questo è l'unico metodo con il quale si possono accertare le due caratteristiche della PBJ, cioè la monoclonalità e l'assenza della catena pesante (13, 14). Una volta accertata la sua presenza, la quantificazione di BJP deve essere effettuata su un campione di urina temporizzato (24 ore) per scansione densitometrica del picco monoclonale del tracciato elettroforetico urinario in rapporto alle proteine totali urinarie (13, 14). Anche se questo metodo presenta numerose limitazioni, non sono per ora disponibili valide alternative. In particolare, le linee guida scoraggiano l'uso dei metodi nefelometrici per la quantificazione delle catene leggere libere nelle urine (18). Anche per questa indagine, è importante che il metodo adottato sia a elevata risoluzione e sensibilità e che il personale addetto alla sua interpretazione abbia un'adeguata esperienza. La determinazione della PBJ è essenziale all'interno dello screening per discrasie plasmacellulari quando si sospetti un'AL (16, 18) o quando persista il sospetto clinico di GM e gli esami su siero siano negativi; inoltre, è uno degli esami da eseguire alla diagnosi di GM (18, 20-22) e nella verifica della risposta alla terapia nel MM e nell'AL (16-18).

Misura delle catene leggere libere nel siero

Nel 2001 è stato proposto un metodo per la misura immunochimica delle catene leggere libere delle immunoglobuline nel siero (S-FLC) (32). La sua introduzione ha consentito, tra l'altro, di ottenere un parametro quantitativo utile sia alla diagnosi che per il monitoraggio delle condizioni in cui la CM è difficilmente evidenziabile e misurabile (AL, MM non secernente/oligosecernente). La misura di S-FLC è prevista nello screening delle GM, nella stratificazione del rischio e nella valutazione della risposta alla terapia (17-19). Data la loro rilevanza clinica e rapida introduzione nelle più autorevoli linee guida internazionali e il successivo vivace dibattito nella

¹Un recente aggiornamento a cura del UK Myeloma Forum delle "Guidelines for the diagnosis and management of multiple myeloma, 2013" (www.bcshguidelines.com) suggerisce l'utilizzo di questo esame negli studi clinici per valutare il suo possibile inserimento in raccomandazioni future.

comunità scientifica, a questo marcatore è stato recentemente dedicato un numero monografico di *Biochimica Clinica* (33).

PERCORSO DI LABORATORIO

Prima di entrare nello specifico degli esami appropriati nei diversi contesti clinici è necessaria una premessa. A causa delle difformi regolamentazioni in essere nelle diverse regioni italiane e delle possibili regole interne delle Aziende Ospedaliere e/o Territoriali, è possibile che in alcuni casi il laboratorio possa procedere autonomamente con esami a cascata, mentre in altri casi no. In questa seconda evenienza, è necessario che il laboratorista segnali al clinico il percorso ottimale da seguire, lasciando alla gestione clinica le decisioni successive. In particolare, nel caso in cui il laboratorio non possa eseguire la tipizzazione riflessa della CM autonomamente, le modalità di refertazione della S-EF, che è il primo esame in grado di mettere in evidenza una CM, devono essere tali da trasmettere al clinico le informazioni necessarie in forma chiara ed esaustiva (29).

Poiché questo documento ha lo scopo di definire il percorso di laboratorio per quanto riguarda la diagnostica proteica, verranno presi in considerazione solo gli esami a essa relativi. Altre indagini, che pure rivestono un'importanza fondamentale in queste patologie, come ad esempio la misura di emoglobina, calcemia e creatinemia per la valutazione del danno d'organo, non verranno discusse.

Esami da eseguire al primo riscontro

Senza entrare in dettaglio nella molto dibattuta ma irrisolta questione se e su quali soggetti e con quale frequenza sia consigliabile eseguire una S-EF come esame di screening per le GM (2, 34, 35), è un dato di fatto che nel nostro Paese questo sia un esame di laboratorio molto richiesto e per i più svariati motivi. Questo fa sì che il riscontro di una CM sia un evento tutt'altro che raro nella pratica del laboratorio clinico, ponendo di conseguenza la necessità di una corretta gestione del paziente.

Il tema di quali esami eseguire nello screening per GM è stato affrontato in tre diversi documenti internazionali (18, 20-22). Nel documento del 2009 dell'“International Myeloma Working Group” (IMWG) si raccomandano i soli esami su siero, S-EF, S-IFE e S-FLC, che secondo gli estensori del documento, in questo contesto possono sostituire, con la sola eccezione dell'AL, la ricerca della PBJ (18). Leggermente diversa la posizione tenuta nei documenti successivi dei gruppi europei (20-22), nei quali accanto a S-EF e S-IFE si raccomanda la determinazione della PBJ piuttosto che delle S-FLC, che è suggerita solo se il campione urinario non è disponibile. Va notato però che in tutti i succitati documenti lo screening per GM viene eseguito per pazienti che presentano sintomi associabili alla presenza di CM. Nel contesto italiano in cui, come detto, è molto

frequente la richiesta di S-EF in soggetti, sia ospedalizzati che ambulatoriali, per i quali non sussiste alcun sospetto clinico di GM, è ragionevole che in assenza di alterazioni del tracciato elettroforetico sierico, non si prosegua nelle indagini. In quest'ultimo caso però nel referto dovrebbe essere presente un commento specifico che indichi con chiarezza che la S-EF non evidenzia CM (29).

Inquadramento diagnostico e diagnostica differenziale

Una volta accertata la presenza di una CM occorre inquadrare correttamente il tipo di discrasia plasmacellulare che ne è all'origine. L'inquadramento diagnostico si basa su molteplici parametri, tra i quali hanno un ruolo non secondario gli esami di laboratorio. L'IMWG in due documenti raccomanda in questo contesto l'esecuzione di tutti gli esami necessari per la rivelazione e quantificazione della CM sierica e urinaria, in quanto la mancata esecuzione di uno di essi potrebbe impedire la diagnosi di condizioni quali il mieloma oligo/non secernente, il mieloma a catene leggere libere o l'AL (18, 22). Nei documenti europei (20, 21) la posizione è sostanzialmente analoga, con la differenza che viene data meno importanza alla misura delle S-FLC, che vengono citate solo nel documento di Bird et al. (21) per sostituire BJP nel caso in cui non sia possibile ottenere il campione urinario. La misura immunochimica delle immunoglobuline non coinvolte è utile come indice indiretto di danno d'organo (15, 22).

Al momento dell'inquadramento diagnostico si pone anche il problema della diagnosi differenziale della MGUS, che come detto rappresenta più del 50% di tutte le discrasie plasmacellulari, da patologie maligne che necessitano di terapie tempestive e mirate. Diversi documenti dell'IMWG pubblicati dal 2003 al 2011 (15, 19, 22), così come i citati documenti europei (20, 21), indicano come criteri per la diagnosi differenziale l'entità della CM sierica (cut-off, <30 g/L), la percentuale di plasmacellule midollari e la presenza di danno d'organo.

Stratificazione del rischio

Per la stratificazione del rischio dei pazienti con diagnosi di MM, IMWG indica come fattori prognostici, oltre a marcatori citogenetici, la classe della catena pesante dell'immunoglobulina coinvolta (IgA >IgG) e la misura nel siero di albumina, lattato deidrogenasi (LDH) e β_2 -microglobulina (23). Dopo l'introduzione nella pratica clinica della misura delle S-FLC, è emerso un loro possibile ruolo nella valutazione del rischio di progressione maligna nella MGUS e nel mieloma asintomatico (18-20). Per i pazienti con MGUS, lo schema di rischio più adottato, proposto dai ricercatori della Mayo Clinic statunitense, richiede la misura della CM, la sua tipizzazione e il rapporto delle S-FLC. Pazienti con CM IgG, concentrazione <15 g/L e rapporto κ/λ nei limiti fisiologici sono a basso rischio di evoluzione (solo 5% in un periodo di 20 anni). Questi soggetti, che rappresentano ~40% dei soggetti con MGUS, possono

Tabella 1

Tavola sinottica degli esami di diagnostica proteica da eseguire per la gestione del paziente con componente monoclonale (CM) nelle diverse situazioni cliniche

Quesito clinico	Esami						Note
	S-EF	S-IFE	Misura CM	S-FLC	PBJ	Ig	
Primo riscontro in assenza di sospetto clinico	SI	-	-	-	-	-	Se S-EF è negativa non si procede con le indagini; se positiva o sospetta si procede come nel caso successivo
Primo riscontro in presenza di sospetto clinico di discrasia plasmacellulare	SI	SI*	SI	SI**	SI**	SI	*Anche se il tracciato S-EF non presenta alterazioni riferibili a CM **Solo uno dei due esami, con la sola eccezione dell'amiloidosi AL
Inquadramento diagnostico	SI	SI	SI	SI	SI	SI	
Diagnostica differenziale	-	-	SI	-	-	-	Unitamente a valutazione del danno d'organo e percentuale delle plasmacellule midollari
Stratificazione del rischio	-	SI	SI	SI	-	-	S-FLC solo in caso di MGUS e mieloma indolente
Monitoraggio MGUS e mieloma indolente	SI	SI	SI	-	SI	-	S-IFE solo in caso di variazioni qualitative della morfologia del tracciato
Monitoraggio e risposta alla terapia nel mieloma multiplo	SI	SI	SI	SI	SI	-	S-IFE solo in caso di variazioni qualitative della morfologia del tracciato e per la definizione della risposta completa S-FLC solo per la definizione della risposta stringente completa e in caso di malattia non misurabile

S-EF, elettroforesi sieroproteica; S-IFE, tipizzazione della CM; S-FLC, catene leggere libere κ e λ del siero; PBJ, proteina di Bence Jones; Ig, immunoglobuline non coinvolte nella monoclonalità; MGUS, gammopatia monoclonale di significato indeterminato.

essere affidati alle cure del medico di famiglia (36).

Monitoraggio e verifica della risposta alla terapia

Anche per quanto riguarda il monitoraggio dei pazienti affetti da GM, le linee guida internazionali indicano con chiarezza gli esami da eseguire. Per le condizioni ancora asintomatiche (MGUS e mieloma asintomatico) tutti i documenti internazionali indicano come parametro fondamentale la misura della CM. Mentre nel caso del mieloma asintomatico, IMWG suggerisce anche l'esecuzione delle indagini urinarie (19), nella MGUS, sia nel documento dell'IMWG che in quello di consenso (20), la PBJ non è ritenuta necessaria. Al contrario, PBJ viene indicata tra gli esami da eseguire nel documento europeo (21).

Relativamente alla tempistica di monitoraggio, esiste una certa difformità di vedute e le raccomandazioni sono basate più sulle opinioni personali degli esperti che non su evidenze vere e proprie. Nel documento del 2010 dell'IMWG si trovano le indicazioni più chiare (19). I pazienti con MGUS a basso rischio, definito secondo i criteri descritti nel precedente paragrafo, possono essere controllati ogni 2-3 anni o quando si presentino sintomi associabili a una progressione maligna, mentre quelli a medio-alto rischio vanno seguiti annualmente. Per i pazienti affetti da mieloma asintomatico, in condizioni cliniche stabili, la frequenza dei controlli

indicata dall'IMWG è di 6-12 mesi (19). Per la valutazione della risposta alla terapia nel MM nel 2006 sono stati chiaramente definiti i criteri per la definizione di malattia misurabile, basati su entità della CM, della PBJ e concentrazione delle S-FLC (17); il tipo di risposta ottenuta è stata divisa in quattro categorie (17, 37). Con la sola eccezione della cosiddetta "risposta stringente completa" e della malattia "non misurabile", nelle quali vanno misurate anche le S-FLC, in tutte le altre situazioni sono sufficienti la misura della CM sierica o urinaria (PBJ) (17).

CONCLUSIONI

Questo documento riassume le indicazioni delle linee guida internazionali relativamente al percorso di laboratorio da seguire nella gestione del paziente con CM nelle diverse situazioni (Tabella 1). Il primo riscontro di una CM è tipicamente una situazione nella quale il laboratorio potrebbe procedere con esami a cascata per il corretto inquadramento del paziente. Come già riportato, qualora il laboratorio non sia in grado di eseguire in autonomia gli esami qui specificati, questi devono essere suggeriti nel referto al clinico, il quale poi valuterà per il proseguimento delle indagini. Anche per le altre situazioni (diagnostica differenziale, stratificazione del rischio, monitoraggio della condizione e valutazione della risposta alla terapia), è necessaria una stretta interazione fra laboratorista e clinico. L'approccio di

laboratorio descritto in questo documento può servire come base per la condivisione di pannelli definiti di esami da eseguire nei diversi contesti clinici.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori ringraziano per il contributo alla stesura del documento: Giuseppe Castaldo (Napoli), Antonio La Gioia (Livorno), Giovanna Patrucco (Vercelli).

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

- Keren DF. Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:126-32.
- Graziani MS, Dolci A, Greco C, et al. per il Gruppo di Studio Proteine di SIBioC. Indicazioni per la richiesta di elettroforesi proteica. *Biochim Clin* 2008;32:48-51.
- Dolci A, Vernocchi A per il Gruppo di Studio Proteine di SIBioC. Aspetti metodologici nella ricerca e caratterizzazione delle componenti monoclonali nel siero. *Biochim Clin* 2012;36:84-9.
- Aguzzi F, Bergami MR, Gasparro C, et al. Occurrence of monoclonal components in general practice: clinical implications. *Eur J Haematol* 1992;48:192-5.
- Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2006;354:1362-9.
- Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, et al. Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *Lancet* 2010;375:1721-8.
- Iwanaga M, Tagawa M, Tsukasaki K, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance: study of 52,802 persons in Nagasaki City, Japan. *Mayo Clin Proc* 2007;82:1474-9.
- Kyle RA, Rajkumar SV. Epidemiology of the plasma-cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol* 2007;20:637-64.
- Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Am J Med* 1978;64:814-8.
- Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. Long-term follow-up of 241 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance: the original Mayo Clinic series 25 years later. *Mayo Clin Proc* 2004;79:859-66.
- Merlini G, Stone MJ. Dangerous small B clones. *Blood* 2006;108:2520-30.
- Merlini G. Perché è importante identificare e segnalare le piccole componenti monoclonali. *Biochim Clin* 2012;36:25-8.
- Graziani MS, Merlini GP, Petrini C. Linee guida per la ricerca della proteina di Bence Jones. Gruppo di Studio Proteine - Società Italiana di Biochimica Clinica. *Biochim Clin* 2001;25:23-32.
- Graziani MS, Merlini GP, Petrini C for the IFCC Committee on Plasma Proteins and the SIBioC Study Group on Proteins. Guidelines for the analysis of Bence Jones Protein. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:338-46.
- 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. *Br J Haematol* 2003;121:749-57.
- Bird J, Cavenagh J, Hawkins P, et al. on behalf of UK Myeloma Forum. Guidelines on the diagnosis and management of AL amyloidosis. *Br J Haematol* 2004;125:681-700.
- Durie BGM, Harousseau JL, Miguel JS, et al. on behalf of the International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20:1467-73.
- Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009;23:215-24.
- Kyle RA, Durie BGM, Rajkumar SV, 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;24:1121-7.
- Berenson JR, Kenneth KC, Audell RA, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: a consensus statement. *Br J Haematol* 2010;150:28-38.
- Bird J, Behrens J, Westin J, et al. UK Myeloma Forum (UKMF) and Nordic Myeloma Study Group (NMSG): guidelines for the investigation of newly detected M-proteins and the management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Haematol* 2010;148:22-42.
- Dimopoulos M, Kyle R, Fermand JP, et al. Guidelines for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. *Blood* 2011;117:4701-5.
- Munshi NC, Kenneth C, Anderson KC, et al. Consensus recommendations for risk stratification in multiple myeloma: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 2. *Blood* 2011;117:4696-700.
- Tate J, Caldwell G, Daly J, et al. Recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Ann Clin Biochem* 2012;49:242-56.
- Luraschi P, Infusino I, Merlotti C, et al. Analytical variation in the measurement of serum monoclonal component by capillary electrophoresis. *Clin Chim Acta* 2004;349:151-6.
- Mussap M, Pietrogrande F, Ponchia S, et al. Measurement of serum monoclonal components: comparison between densitometry and capillary zone electrophoresis. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:609-11.
- Infusino I, Dolci A, Panteghini M. Confronto tra due sistemi per elettroforesi capillare e in gel d'agarosio per la ricerca e caratterizzazione di componenti monoclonali nel siero. *Biochim Clin* 2008;32:554-8.
- Whicher JT, Warren C, Chambers RE. Immunochemical assays for immunoglobulins. *Ann Clin Biochem* 1984;21:78-91.
- Caldini A, Graziani MS, Terreni A, et al. Indagine sulle modalità di refertazione dell'elettroforesi sieroproteica. *Biochim Clin* 2009;33:62-5.
- Harding S, Young P, Di Fazio M, et al. Intact immunoglobulin heavy/light chain paired assays. *Biochim Clin* 2013;37:365-9.
- Ludwig H, Milosavljevic D, Zojer N, et al. Immunoglobulin heavy/light chain ratios improve paraprotein detection and monitoring, identify residual disease and correlate with survival in multiple myeloma patients. *Leukemia* 2013;27:213-9.
- Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001;47:673-80.

33. AAVV. Catene leggere libere nel siero. *Biochim Clin* 2013;37:344-437.
34. McTaggart M, Kearney E. Evidence-based use of serum protein electrophoresis in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:e113-5.
35. Graziani MS, Merlini GP. Recommendations for appropriate serum electrophoresis requests: the Italian approach. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:e117-8.
36. Merlini G, Palladini G. Differential diagnosis of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:595-603.
37. Caldini A, Graziani MS. La determinazione delle catene leggere libere nel siero può sostituire la ricerca e quantificazione della proteinuria di Bence Jones nella pratica clinica? *Biochim Clin* 2013;37:405-18.