



IL COINVOLGIMENTO DEL RENE NELLE DISCRASIE PLASMACELLULARI

Sonia Pasquali, Francesco Iannuzzella, Danio Somenzi, Silvia Mattei, Achirapita Bovino, Mattia Corradini

U.O.C. di Nefrologia e Dialisi, Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia

Plasma cell dyscrasias and renal damage

Kidney damage caused by immunoglobulin free light chains in the setting of plasma cell dyscrasias is common and may involve all renal compartments, from the glomerulus to the tubulointerstitium, in a wide variety of histomorphological and clinical patterns.

The knowledge of how free light chains can promote kidney injury is growing: they can cause functional changes, be processed and deposited, mediate inflammation, apoptosis and fibrosis, and obstruct nephrons. Each clone of the free light chain is unique and its primary structure and post-translation modification can determine the type of renal disease. Measurement of serum free light chain concentrations and calculation of the serum kappa/lambda ratio, together with renal biopsy, represent essential diagnostic tools.

An early and correct diagnosis of renal lesions due to plasma cell dyscrasias will allow early initiation of disease-specific treatment strategies. The treatment of free light chain nephropathies is evolving and knowledge of the pathways that promote renal damage should lead to further therapeutic developments.

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

AL amyloidosis,
Renal biopsy,
Free light chains,
Plasmacell
dyscrasias,
Myeloma cast
nephropathy,
Light chain
removal

PAROLE CHIAVE:

Amiloidosi AL,
Biopsia renale,
Catene leggere
libere,
Discrasia pla-
smacellulare,
Rene da
mieloma,
Rimozione
catene leggere

Indirizzo degli Autori:

Dr.ssa Sonia Pasquali
U.O.C. di Nefrologia e Dialisi
Arcispedale Santa Maria Nuova
Azienda Ospedaliera di Reggio Emilia
Viale Risorgimento 80
42100 Reggio Emilia
e-mail: pasquali.sonia@asmn.re.it

INTRODUZIONE

Le discrasie plasmacellulari (DP) sono emopatie caratterizzate dalla abnorme proliferazione di un singolo clone di cellule B con la conseguente produzione di paraproteine anomale. Ne deriva un'alterazione quali-quantitativa nella sintesi delle immunoglobuline stesse con la produzione di un singolo tipo di immunoglobulina intera (immunoglobuline monoclonali) e/o di sue subunità (catene leggere-CL- e catene pesanti), tutte antigenicamente simili.

Poiché il rene occupa un ruolo fondamentale nel metabolismo delle paraproteine prodotte e dismesse in circolo, il suo coinvolgimento è frequente (1). Si manifesta con quadri eterogenei e polimorfi, sia sul piano istomorfologico (glomerulopatie, tubulo-interstiziopatie, vasculopatie) che su quello clinico (insufficienza renale acuta o cronica, sindrome nefrosica, insufficienza renale rapidamente progressiva, sindrome di Fanconi, ecc.), non correlati tra loro, come è sintetizzato nella Tabella I (2). Tale comportamento sembra

essere in gran parte riconducibile alle caratteristiche strutturali delle CL prodotte (2).

I meccanismi patogenetici responsabili del danno renale secondario sono comunque diversificati e non ancora completamente chiariti: dalla deposizione intraparenchimale di CL circolanti, alla precipitazione di casts intratubulari durante la fase di escrezione, agli effetti secondari della lisi tumorale, ai danni su base iatrogenica, come da uso/abuso di FANS. Raramente si assiste a un'infiltrazione diretta del tessuto renale da parte delle plasmacellule monoclonali, mentre le lesioni da escrezione o da deposizione di CL sono le nefropatie che più frequentemente complicano il decorso delle DP (Tab. II).

La complessità e il polimorfismo delle lesioni renali secondarie a DP richiedono, pertanto, una diagnostica accurata e tempestiva, che trova nel dosaggio delle CL monoclonali e nella biopsia renale due indagini fondamentali. Il rischio di sottostimare e/o di misinterpretare le nefropatie secondarie a DP resta a tutt'oggi elevato (2, 3).

TABELLA I - POLIMORFISMO DELLE LESIONI RENALI IN CORSO DI DISCRASIA PLASMACELLULARE

Sede delle lesioni	Lesioni elementari	Quadro istologico	Quadro clinico
Glomerulo	Microtubuli Fibrille Depositi granulari	GLN crioglob. Amiloidosi AL MIDD GLN prolif. da depositi Immunoglob. monoclonali	Ematuria Proteinuria Sindrome Nefrosica Sindrome Nefritica Acuta Insufficienza renale
Tubulo	Depositi granulari Casts intratubulari Cristalli intracellulari	MIDD MCN NC	Sindrome di Fanconi Acidosi Renale Diabete Insipido Insufficienza Renale
Vaso	Fibrille Depositi granulari Necrosi fibrinoide	Amiloidosi AL MIDD Vasculite da crioglob.	Proteinuria Sindrome nefritica Acuta Insufficienza Renale

GLN= glomerulonefrite; NC= nefropatia da cristalli intracellulari; MIDD= malattia da depositi di immunoglobuline monoclonali; MCN= Myeloma cast nephropathy

TABELLA II - MECCANISMI PATOGENETICI DELLE LESIONI RENALI IN CORSO DI DISCRASIA PLASMACELLULARE

- **DA DEPOSIZIONE TISSUTALE**
 - Glomerulonefrite crioglobulinemica
 - Amiloidosi AL
 - Malattia da depositi di immunoglobuline monoclonali (LCDD, HCDD, LHCCDD)
- **DA ESCREZIONE**
 - Rene da mieloma
 - Nefropatia da cristalli intracellulari
- **DA INFILTRAZIONE PLASMACELLULARE**
- **DA LISI TUMORALE**
 - Nefropatia uratica
 - Nefropatia da depositi di calcio
- **DA FARMACI**
 - Chemioterapia
 - FANS
 - Bifosfonati
- **DA MECCANISMI IMMUNO-MEDIATI**
 - Glomerulopatia a lesioni istologiche minime
 - Glomerulonefrite membranosa
 - Glomerulosclerosi segmentaria e focale

In questa rassegna, vengono analizzate e correlate, alla luce delle più recenti acquisizioni, da un lato le caratteristiche strutturali delle CL e, dall'altro, i meccanismi patogenetici di danno renale responsabili di *patterns* di lesione così differenziati.

INCIDENZA

Nella popolazione generale, le DP hanno un'incidenza pari allo 0.15%. Sono diagnosticate sempre

più frequentemente nei soggetti anziani: dopo i 70 anni l'incidenza raggiunge il 7.5%, contro il 5% nella fascia di età compresa tra i 50 e i 70 anni e il 3% nei soggetti di età inferiore ai 50 anni.

Al momento della diagnosi è spesso difficile prevederne l'evoluzione, per cui le DP vengono spesso definite patologie di incerto significato prognostico. Possono restare silenti per anni, con un rischio di progressione che aumenta comunque, nel singolo soggetto, con il trascorrere degli anni di malattia (4).

Il mieloma multiplo, in particolare, rappresenta la seconda patologia ematologica per frequenza: costituisce il 10% delle emopatie maligne e l'1% delle neoplasie in generale. Prevale nel sesso maschile, con un rapporto uomo:donna di 3:2 e si conferma più frequente nell'età avanzata (il 68% dei pazienti ha più di 68 anni, il 15% 60-65 anni e il 2% ha meno di 40 anni). L'incidenza annuale del mieloma multiplo è di 4.3 per 100.000 abitanti (1:100.000 nella popolazione compresa tra i 40 e i 49 anni e 49:100.000 nella popolazione di età superiore agli 80 anni).

Negli Stati Uniti, sono riportati 15.000 nuovi casi/anno, mentre, in Europa, fino a 21.000 nuovi casi/anno. In Italia, le stime parlano di poco più di 2.100 nuovi casi di mieloma ogni anno tra le donne e di 2.300 nuovi casi tra gli uomini.

Una riduzione della funzione renale può essere presente fin dall'esordio nel 20-50% dei pazienti affetti da mieloma, mentre, nelle fasi di progressione della malattia ematologica, la complicanza renale può verificarsi in circa il 70% dei casi. L'insufficienza renale acuta, che rappresenta, ovviamente, il quadro prognostico più sfavorevole, si manifesta nel 20% dei pazienti e richiede il trattamento dialitico sostitutivo in circa la metà dei casi (5, 6).

La diagnosi di insufficienza renale è spesso simultanea a quella di mieloma, ma va sottolineato come l'incidenza di insufficienza renale acuta vari in modo significativo a seconda che si considerino casistiche ematologiche o nefrologiche (7, 8).

LE CATENE LEGGERE: STRUTTURA, PRODUZIONE, DISTRIBUZIONE

Ciascuna molecola di immunoglobulina è costituita da due catene pesanti e da due CL, legate tra loro in una configurazione a forma di Y. Ci sono due isotipi di CL (kappa e lambda), ciascuno dei quali contiene una regione variabile e una regione costante. La regione variabile di ciascun paio di CL e di catene pesanti costituisce il sito di legame antigenico. Ciascuna CL contiene circa 220 aminoacidi e ha un peso molecolare (pm) di 25 kDa (9).

I geni che codificano le CL kappa e lambda sono situati nei cromosomi 2 e 22, rispettivamente (10). Ci sono piccole variazioni nell'ambito della regione costante delle CL (10, 11); al contrario, la regione variabile di una CL comprende quattro regioni strutturali (*framework regions*), che costituiscono un *core* idrofobico (12), all'interno del quale sono contenute tre sequenze ipervariabili chiamate regioni di complementarietà (proprio perché complementari rispetto alla struttura tridimensionale dell'antigene destinato a legarsi; *Complementary Determining Regions*: CDR1, CDR2 e CDR3) (13). La diversità di queste regioni riflette l'ampia possibilità di combinazioni della regione variabile e dei segmenti genici che le codificano. Le catene kappa sono costituite da 40 regioni variabili e da 5 segmenti genici e le catene lambda da 30 regioni variabili e da 8 segmenti genici, con possibili sostituzioni aminoacidiche che comportano alterazioni strutturali delle CL stesse (14). Tali alterazioni possono determinare differenti livelli di tossicità della regione variabile: differenti interazioni elettrostatiche, gradi variabili di plasticità e caratteristiche idrofobiche o idrofiliche (15).

Nel soggetto normale, vi è un'iperproduzione di CL rispetto alle catene pesanti, per cui circa 500 mg di CL policlonali sono dismesse in circolo ogni giorno (16). Quando un clone di cellule B prolifera, si assiste alla secrezione di una quota aggiuntiva di CL monoclonali. Le CL kappa sono monomeriche e quelle lambda sono dimeriche, nonostante si osservino, per entrambi i tipi di CL, delle forme oligomeriche e polimeriche (16).

Le CL sono dismesse rapidamente e sono presenti nel liquido extracellulare circa nella stessa concentrazione; l'80% delle CL è extravascolare (17). I due terzi delle CL prodotte è di tipo kappa e ciò giustifica

il rapporto sierico kappa/lambda pari a 1.8/1 (18).

Le CL isolate da pazienti affetti da DP con danno renale secondario possiedono una maggiore capacità di aggregarsi e di formare molecole a più alto pm rispetto alle CL prodotte da pazienti con DP ma senza danno renale secondario (19). Inoltre, topi iniettati con CL di pazienti con lesioni renali da DP sviluppano lesioni simili a quelle dei pazienti, a testimoniare che specifici cloni di CL sono responsabili di *patterns* di danno renale specifici e trasferibili (20). Lo studio sostiene, quindi, in modo consistente, l'ipotesi secondo la quale è la struttura primaria delle CL a giocare un ruolo fondamentale nella patogenesi del *pattern* di danno.

TEST DI VERIFICA

1) Quale delle seguenti affermazioni relative alle discrasie plasmacellulari non è corretta?

- Sono dovute all'anomala proliferazione di un clone di cellule B
- Raramente si complicano coinvolgendo il rene
- L'incidenza aumenta nei soggetti anziani
- È difficile prevederne l'evoluzione nel tempo
- Hanno un'incidenza pari allo 0.15%.

2) Sostituzioni aminoacidiche nella regione variabile delle catene leggere possono comportare alterazioni strutturali delle catene leggere stesse che, a loro volta, determinano differenti livelli di tossicità, come:

- Caratteristiche idrofobiche
- Caratteristiche idrofiliche
- Differenti interazioni elettrostatiche
- Gradi variabili di plasticità
- Tutte le precedenti.

3) Le catene leggere isolate da pazienti affetti da discrasia plasmacellulare e danno renale rispetto a quelle isolate da pazienti con discrasia plasmacellulare senza danno renale possiedono:

- Una maggiore capacità di aggregarsi
- Una maggiore capacità di formare molecole ad alto pm
- Una minore capacità di aggregarsi
- Una minore capacità di formare molecole ad alto pm
- A+B.

IL RUOLO DEL RENE NEL METABOLISMO DELLE CATENE LEGGERE

Come abbiamo già detto, il rene svolge un ruolo chiave nel metabolismo delle CL. In condizioni fisiolo-

giche, la concentrazione plasmatica delle catene kappa (pm 22.25 KD) varia da 3.3 a 19.4 mg/L, mentre la concentrazione plasmatica delle catene lambda è di 5.7-26.3 mg/L. Il dosaggio delle CL ci permette di quantificare le CL libere, non legate, cioè, alle catene pesanti, e di valutare il rapporto kappa/lambda (0.26-1.65 in condizioni fisiologiche). Grazie a questi parametri possiamo stabilire la monoclonalità delle CL studiate e possiamo monitorare, nel tempo, l'andamento della malattia ematologica di base.

In realtà, l'esatta clearance glomerulare delle CL non è nota, ma, in base al loro pm e alla loro carica elettrica, si considera che, in condizioni fisiologiche, il 50% delle catene kappa e il 30% delle catene lambda vengano filtrati con un'emivita di 2-4 ore e di 3-6 ore rispettivamente (21). Di conseguenza, il range del rapporto kappa/lambda, nel soggetto normale, non è espressione della quantità di CL prodotte, ma di differenti gradi di clearance, a seconda della fascia di età considerata (18). In un giorno, il rene può metabolizzare da 10 a 30 g di CL, a fronte di una produzione giornaliera fisiologica di 0.5 g. Nel corso di severa insufficienza renale, il sistema reticolo-endoteliale diviene la principale via metabolica e l'emivita delle CL aumenta fino a 32 ore e oltre (22).

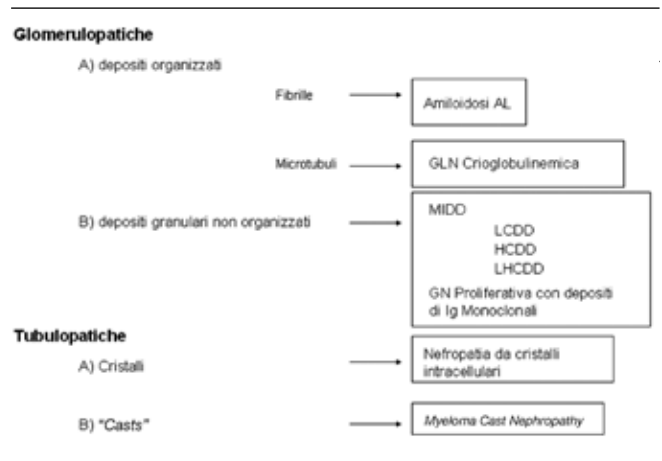
In generale, oltre l'80% delle CL circolanti, grazie al basso pm e alla carica elettrica positiva, viene liberamente filtrato dal glomerulo e, quindi, riassorbito a livello del tubulo prossimale, dove uno specifico sistema recettoriale di trasporto (cubilina/megalina), situato a livello del brush border, unitamente all'azione della claritina, determina il passaggio delle CL stesse all'interno delle cellule tubulari, dove vengono degradate da enzimi idrolitici lisosomiali (23).

Quando il processo recettoriale viene saturato, le CL raggiungono il tubulo distale e sono, quindi, escluse con le urine in elevata concentrazione. Se la quota circolante di CL è incrementata, il processo catabolico tubulare, oltre che venire saturato, può esso stesso scatenare un'eccessiva release di enzimi lisosomiali che conducono a un'alterazione acuta delle cellule tubulari con vacuolizzazione, frammentazione e desquamazione delle stesse (24).

Va, comunque, sottolineato come le cellule renali "residenti" siano differenzialmente predisposte al danno da CL. La risposta delle cellule mesangiali e delle cellule tubulari al singolo clone di CL monoclonali determina patterns di danno specifici e diversificati.

Sulla base dei meccanismi di metabolismo renale delle CL e delle differenti sedi del nefrone, dove si possono esplicare le potenziali azioni patologiche, possiamo distinguere due tipologie di danno renale: glomerulopatie e tubulopatie (25) (Tab. III).

TABELLA III - CATENE LEGGERE MONOCLONALI E TIPOLOGIA DI DANNO RENALE SECONDARIO



DANNO RENALE DA CATENE LEGGERE

GLOMERULOPATIE

Le cellule mesangiali supportano il glomerulo mediante la secrezione di matrice extracellulare e di mediatori/enzimi, come MMP-7 (*matrix metalloproteinase*), che regola la biologia glomerulare (26).

Le CL possono distruggere questi processi e danneggiare il glomerulo mediante (27, 28):

- la trasformazione del fenotipo delle cellule mesangiali stesse
- l'espansione della matrice extracellulare
- la deposizione nel mesangio di proteine derivate dalle CL con struttura fibrillare, come nell'amiloidosi AL, o granulare, come nella malattia da depositi di immunoglobuline monoclonali (MIDD), che comprende la malattia da depositi di catene leggere e da depositi di catene pesanti (LCDD-HCDD-LHCDD).

D'altra parte, che le CL abbiano un effetto tossico diretto sulle cellule residenti renali e mesangiali in particolare è supportato dall'osservazione che la chemioterapia, diretta contro il clone plasmacellulare, può comportare un rapido miglioramento clinico, compresa la riduzione della proteinuria (29). La tempistica della risposta alla terapia è troppo rapida perché possa trovare giustificazione nel controllo della malattia di base (30).

Le complesse interazioni delle cellule mesangiali con il danno glomerulare da CL sono sintetizzate nella Figura 1.

Le CL, responsabili di amiloidosi e *light chain deposition disease* (LCDD), seguono una comune via di ingresso nella cellula mesangiale, attraverso uno specifico recettore; in seguito, sono indirizzate verso differenti percorsi patogeni intracellulari responsabili

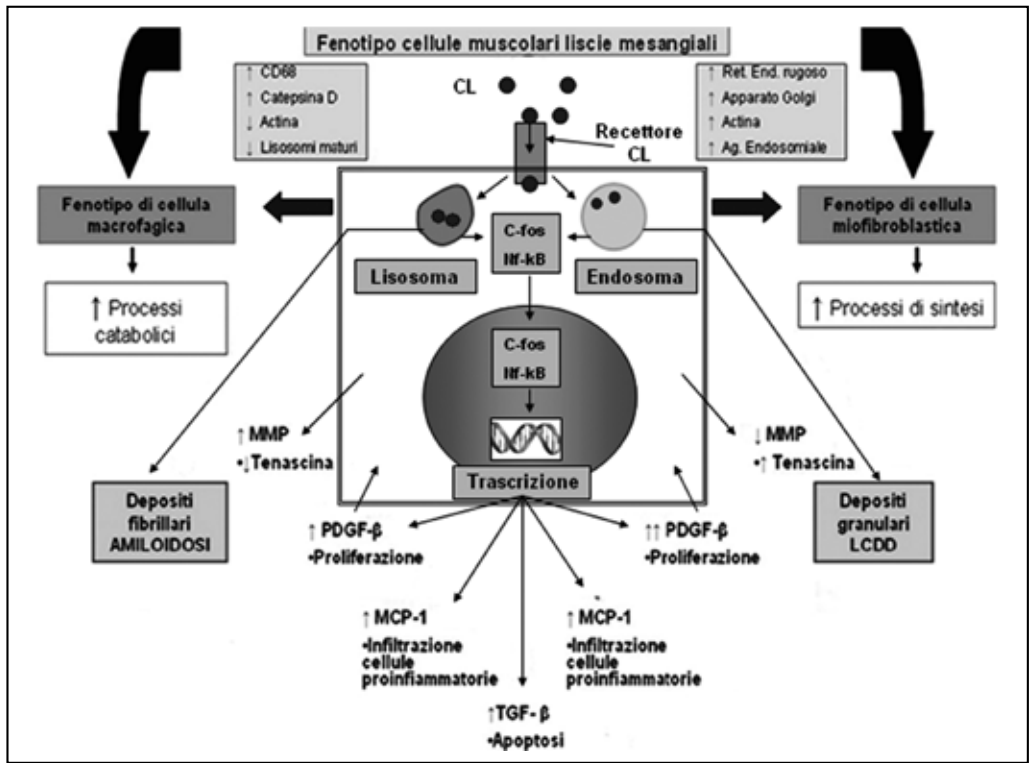


Fig. 1 - Interazioni delle CL con la cellula mesangiale: patogenesi amiloide AL e LCDD.

di effetti differenziati sulla cellula stessa (31, 32).
 Le CL amiloidogeniche sono catabolizzate entro i lisosomi, mentre le CL responsabili della LCDD sono processate entro gli endosomi. Questo catabolismo differenziato comporta un'alterata omeostasi della cellula mesangiale con riarrangiamento del citoscheletro, a cui fa seguito la trasformazione fenotipica della cellula stessa: fenotipo macrofagico o miofibroblastico (33).
 Per entrambe le tipologie di CL, il primo segnale intracellulare al nucleo è mediato da molecole come c-fos e NF-kappaB (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), che raggiungono il nucleolo e stimolano la trascrizione di MCP1 (*monocyte chemotactic protein*), con la conseguente attivazione della cascata infiammatoria, oltre che la produzione autocrina di varie citochine: PDGF-beta (*platelet-derived growth factor*), TGF-beta (*transforming growth factor*), MMP-7 (*matrix metalloproteinase*) (31).
 Nel caso della LCDD, una produzione incrementata di PDGF-beta e di TGF-beta comporta, rispettivamente, un importante stimolo alla proliferazione mesangiale e una delezione cellulare con incremento della matrice extracellulare, a cui contribuisce anche la ridotta espressione di MMP-7, responsabile dell'incremento di tinascina C (principale proteina della matrice riscontrata nei noduli mesangiali) (34).
 Al contrario, nel caso dell'amiloidosi, la produzione di TGF-beta non è incrementata, mentre è aumentata

ta l'espressione di MMP-7 con conseguenti riduzione della tinascina C, distruzione della matrice extracellulare e deposizione di fibrille.
 Per quanto riguarda l'amiloidosi, va, inoltre, sottolineato come, pur essendo le cellule mesangiali necessarie alla formazione dell'amiloido, ci sono evidenze, sia *in vitro* che *in vivo*, sulla possibilità, da parte delle stesse fibrille depositate, di agire come "nidi" per un'ulteriore espansione dei depositi di amiloide (35). In sintesi, la trasformazione fenotipica miofibroblastica fa assumere alla cellula un ruolo chiave nei processi di sintesi, quali proliferazione cellulare e produzione di matrice extracellulare, con conseguente deposizione di CL sotto forma di granuli, mentre la trasformazione fenotipica macrofagica è caratterizzata da maggiori effetti di tipo catabolico, come la mesangiolisi con deposizione più strutturata, di tipo fibrillare.
LCDD
 Complica il decorso delle DP in circa il 5% dei pazienti, due terzi dei quali sono affetti da mieloma multiplo (36). Le catene kappa, in particolare quelle contenenti il sottogruppo VkIV, sono over-espresse (37). Nelle regioni CDR delle CL patologiche per LCDD sono frequenti sostituzioni aminoacidiche idrofobiche che facilitano la precipitazione di materiale amorfo, a differenza dei depositi strutturati e fibrillari, tipici

dell'amiloidosi, dove le interazioni di tipo elettrostatico sembrano giocare un ruolo preminente (38).

I quadri clinici di presentazione più frequenti sono l'insufficienza renale rapidamente progressiva (60%) e la sindrome nefrosica (30%). La deposizione di CL in sede extrarenale è un evento molto frequente: tutti gli organi sono esposti a questa complicità, di conseguenza le manifestazioni cliniche possono essere le più varie, a seconda dell'organo coinvolto.

La lesione istologica renale più caratteristica è rappresentata dall'ispessimento delle membrane basali tubulari e glomerulari, oltre che delle pareti vascolari, a causa della deposizione di materiale eosinofilo e PAS positivo.

Il *pattern* classico, alla microscopia ottica, è quello di una sclerosi glomerulare nodulare a distribuzione focale o diffusa, in cui i noduli, costituiti da proteine della matrice extracellulare e da CL monoclonali, si confermano eosinofili e PAS positivi, mentre risultano negativi al Rosso Congo.

L'immunofluorescenza mostra tipicamente un *pattern* lineare lungo le membrane basali tubulari con antisiero specifico per catene kappa, più raramente lambda. Anche le pareti delle arterie e delle arteriole, oltre che le membrane basali glomerulari, i noduli mesangiali e la capsula di Bowman possono risultare positivi con lo stesso antisiero; sono, comunque, frequenti anche casi di negatività glomerulare all'immunofluorescenza.

Il reperto ultrastrutturale caratteristico è costituito dalla presenza di depositi lineari, elettrondensi e finemente granulari, lungo le membrane basali tubulari, glomerulari e la parete dei vasi arteriosi.

Amiloidosi AL

Può complicare il decorso delle DP, in particolare del mieloma multiplo, in circa il 15% dei casi, mentre solo il 20% dei pazienti con amiloidosi AL è affetto da mieloma. Nel restante 80% dei casi è comunque presente, quasi costantemente (oltre il 90% dei pazienti), una componente monoclonale, anche se a bassa concentrazione. Viene diagnosticata con il riscontro tissutale di depositi di amiloide mediante tecniche di immunostochimica e/o di microscopia elettronica.

È più frequentemente associata alle CL lambda piuttosto che kappa (39, 40). Le CL che contengono il sottogruppo V λ VI sono più frequentemente depositate nel glomerulo rispetto ad altre sedi (41, 42) ed è l'eterogenicità strutturale della regione variabile a condizionare la specificità d'organo delle CL individuali (39).

CL intatte o frammenti di CL, ottenute da plasmacellule di pazienti con amiloidosi AL, possono essere estratti anche dai depositi di amiloide nel rene degli

stessi pazienti, suggerendo che una sintesi anomala e/o una proteolisi inefficace sono momenti importanti nello sviluppo della malattia. Il ruolo di una sintesi anomala è, inoltre, supportato dalla possibilità di causare amiloidosi nel topo mediante l'iniezione di CL umane amiloidogeniche (43); e, sempre nella fase di sviluppo della malattia, va sottolineato il ruolo cruciale di un co-fattore, la *serum amyloid protein*, elaborata dal fegato, che si lega alle fibrille e che le protegge dalla degradazione proteolitica (43).

Mettendo a confronto le CL amiloidogeniche con le CL non amiloidogeniche, si sono evidenziate strutture primarie differenti a causa di sostituzioni aminoacidiche che condizionano, nelle prime, una minore stabilità termodinamica e la tendenza a formare fibrille (43).

Sempre alterazioni nelle sequenze aminoacidiche possono, inoltre, determinare modificazioni post-traslazionali come la glicosilazione, che si correla fortemente con la formazione di amiloide (43).

Il quadro clinico di presentazione dell'amiloidosi renale è più spesso la sindrome nefrosica (oltre 50% dei casi) con o senza compromissione funzionale renale; la proteinuria è spesso massiva (>10 g/24 ore).

Le lesioni istologiche renali sono caratterizzate dalla presenza di fibrille che possono depositarsi in tutti i compartimenti: glomeruli, vasi, interstizio e tubuli. Alla colorazione con ematossilina-eosina, i depositi sono di aspetto ialino e amorfo; sono PAS positivi, ma la colorazione che li caratterizza è il Rosso Congo.

All'esame ultrastrutturale, i depositi hanno un aspetto fibrillare, con distribuzione *random*, non organizzata, non *branching* e con diametro di 7-12 nm.

TUBULOPATIE

Nelle DP, l'esposizione delle cellule tubulari (proximali e distali) alle CL monoclonali può determinare un'ampia varietà di effetti patologici.

Dopo che le CL monoclonali si legano al sistema magalina/cubilina e che vengono internalizzate nelle cellule tubulari prossimali, accade una serie di eventi che vanno dal *knock-out* funzionale della cellula stessa (ridotta attività della Na-K-ATP, indispensabile per il metabolismo energetico cellulare), con riduzione dell'attività mitotica, apoptosi e morte cellulare, alla produzione di citochine (quali TNF, TGF, MMP, IL6, IL8), capaci di innescare una reazione infiammatoria, con richiamo di macrofagi e linfociti, oltre che di incrementare la sintesi di matrice extracellulare, con conseguente fibrosi e atrofia interstiziale (2).

Lungo il percorso endo-tubulare fino al tratto distale, il pH si acidifica progressivamente favorendo la precipitazione endo-tubulare delle CL in transito, unitamen-

te ad altri co-fattori, come la concentrazione crescente del fluido tubulare, la riduzione della velocità di flusso e la presenza di uromodulina libera. Va sottolineato, inoltre, che, il punto isoelettrico delle CL, ampiamente variabile da clone a clone, non si correla con la citotossicità delle cellule tubulari prossimali (i recettori cellulari di questo distretto sono verosimilmente pl indipendenti), mentre condiziona il sito di precipitazione delle CL all'interno del nefrone stesso (2).

Nefropatia da cristalli intracellulari - Sindrome di Fanconi da catene leggere

Le DP sono la causa più frequente della sindrome di Fanconi, che, come è noto, è caratterizzata da una disfunzione selettiva del riassorbimento del tubulo prossimale con conseguenti glicosuria, aminoaciduria, fosfaturia, iperuricosuria e perdita di bicarbonati (44).

La lesione istologica classica è costituita da depositi di CL nelle cellule tubulari prossimali, sotto forma di cristalli intra-citoplasmatici o, più esattamente, intralisosomiali. Questi depositi possono essere presenti anche a livello extrarenale.

Le CL del sottogruppo Vkl sono le più frequentemente coinvolte, nonostante siano stati descritti anche casi associati a CL lambda (2). Le CL estratte da cinque pazienti con cristalli intracellulari da sindrome di Fanconi da CL derivavano dallo stesso gene *LCO2/012* e presentavano nella regione CDR1 residui aminoacidici idrofobici, non polari (45). Si tratta di alterazioni che possono causare resistenza alla proteolisi e interferenze con le funzioni cellulari e favorire la cristallizzazione, a differenza di ciò che avviene nel mieloma multiplo, dove i difetti del riassorbimento tubulare prossimale sono, di solito, una conseguenza della tossicità diretta delle CL in assenza di cristalli intracellulari.

Rene da mieloma - Myeloma cast nephropathy

Rappresenta la manifestazione renale di più frequente riscontro nelle DP e si esprime, a livello clinico, con un quadro di insufficienza renale acuta o rapidamente progressiva, nella maggioranza dei casi (46). Sul piano isto-morfologico è caratterizzata da infiammazione e fibrosi tubulo-interstiziale associata a precipitati proteici, endo-tubulari distali (*casts*), costituiti da uromodulina e CL, spesso circondati da una reazione giganto-cellulare (47). Il riscontro di *casts* può avvenire anche in un terzo dei pazienti con LCDD, mentre è raro nei casi di amiloidosi.

Il meccanismo di formazione dei *casts* è ben descritto: nonostante alcuni cloni di CL svolgano un effetto di tossicità diretta sulle cellule tubulari prossimali, più frequentemente precipitano sotto forma di *casts* nel tu-

bulo distale, aggregandosi all'uromodulina, proteina glicosilata, secreta dal tratto ascendente dell'ansa di Henle (48). Si tratta di un legame pl dipendente, che viene favorito da concentrazioni elevate di sodio e calcio. I *casts* possono precipitare nel nefrone anche in presenza di basse concentrazioni di CL (49). L'uromodulina possiede una sequenza di 9 aminoacidi che costituisce il legame di interazione con la regione CDR3 delle CL (50).

Le CL, ad alta concentrazione, stimolate dal pH e da altri fattori, possono precipitare anche senza l'interazione con l'uromodulina e restare intrappolate nel gel endoluminale di uromodulina (2).

La formazione di *casts* determina l'ostruzione intratubulare con conseguente atrofia.

Nell'uomo, il danno renale acuto da cast *nephropathy* può essere precipitato da: disidratazione, ipercalcemia, assunzione di diuretici, FANS e mezzo di contrasto (2). Queste osservazioni sono in linea con gli studi che hanno mostrato un incremento del legame CL/uromodulina, riducendo il volume extracellulare, in presenza di pH acido e di ipercalcemia, aumentando la concentrazione endo-tubulare di sodio dopo la somministrazione di furosemide (49).

All'osservazione al microscopio ottico, i *casts* hanno un aspetto tipico denso, con struttura lamellare e rime di frattura; risultano intensamente eosinofili, PAS e Tioflavina T positivi e policromi alla colorazione con Tricromica. La progressiva apposizione di nuovo materiale determina un ingrandimento dei cilindri, la conseguente dilatazione del tubulo, l'appiattimento dell'epitelio di rivestimento e, talora, la rottura della membrana basale con diffusione nell'interstizio e reazione infiammatoria. I tubuli presentano spesso atrofia, appiattimento e degenerazione dell'epitelio e una necrosi più o meno estesa, indipendentemente dalla presenza di *casts*. I glomeruli sono solitamente indenni.

L'immunofluorescenza risulta positiva, di solito, solo a livello dei *casts* tubulari.

L'aspetto ultrastrutturale dei *casts* è piuttosto variabile: la matrice può essere densa e omogenea oppure frammentata o grossolanamente fibrillare.

TEST DI VERIFICA

4) Le catene leggere possono danneggiare il glomerulo mediante:

- a. La trasformazione fenotipica delle cellule mesangiali
- b. L'espansione della matrice extracellulare

- c. La deposizione mesangiale di fibrille
- d. La deposizione mesangiale di depositi granulari
- e. Tutte le precedenti.

5) Quale delle seguenti affermazioni non è corretta: la formazione dei casts endotubulari è favorita da:

- a. pH alcalino
- b. pH acido
- c. Presenza di uromodulina
- d. Concentrazioni elevate di sodio
- e. Concentrazioni elevate di calcio.

6) Nella sindrome di Fanconi da catene leggere le tipiche lesioni cristalliformi sono localizzate:

- a. All'interno del lume del tubulo distale
- b. Lungo la membrana basale glomerulare
- c. Nel mesangio
- d. Nei lisosomi delle cellule tubulari prossimali
- e. Nelle pareti dei vasi arteriosi.

7) Quale delle seguenti affermazioni non è corretta? Nella LCDD, la sclerosi nodulare glomerulare è:

- a. Eosinofila
- b. PAS positiva
- c. Focale o diffusa
- d. Rosso Congo positiva
- e. Rosso Congo negativa.

CASISTICA DEL NOSTRO CENTRO

Negli ultimi 5 anni abbiamo osservato 71 pazienti con DP, di cui 49 (69%) sono stati sottoposti a biopsia renale. I quadri isto-morfologici osservati sono riportati nella Tabella IV: la lesione istologica renale di più frequente riscontro si conferma essere il rene da mieloma, seguito dall'amiloidosi. Reperti più rari sono la LCDD e la nefropatia da cristalli intracellulari, in accordo con i dati della letteratura (2).

L'insufficienza renale acuta rappresenta il quadro d'esordio più frequente (55% dei casi), seguito dalla sindrome nefrosica, che complica il decorso clinico in un terzo circa dei casi. In oltre la metà dei pazienti, la diagnosi di DP e nefropatia secondaria è stata posta consensualmente.

TERAPIA

Il trattamento di qualsiasi nefropatia secondaria a DP non può prescindere dall'obiettivo di distruggere il clone plasmacellulare anomalo mediante la chemioterapia, associata o meno al trapianto di midollo. Consensualmente, vanno messe in atto tutte le misure

sintomatiche opportune (idratazione, alcalinizzazione, sospensione FANS, correzione ipercalcemia e iperuricemia ecc.).

Al momento attuale, non sono ancora stabilite specifiche terapie per la complicanza renale secondaria a DP, anche se è sempre più rilevante il numero di nuove ricerche e di segnalazioni promettenti che potrebbero migliorare, a breve termine, l'evoluzione di questi pazienti.

Per quanto riguarda l'amiloidosi AL, sono stati di recente riportati trattamenti in grado di degradare i depositi fibrillari. Nel topo, un anticorpo monoclonale diretto contro un epitopo di CL amiloidogenica ha accelerato la risoluzione dei depositi (51). Il livello circolante della *serum amyloid protein* può essere ridotto dal CPHPC (*R-1-pyrrolidine-2-carboxylic acid*), molecola che previene il legame tra la stessa *serum amyloid protein* e le proteine amiloidee; e, ancora, anticorpi *anti serum amyloid protein* hanno accelerato, nel topo, la scomparsa dei depositi e possono essere utilizzati in associazione con CPHPC (52).

Per quanto riguarda il rene da mieloma (*myeloma cast nephropathy*), la riduzione precoce delle CL circolanti può consentire il recupero della funzione renale, prima che sopraggiunga la progressione verso la fibrosi interstiziale irreversibile (2).

Una diagnosi precoce e un trattamento tempestivo rappresentano, quindi, due momenti essenziali nella gestione del paziente affetto da rene da mieloma.

Ci sono evidenze non controllate che il bortezomib, oltre ad agire in modo rapido ed efficace contro il clone anomalo, possa inibire direttamente il danno renale attraverso la molecola NFκB (53).

Approcci terapeutici futuri sono condizionati dalla possibilità di inibire l'interazione delle CL con le cellule tubulari prossimali e l'uromodulina. La proteina PACAP38 (*Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide*), per esempio, può migliorare gli effetti pro-infiammatori delle CL sulle cellule tubulari prossimali, oltre che sopprimere la crescita cellulare del mieloma stesso (54).

Infine, trattamenti extracorporei, con filtri ad alto *cut-off*, si sono mostrati in grado di rimuovere quan-

TABELLA IV - QUADRI ISTOLOGICI RENALI IN CORSO DI DISCRASIA PLASMACELLULARE (CASISTICA REGIONE EMILIA 2005-2010)

	N. Pazienti
<i>Myeloma Cast Nephropathy</i>	26 (53%)
Amiloidosi AL	11 (22%)
MIDD	3 (6%)
Cristalli Intracellulari Tubulari	1 (0.2%)
Lesioni non correlate alla discrasia plasmacellulare	8 (16%)

MIDD = Malattia da Depositi di Immunoglobuline Monoclonali

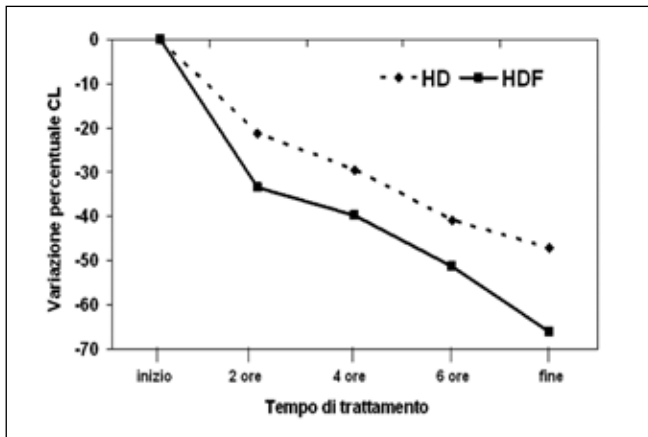


Fig. 2 - Confronto dell'abbattimento delle CL (espresso come variazione percentuale) in corso di trattamento con filtro ad alto cut-off nelle due modalità dialitiche: dialisi convenzionale (HD) ed emodiafiltrazione (HDF). Per tutta la durata del trattamento, abbiamo ottenuto abbattimenti maggiori con la metodica HDF.

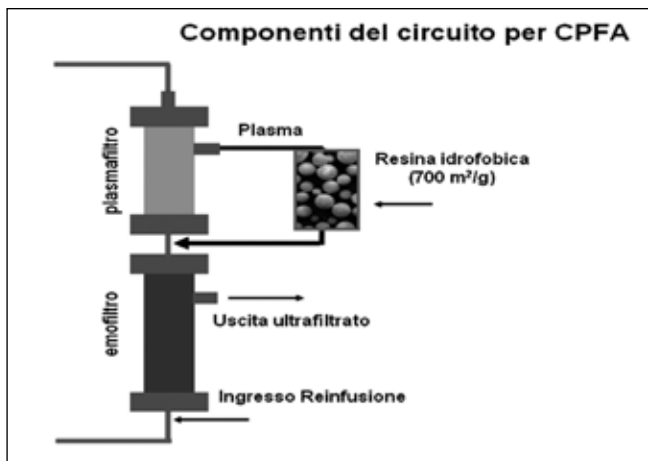


Fig. 3 - Componenti del circuito per CPFA: il plasmafiltro, in cui viene separata la componente cellulare del sangue dal plasma. Il plasma entra, poi, nella cartuccia, dove le CL vengono trattenute per adsorbimento; il plasma già trattato rientra, quindi, nel circuito ematico, dove trova un emofiltro per la depurazione dialitica di tipo convettivo.

tità significative di CL circolanti e di offrire, sempre in associazione con la chemioterapia, risultati incoraggianti in termini di recupero della funzione renale, specialmente nel trattamento dell'insufficienza renale acuta da mieloma multiplo (55).

I filtri ad alto *cut-off* sono già stati impiegati in campo sperimentale, soprattutto nel trattamento extracorporeo della sepsi, dove si sono dimostrati efficaci nel ridurre il livello circolante delle citochine pro-infiammatorie. Applicazioni cliniche sperimentali successive hanno, poi, evidenziato che il loro impiego, in emodiafiltrazione continua nel paziente settico, in confronto con emofiltro convenzionali, si associava, a 48 ore dall'inizio del trattamento, a un uso di dosi inferiori di noradrenalina per il sostegno dell'emodinamica e

a un recupero in termini di indice SAPS (*Simplified Apache Score*), uno degli indici di criticità clinica più usati nel paziente in terapia intensiva. Studi successivi hanno inoltre dimostrato che, anche in dialisi intermittente, con 4 ore di trattamento, i filtri ad elevato *cut-off* sono in grado, in confronto con filtri *high-flux*, di ottenere maggiori *clearance*, di tipo diffusivo, delle citochine.

Vista la vicinanza di pm fra la IL 6 (22.000 daltons) e le CL kappa (22.000 daltons), maggiore distanza, invece, per le lambda, 44.000 daltons, si è pensato all'impiego degli stessi filtri nella rimozione, diffusiva, delle CL. Tali filtri presentano, inoltre, l'ulteriore vantaggio di garantire, allo stesso tempo, la depurazione dialitica, evitando al paziente l'esecuzione di due trattamenti extracorporei separati.

In realtà, la plasmateresi convenzionale è storicamente il primo tipo di trattamento depurativo utilizzato con risultati comunque contrastanti. Nella nostra esperienza si tratta di una tecnica efficace (56), ovviamente in casi selezionati. Il recente lavoro di Leung et al. (57), che riesamina 40 pazienti trattati con plasmateresi, è in linea con le nostre conclusioni. La tecnica è efficace (miglioramento nel 78% dei casi), se sono rispettate queste due condizioni: casi di rene da mieloma istologicamente documentato e riduzione dei livelli sierici di CL di almeno il 50% rispetto ai valori basali.

Tuttavia, sono diversi i punti che limitano l'utilizzo della plasmateresi: i) nel paziente con insufficienza renale acuta e *deficit* funzionale renale severo, il trattamento di emodialisi vero e proprio, per la rimozione dei soluti uremici (urea, creatinina, acido urico, fosforo, ecc.), va associato alla plasmateresi; ii) la plasmateresi rimuove in modo non selettivo sia i soluti tossici (CL in questo caso) che le molecole indispensabili del patrimonio plasmatico (anticorpi, vitamine, nutrienti, fattori della coagulazione, ecc.); iii) la plasmateresi richiede grandi quantità di plasma e di albumina come liquido di sostituzione.

Alla luce di tali esperienze, sono attualmente in studio varie tecniche extracorporee di rimozione delle CL, che sembrano offrire nuove opportunità per un approccio terapeutico globale al trattamento dell'insufficienza renale acuta da mieloma multiplo:

- è in corso un trial randomizzato (58) per confermare i dati preliminari dello studio di Hutchison et al. (55), già citato, con filtri ad alto *cut-off*;
- sempre filtri ad alto *cut-off* vengono utilizzati anche con una strategia dialitica mista, diffusivo-convettiva, come l'emodiafiltrazione, nell'ipotesi di massimizzare l'eliminazione delle CL grazie alla combinazione, nello stesso trattamento, delle due tipologie di trasporto, convettivo e diffusivo (Fig. 2) (59);

- è in corso uno studio, *in vitro* e *in vivo*, con una tecnica aferetica di tipo adsorbitivo, la CPFA (*Coupled Filtration Plasma Adsorption*) (60).

La CPFA è anch'essa già ben nota nel campo clinico vero e proprio e non solo sperimentale, quale trattamento extracorporeo di supporto al complesso trattamento della sepsi, con o senza insufficienza renale. In questa metodica si associano una plasma-separazione, un trattamento aferetico di adsorbimento e un processo di emofiltrazione in post-diluizione (Fig. 3). Nel circuito si trovano, infatti, in successione, un plasmafiltro (*cut-off* di 800 kDa) per separare il plasma dalla componente cellulare del sangue, una cartuccia contenente una resina idrofobica (stirene divinilbenzene, diametro medio dei singoli grani 75 microns, diametro dei pori 30 nm e area di superficie 700 gr/m²), sulla quale viene perfuso il plasma uscito dal plasmafiltro (alla velocità di 30-40 mL/min), e, a valle, un emofiltro, nel quale rientra il plasma già trattato dalla resina, unitamente alla componente cellulare uscita dal plasmafiltro.

In CPFA, tecnica normalmente utilizzata come metodica di tipo continuo, il processo di purificazione del sangue nei riguardi dei mediatori della sepsi si basa su un adsorbimento da parte della resina, che è, però, un adsorbimento non selettivo. Vengono, infatti, rimosse dalla cartuccia numerose IL con diversa attività, sia pro- che anti-infiammatoria. La stessa resina in grado di adsorbire le molecole dei mediatori infiammatori è risultata in grado di adsorbire *in vitro* le catene kappa e lambda. I primi studi di cinetica clinica, eseguiti su 10 pazienti, hanno confermato che la CPFA è una tecnica efficace in termini di riduzione delle CL circolanti (60).

In sintesi, i dati preliminari di questi studi, pur con percentuali di abbattimento delle CL diversificati, a seconda delle tecniche e delle strategie dialitiche utilizzate, mostrano che la rimozione delle CL libere circolanti può rappresentare una terapia "ponte" nel trattamento del danno acuto secondario a DP in attesa che agisca la chemioterapia.

CONCLUSIONI

Il danno renale da CL, secondario a DP, può colpire tutti i distretti. Le conoscenze sui meccanismi responsabili di tale danno si stanno sempre più approfondendo. Le CL svolgono un ruolo patogenetico chiave: sono responsabili delle alterazioni funzionali del rene, vengono processate e depositate nel rene stesso, scatenano infiammazione, apoptosi e fibrosi e sono in grado di ostruire i nefroni. Ciascun clone di CL è unico e a sé stante e condiziona tipologie di lesioni renali differenziate a seconda della struttura primaria

e delle modificazioni post-traslazionali di quello stesso clone specifico. Il dosaggio delle CL sieriche e la biopsia renale rappresentano strumenti fondamentali per la diagnosi e il monitoraggio del danno renale da DP. Il trattamento delle DP è in continua evoluzione e dalla conoscenza, sempre più approfondita, della patogenesi delle nefropatie da CL sembrano emergere nuove opzioni terapeutiche.

TEST DI VERIFICA

8) La chemioterapia con bortezomib:

- Agisce contro il clone anomalo
- Interviene sul danno renale attraverso la molecola NFkappaB
- Riduce la pressione arteriosa
- A+B
- B+C.

9) Le tecniche extracorporee in grado di rimuovere le catene leggere circolanti sono:

- Plasmaferesi
- CPFA
- Emodialisi *standard*
- Trattamenti con filtri ad alto *cut-off*
- A+B+D.

10) Nella rimozione delle catene leggere circolanti la plasmaferesi presenta dei limiti. Quali?

- Rimuove in modo non selettivo sia i soluti tossici che le molecole indispensabili per il patrimonio plasmatico
- Deve essere associata all'emodialisi nei casi di insufficienza renale severa
- Richiede grandi quantità di plasma e albumina come liquido di sostituzione
- A+B+C
- A+B.

RIASSUNTO

Nelle discrasie plasmacellulari, il danno renale da catene leggere rappresenta una complicanza frequente, che può coinvolgere tutti i distretti, dai glomeruli ai tubuli e all'interstizio, con un'ampia varietà di quadri clinici e isto-morfologici di presentazione, non correlati tra di loro.

La conoscenza dei meccanismi patogenetici responsabili del danno renale è sempre più approfondita: le catene leggere possono causare danni funzionali, possono essere processate e metabolizzate per poi depositarsi nei tessuti, innescano la cascata infiammatoria, causano apoptosi e necrosi e ostruiscono i tubuli.

Ciascun clone della catena leggera monoclonale è unico ed è caratterizzato da una struttura primaria che condiziona la particolare tipologia di lesione istologica renale.

Il dosaggio delle catene leggere sieriche monoclonali e il calcolo del rapporto kappa/lambda, unitamente alla biopsia renale, rappresentano delle fasi diagnostiche fondamentali.

Un'interpretazione corretta e tempestiva del danno renale da catene leggere consente un inizio altrettanto

tempestivo di terapie specifiche. Si tratta di trattamenti in continua evoluzione poiché dalla conoscenza sempre più raffinata dei meccanismi patogenetici sembrano emergere nuove opzioni terapeutiche.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Maack T, Johnson V, Kau ST, et al. Renal filtration, transport and metabolism of low-molecular-weight proteins: a review. *Kidney Int* 1979; 16: 251-70.
2. Basnayake K, Stringer SJ, Hutchison CA, et al. The biology of immunoglobulin free light chains and kidney injury. *Kidney Int* 2011; 79: 1289-301.
3. Lin J, Markowitz GS, Valeri AM, et al. Renal monoclonal immunoglobulin deposition disease: the disease spectrum. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1482-92.
4. Basnayake K, Cheung CK, Sheaff M, et al. Differential progression of renal scarring and determinants of late renal recovery in sustained dialysis dependent acute kidney injury secondary to myeloma kidney. *J Clin Pathol* 2010; 63: 884-7.
5. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2003; 78: 21-33.
6. Knudsen LM, Hjorth M, Hippe E. Renal failure in multiple myeloma: reversibility and impact on the prognosis. *Eur J Haematol* 2000; 65: 175-81.
7. Gertz MA. Managing myeloma kidney. *Ann Intern Med* 2005; 143: 835-7.
8. Blade J, Fernandez Llama P, Bosch F, et al. Renal failure in multiple myeloma: presenting features and predictors of outcome in 94 patients from a single institution. *Arch Intern Med* 1998; 158: 1889-93.
9. Day ED. The light chains of immunoglobulins. In: Day ED (ed). *Advanced Immunochemistry*. Wiley: New York 1990; 3-51.
10. Solomon A. Light chains of immunoglobulins: structural-genetic correlates. *Blood* 1986; 68: 603-10.
11. Kawasaki K, Minoshima S, Schooler K, et al. The organization of the human immunoglobulin lambda gene locus. *Genome Res* 1995; 5: 125-35.
12. Rocca A, Khamlichi AA, Aucouturier P, et al. Primary structure of a variable region of the V kappa I subgroup (ISE) in light chain deposition disease. *Clin Exp Immunol* 1993; 91: 506-9.
13. Chothia C, Lesk AM, Tramontano A, et al. Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. *Nature* 1989; 342: 877-83.
14. Wetzel R. Domain stability in immunoglobulin light chain deposition disorders. *Adv Protein Chem* 1997; 50: 183-242.
15. Mian IS, Bradwell AR, Olson AJ. Structure function and properties of antibody binding sites. *J Mol Biol* 1991; 217: 133-51.
16. Bradwell AR, Harding SJ, Fourrier NJ, et al. Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clin Chem* 2009; 55: 1646-55.
17. Hutchison CA, Cockwell P, Reid S, et al. Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma: in vitro and in vivo studies. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 886-95.
18. Katzman JA, Clark RJ, Abraham RS, et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 2002; 48: 1437-44.
19. Myatt EA, Westholm FA, Weiss DT, et al. Pathogenic potential of human monoclonal immunoglobulin light chains: relationship of in vitro aggregation to in vivo organ deposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3034-38.
20. Solomon A, Weiss DT, Kattine AA. Nephrotoxic potential of Bence Jones proteins. *N Engl J Med* 1991; 324: 1845-51.
21. Solomon A, Waldmann TA, Fahey JL, et al. Metabolism of Bence Jones proteins. *J Clin Invest* 1964; 43: 103-17.
22. Miettinen TA, Kekki M. Hepatic and renal function on Bence Jones catabolism in human subjects. *Clin Chim Acta* 1967; 18: 395-407.
23. Knudsen LM, Hjort M, Hippe R. Renal failure in multiple myeloma: reversibility and impact on prognosis. *Nordic Myeloma Study Group. Eur J Haematol* 2000; 65: 175-81.
24. Merlini G, Pozzi C. Mechanism of renal damage in plasmacell dyscrasias: an overview. *Contrib Nephrol* 2007; 153: 66-86.
25. Santostefano M, Zanchelli F, Zaccaria A, et al. The ultrastructural basis of renal pathology in monoclonal gammopathy. *J Nephrol* 2005; 18: 659-75.
26. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92: 827-39.
27. Herrera GA, Russell WJ, Isaac J, et al. Glomerulopathic light chain-mesangial cell interactions modulate in vitro extracellular matrix remodeling and reproduce mesangiopathic findings documented in vivo. *Ultrastruct Pathol* 1999; 23: 107-26.
28. Keeling J, Herrera GA. Matrix metalloproteinases and mesangial remodelling in light-chain-related glomerular damage. *Kidney Int* 2005; 68: 1590-603.
29. Leung N, Dispenziera A, Fervenza FC, et al. Renal response after high-dose melphalan and stem cell transplantation is a favorable marker in patients with primary systemic amyloidosis. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 270-7.
30. Zeier M, Perz J, Linke RP, et al. No regression of renal amyloidosis in monoclonal gammopathy after successful autologous blood stem cell transplantation and significant clinical improvement. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2644-7.
31. Russell WJ, Cardelli J, Harris E, et al. Monoclonal light-chain mesangial cell interaction: early signalling events and subsequent pathologic effect. *Lab Invest* 2001; 81: 689-703.
32. Teng J, Russell WJ, Gu X, et al. Different types of glomerulopathic light chains interact with mesangial cell using a common receptor but exhibit different intracellular trafficking patterns. *Lab Invest* 2004; 84: 440-51.
33. Keeling J, Teng J, Herrera GA, et al. AL amyloidosis and light chain

- deposition disease induce divergent phenotypic transformations of human mesangial cells. *Lab Invest* 2004; 84: 1322-38.
34. Teng J, Zhang PL, Russell WJ, et al. Insights into mechanisms responsible for mesangial alterations associated with fibrogenic glomerulopathic light chains. *Nephron Physiol* 2003; 94: 28-38.
 35. Merlini G, Westermark P. The systemic amyloidoses: clearer understanding of the molecular mechanisms offers hope for more effective therapies. *J Int Med* 2004; 255: 159-78.
 36. Pozzi C, D'Amico G, Fogazzi GB, et al. Light chain deposition disease with renal involvement: clinical characteristics and prognostic factors. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 1154-63.
 37. Ganeval D, Noel LH, Preud'homme JL, et al. Light chain deposition disease: its relation with AL-type myeloidosis. *Kidney Int* 1984; 26: 1-9.
 38. Deret S, Chamillier J, Huang DB, et al. Molecular modelling of immunoglobulin light chains implicates hydrophobic residues in non-amyloid light chain deposition disease. *Protein Eng* 1997; 10: 1191-7.
 39. Bellotti V, Mangione P, Merlini G. Review: immunoglobulin light chain amyloidosis-the archetype of structural and pathogenetic variability. *J Struct Biol* 2000; 130: 280-9.
 40. Dember LM. Amyloidosis-associated kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3458-71.
 41. Solomon A, Frangione B, Franklin EC. Bence Jones proteins and light chains of immunoglobulin. Preferential association of the V lambda VI subgroup of human light chains with amyloidosis AL (lambda). *J Clin Invest* 1982; 70: 453-60.
 42. Comenzo RL, Zhang Y, Martinez C, et al. The tropism of organ involvement in primary systemic amyloidosis: contributions of Ig V(L) germ line gene use and clonal plasma cell burden. *Blood* 2001; 98: 714-20.
 43. Karimi M, Sletten K, Westermark P. Biclinal systemic AL-amyloidosis with one glycosylated and one nonglycosylated. *Scand J Immunol* 2003; 57: 319-23.
 44. Lacy MQ, Gertz MA. Acquired Fanconi's syndrome associated with monoclonal gammopathies. *Hematol Oncol Clin North Am* 1999; 13: 1273-80.
 45. Deret S, Denoroy L, Lamaerine M, et al. Kappa light chain associated Fanconi's syndrome: molecular analysis of monoclonal immunoglobulin light chains from patients with and without intracellular crystals. *Protein Eng* 1999; 12: 363-9.
 46. Herrera GA, Joseph L, Gu X, et al. Renal pathologic spectrum in an autopsy series of patients with plasmacell dyscrasia. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128: 875-9.
 47. Pasquali S, Zucchelli P, Casanova S, et al. Renal histological lesions and clinical syndromes in multiple myeloma. *Renal Immunopathology Group. Clin Nephrol* 1987; 27: 222-8.
 48. Sanders PW, Herrera GA, Chen A, et al. Differential nephrotoxicity of low molecular weight proteins including Bence Jones proteins in the perfused rat nephron in vivo. *J Clin Invest* 1988; 2086-96.
 49. Sanders PW, Booker BB. Pathobiology of cast nephropathy from human Bence Jones proteins. *J Clin Invest* 1992; 89: 630-9.
 50. Ying WZ, Sanders PW. Mapping the binding domain of immunoglobulin light chains for Tam-Horsfall protein. *Am J Pathol* 2001; 158: 1859-66.
 51. Hrnčić R, Wall J, Wolfenbarger DA, et al. Antibody-mediated resolution of light chain-associated amyloid deposits. *Am J Pathol* 2000; 157: 1239-46.
 52. Bodin K, Ellmerich S, Kahan MC, et al. Antibodies to human serum amyloid P component eliminate visceral amyloid deposits. *Nature* 2010; 468: 93-7.
 53. Dimopoulos MA, Terpos E, Chanan-Khan A, et al. Renal impairment in patients with multiple myeloma: a consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4976-84.
 54. Amura A, Li M, Batuman V. Potential protective action of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP38) on in vitro and in vivo models of myeloma kidney injury. *Blood* 2006; 107: 661-8.
 55. Hutchison C, Bradwell AR, Cook M, et al. Treatment of acute renal failure secondary to multiple myeloma with chemotherapy and extended high cut-off hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 745-54.
 56. Zucchelli P, Pasquali S, Cagnoli L, et al. Controlled plasma exchange trial in acute renal failure due to multiple myeloma. *Kidney Int* 1988; 33: 1175-80.
 57. Leung N, Gertz MA, Zeldenrust SR, et al. Improvement of cast nephropathy with plasma exchange depends on the diagnosis and on reduction of serum free light chains. *Kidney Int* 2008; 73: 1282-8.
 58. Hutchison C, Cook M, Heyne N, et al. European trial of free light chain removal by extended hemodialysis in cast nephropathy (EuLITE): a randomised control trial. *Trials* 2008; 9: 55-9.
 59. Pasquali S, Mancini E, Santoro A, et al. Removal of free circulating light chains by a high cut-off membrane: different dialysis strategies. (abs). American Society of Nephrology (ASN), Annual Meeting, 2008, Philadelphia.
 60. Mancini E, Sestigiani E, Gissara Z, et al. Light chain removal by means of adsorption in the extracorporeal treatment of myeloma-induced cast nephropathy. (abs). XLVIII ERA-EDTA Congress, 2011, Praga.