

LIGHT CHAIN AMILOYDOSIS – CLINICAL, LABORATORY  
CHARACTERISTICS AND TREATMENT APPROACHAMILOIDOZA LAKIH LANACA – KLINIČKO-LABORATORIJSKE  
KARAKTERISTIKE I TRETMAN OBOLELIHAna Stanković<sup>1</sup>, Milana Lazarević<sup>1</sup>, Sara Srdić<sup>1</sup>, Aleksandra Sretenović<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija<sup>2</sup> Klinički centar Srbije, Klinika za hematologiju, Beograd, Srbija

Correspondence: anamaja074@gmail.com

## Abstract

**Introduction:** Light chain amyloidosis (AL) is a plasma cell neoplasia characterized by deposition of a pathological insoluble fibrillary protein, i.e. light chain immunoglobulin.

**Aim:** To show clinical and laboratory characteristics of patients, course, treatment modalities, prognosis etc.

**Material and methods:** A number of 30 newly diagnosed patients with AL amyloidosis were analyzed. Histopathological diagnosis was made by identifying Congo red positive deposits in the affected organs.

**Results:** A number of 30 patients (pts) was analyzed, 21 male/9 female, with average age of 59 years. Paraprotein was found in 26 (86.7%). The most frequent monoclonal protein was immunoglobulin light chain (14pts, 46.7%), Lambda isotope was more common (21pts, 70%). Organ involvement: heart (21pts, 70%), kidney (21pts, 70%), sub cutis (18pts, 60%), bone marrow (12pts, 40%), liver (7pts, 23.3%) and 9pts (30%) had unusual localization (lung, skin, uterus); 18pts (60%) had more than one parenchymal organ involved. Biomarkers of cardiac involvement: BNP in 8pts (26.7%), NT- proBNP in 13pts (43.3%), and troponin 7pts (23.3%). Elevation of LDH was found in 7pts (23.3%). Anemia was observed in 3 (10%) and thrombocytopenia in 1 pts (3.3%). With conventional chemotherapy 21pts (70%) were treated, bortezomib was applied in 9pts (30%). With ASCT was performed on 2pts (6.7%). Overall treatment response (ORR,  $\geq$ PR) was achieved in 21pts (70%). All pts treated with bortezomib based HT had treatment response ( $\geq$ PR). In transplant ineligible patients, treatment modality did not affect PFS (Log Rank = 1.675,  $p = 0.196$ ), but showed statistically significant effect on OS (Log Rank = 3.834,  $p = 0.05$ ). Number of parenchymal organ involvement (1 vs.  $\geq 2$ ) did not show influence neither of PFS or OS (PFS: Log Rank = 0.017,  $p = 0.895$ ; OS: Log Rank = 0.739,  $p = 0.390$ ). Although the most important negative prognostic factor, cardiac involvement had no effect on OS (Log Rank = 2.480,  $p = 1.410$ ).

**Conclusion:** Heart involvement indicated a worse prognosis for patients. Bortezomib based protocols and HDT with ASCT are essential for maintaining long-term remission and improving OS.

## Keywords:

amyloidosis,  
treatment,  
prognosis

## Sažetak

**Uvod:** Amiloidoza lakih lanaca (AL) predstavlja neoplaziju plazma ćelija karakterisanu taloženjem nerastvorljivog fibrilarnog proteina, tj. lakih lanaca imunoglobulina.

**Cilj:** Cilj rada je prikazati kliničko-laboratorijske karakteristike obolelih, tok, modalitete lečenja i prognozu.

**Materijal i metode:** Analizirano je 30 novootkrivenih bolesnika sa AL. Patohistološka dijagnoza postavljena je identifikacijom kongo crvenih (engl. *congo red*) pozitivnih amiloidnih naslaga u zahvaćenom organu.

**Rezultati:** Analizirano je 30 bolesnika, 21 muškarac/9 žena, prosečne starosti 59 godina. Paraprotein je pronađen kod 26 (86,7%) bolesnika, najčešće laki lanci imunoglobulina (14, 46,7%), dominantno lambda (21, 70%). Zahvaćenost organa: srce (21, 70%), bubreg (21, 70%), potkožno masno tkivo (18, 60%), koštana srž (12, 40%), a 9 bolesnika (30%) je imalo neobične lokalizacije (pluća, koža, uterus). Osamnaest bolesnika (60%) imalo je zahvaćenost više od 1 parenhimskog organa. Što se tiče biomarkera srčane zahvaćenosti, kod 8 (26,7%) bolesnika pronađen je B-natriuretski peptid (engl. *natriuretic peptid type B, BNP*), N-terminalni pronatriuretski peptid tipa B (engl. *N-terminal pro B-type natriuretic peptide, NT-proBNP*) kod 13 (43,3%) i troponin T kod 7 (23,3%). Povišena laktat dehidrogenaza (LDH) detektovana je kod 7 bolesnika (23,3%). Anemiju su imala 3 (10%) bolesnika, trombocitopeniju 1 bolesnik (3,3%). Konvencionalnom hemioterapijom (HT) lečen je 21 bolesnik (70%), bortezomibom 9 (30%). Dva bolesnika (6,7%) su bila uključena u program autologe transplantacije matičnih ćelija hematopoeze (ATMČH). Povoljan terapijski odgovor (ORR, > PR) postignut je kod 21 bolesnika (70%). Svi bolesnici lečeni bortezomibom postigli su povoljan terapijski odgovor (> PR). Kod nepodobnih za transplantaciju, modalitet lečenja nije uticao na PFS (*Log Rank* = 1,675, *p* = 0,196), ali je pokazao statistički značajan uticaj na OS (*Log Rank* = 3,834, *p* = 0,05). Broj zahvaćenih parenhimskih organa nije pokazao uticaj na PFS i OS (PFS: *Log Rank* = 0,017, *p* = 0,895; OS: *Log Rank* = 0,739, *p* = 0,390). Srčano zahvatanje nije imalo uticaja na OS (*Log Rank* = 2,480, *p* = 1,410).

**Zaključak:** Zahvaćenost srca je ukazalo na lošiju prognozu pacijenata. Protokoli sa bortezomibom i autologa transplantacija najznačajniji su za održavanje dugotrajne remisije i poboljšanje ukupnog preživljavanja.

### Ključne reči:

amiloidoza,  
tretman,  
prognoza

## Uvod

Amiloidoza spada u grupu retkih i heterogenih poremećaja koji nastaju kao posledica taloženja abnormalnog proteina, amiloida. Amiloid nastaje od globularnih rastvorljivih proteina koji se abnormalno preklapaju i kao nerastvorljivi fibrili se talože u vanćelijskom prostoru svih tkiva i organa (1). Klinički značaj amiloida varira od slučajnih lokalizovanih asimptomatskih naslaga do fatalnih sistemskih oblika koji remete strukturu i funkciju tkiva i organa u celom telu. U odnosu na poreklo proteina koji se abnormalno talože postoje različite grupe amiloidoza. Jedna od najčešćih je amiloidoza lakih lanaca (AL), gde je najčešći sastav amiloida poreklom od monoklonskih *kappa* i *lambda* lakih lanaca i njihovih fragmenata. Veća je učestalost pojave *lambda* lakih u odnosu na *kappa* lance. (1)

Internacionalna radna grupa za mijelom (engl. *International Myeloma Working Group, IMWG*) predložila je sledeće kriterijume za postavljanje dijagnoze AL amiloidoze:

- 1) prisustvo sistemskog sindroma koji upućuje na amiloidozu;
- 2) histopatološka potvrda amiloida u zahvaćenom organu (pozitivno bojenje na Kongo crveno);

- 3) dokaz lakih lanaca imunoglobulina kao amiloid-prekursornog proteina spektrometrijom ili imunoelektronskom mikroskopijom;

- 4) dokaz klonalnog plazma ćelijskog procesa (monoklonski protein u serumu i/ili urinu, abnormalni odnos lakih lanaca seruma ili monoklonski plazmociti u bioptatu kostne srži).

Zbog sekrecije incompletnog imunoglobulinskog molekula, standardna imunoelektroforeza proteina nije dovoljno osetljiva metoda za detekciju abnormalnog proteina, već je neophodna analiza slobodnih lakih lanaca seruma (*serum free lightchain, sFLC*) uz određivanje njihovog odnosa, koji je uvek narušen u zavisnosti od zahvaćenog izotipa lakog lanca. Najveću senzitivnost za dokazivanje amiloidnih depozita pokazuje biopsija masnog tkiva prednjeg trbušnog zida (BMT), koja je kod 85% bolesnika sa primarnom amiloidozom pozitivna na Kongo crveno, ali se može uraditi i ciljana biopsija zahvaćenog organa (bubreg, rektum, jetra). Senzitivnost BMT se povećava na 89% sprovođenjem biopsije koštane srži, koja je neophodna u detekciji monoklonske plazma ćelijske infiltracije (2). Značajno je napomenuti da je kod primarne AL amiloidoze procenat monoklonskih plazmocita u srži značajno niži nego u slučaju multiplog mijeloma, i obično procenat plazmocita ne prelazi 10%. U slučaju da infiltracija prelazi

20%, bolest uglavnom ima klinički tok sličniji mijelomu uz češću srčanu zahvaćenost, ređu zahvaćenost bubrega, uz češće prisutne visokorizične citogenetske abnormalnosti detektovane i FISH metodom (interfazna fluorescentna *in situ* hibridizacija) uz lošiju prognozu. Sa druge strane, sekundarna AL amiloidoza često je udružena sa imunoproliferativnim bolestima poput multiplog mijeloma i Valdenštromove makroglobulinemije, te je važno diferencijalno dijagnostički isključiti postojanje ovih oboljenja (2).

Najčešće zahvaćeni organi su bubrezi, srce, potkožno masno tkivo (PMT), gastrointestinalni trakt, periferni i autonomni nervni sistem. Amiloidoza zbog svog sistemskog javljanja, spada u grupu velikih imitatora različitih oboljenja. Optimalno lečenje pacijenata zahteva ranu dijagnozu (3). Najosetljivija metoda za potvrdu oboljenja je biopsija zahvaćenog organa, ali manje invazivne su biopsija kostne srži i potkožnog masnog tkiva, čemu se najčešće i pribegava (5). Za dokazivanje zahvaćenosti srca koristi se određivanje srčanih markera: B-natriuretskog peptida (engl. *natriuretic peptid type B*, BNP), N-terminalnog pro-natriuretskog peptida tipa B (engl. *N-terminal pro B-type natriuretic peptide*, NT-proBNP) i troponina. Protokoli zasnovani na bortezomibu i visokodoznoj hemioterapiji (engl. *high dose therapy*, HDT) autologom transplantacijom matičnih ćelija hematopoeze (ATMČH) pokazali su se značajnim za održavanje dugotrajne remisije i poboljšanje ukupnog preživljavanja (*optimal survival*, OS) (3). Cilj ove studije je da se prikažu različite kliničko-laboratorijske manifestacije bolesti, koji su terapijski modaliteti najčešće primenjivani i sa koliko uspeha, kao i prognoza AL koja je u značajnoj vezi sa ranim prepoznavanjem i dijagnostikovanjem ove bolesti.

## Materijal i metode

Istraživanje je sprovedeno u vidu retrospektivne studije kojom je obuhvaćeno 30 novootkrivenih bolesnika (21 muškarac i 9 žena) sa AL na Odeljenju za mešovite limfoproliferativne bolesti Klinike za hematologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije, u periodu od januara 2012. do juna 2020. Patohistološka dijagnoza postavljena je prikazivanjem amiloidnih naslaga u biopsatu tkiva bojenog kongo crvenim. Dijagnoza i lečenje su sprovedeni u skladu sa trenutnim preporukama Međunarodnog društva za amiloidozu. Kliničke karakteristike su analizirane pomoću metoda deskriptivne statistike. Za analizu kategoričkih varijabli korišćen je Fišerov test tačne verovatnoće (engl. *Fisher's exact test*). Metode Kaplan-Majer (engl. *Kaplan-Meier*) i *Log Rank* korišćene su za analizu preživljavanja, odnosno za utvrđivanje razlike u preživljavanju bez progresije bolesti (engl. *Progression free survival*, PFS) i ukupnom preživljavanju (OS). Svi proračuni su rađeni u programu SPSS, verzija 21.0.

Kod svih ispitanika praćeni su:

- 1) tip M-proteina (elektroforeza i imunoelktroforeza proteina seruma i/ili urina)
- 2) *kappa* / *lambda* lanci
- 3) zahvaćenost organa

- 4) anemija i trombocitopenija (Hg < 100 g/L, Tr < 100 x 10<sup>9</sup>/l)
- 5) laktat-dehidrogenaza (LDH)
- 6) BNP
- 7) NT-proBNP
- 8) troponin

## Rezultati

Od svih uključenih bolesnika u studiji, 21 osoba je bila muškog, a 9 osoba ženskog pola. Prosečna starost obolelih je iznosila 59 godina, a kretala se u rasponu od 39 do 77 godina. Paraprotein je pronađen kod 26 bolesnika (86,7%), 4 bolesnika (13,35%) nisu imala M-komponentu u cirkulaciji. Imunoglobulin g (IgG) je pronađen kod 9 (30%), a IgA kod 3 bolesnika (10%) (tabela 1). Najčešći monoklonalni protein bio je imunoglobulinski laki lanac (14 bolesnika, 46,7%). Češći je bio *lambda* izotip (21 bolesnik, 70%).

Tabela 1.

Pol	21 muškarac	9 žena
Starost	Opseg vrednosti	Medijana
	39 - 77	61
Tip M-protein	Učestalost (br. pacijenata)	Vrednost (%)
	BJ	14
IgG	9	30,0
IgA	3	10,0
Bez M-proteina	4	13,3
Tip lakog lanca	Učestalost (br. pacijenata)	Vrednost (%)
	Kappa	5
Lambda	21	80,8
Zahvaćenost bubrega amiloidom	Učestalost (br. pacijenata)	Vrednost (%)
	21	70,0
Zahvaćenost srca amiloidom	Učestalost (br. pacijenata)	Vrednost (%)
	21	70,0
Anemija	Hg < 100 g/l	Hg > 100 g/l
	3	27
Trombocitopenija	< 100 x 10 <sup>9</sup> /l	> 100 x 10 <sup>9</sup> /l
	1	29
LDH	normalna	povišena
	23	7
Troponin	normalna	povišena
	23	7
BNP	normalna	povišena
	22	8
NT-proBNP	normalna	povišena
	17	13

Zahvaćenost organa u pogledu taloženja amiloida bila je sledeća: srce (21 bolesnik, 70%), bubreg (21 bolesnik, 70%), potkožno masno tkivo (18 bolesnika, 60%), koštana srž (12 bolesnika, 40%), jetra (7 bolesnika, 23,3%), a 9 bolesnika (30%) je imalo neuobičajenu lokalizaciju taloženja amiloida kao što su pluća, koža i materica. Osamnaest bolesnika (60%) imalo je zahvaćenost više od jednog parenhimskog organa. Elevacija srčanih biomarkera kao indikatora zahvaćenosti srca bila je: BNP kod 8 (26,7%), NT-proBNP kod 13 (43,3%) i tropoin kod 7 bolesnika (23,3%). Povišena koncentracija LDH utvrđena je kod 7 bolesnika (23,3%). Anemiju ( $Hg < 100$  g/L) su imala 3 bolesnika (10%), a trombocitopeniju ( $Tr < 100 \times 10^9$  g/L) 1 bolesnik (3,3%). Konvencionalnom hemioterapijom, zasnovanom na primeni alkilirajućih agensa (*Cyclophosphamid/Mel-Dex*) lečen je 21 bolesnik (70%), dok je hemioterapija zasnovana na bortezomibu (*CyBorD*) primenjena kod 9 bolesnika (30%). Dva bolesnika (6,7%) uključena su u program visokodozne HT (*Melphalan 200 mg/m<sup>2</sup>*) praćene ATMČH. Povoljan terapijski odgovor (engl. *overall response rate, ORR, > partial remission, PR*) postignut je kod 21 bolesnika (70%). Sve osobe lečene HT sa bortezomibom imale su povoljan terapijski odgovor na lečenje ( $\geq PR$ ) **grafikon 4** i **grafikon 5**. Kod bolesnika koji nisu ispunjavali uslove za transplantaciju modalitet lečenja nije uticao na PFS ( $Log Rank = 1,675, p = 0,196$ ), ali je pokazao statistički značajan uticaj na OS ( $Log Rank = 3,834, p = 0,05$ ). Broj zahvaćenosti parenhimskih organa (1 nasuprot  $\geq 2$ ) nije pokazao uticaj ni na PFS, ni na OS (PFS:  $Log Rank = 0,017, p = 0,895$ ; OS:  $Log Rank = 0,739, p = 0,390$ ). Iako najvažniji negativni prognostički faktor, srčana zahvaćenost nije uticala na OS ( $Log Rank = 2,480, p = 1,41$ ).

## Diskusija

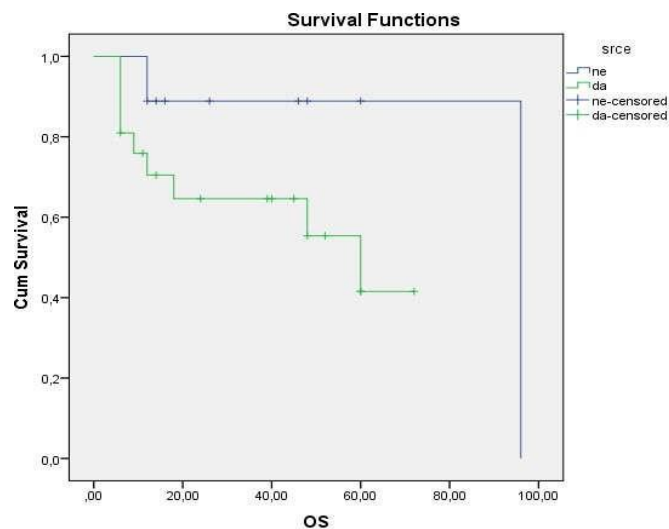
Amiloidoza lakih lanaca predstavlja najčešći tip stečene amiloidoze koja se javlja u adultnoj populaciji, prema literaturi često u uzrasnoj grupi 50 - 60 godina. Prosečna starost naših ispitanika je iznosila 59 godina, što odgovara podacima iz literature (5-8). U našoj studiji najčešće zahvaćeni organi su bubrezi i srce, zatim gastrointestinalni trakt, jetra, autonomni nervni sistem i perifireni nervni sistem, što se u potpunosti poklapa sa već poznatim podacima o učestalosti zahvaćenih organa (4-8). Imajući u vidu mali broj obolelih, svega 30 u periodu od januara 2012. do juna 2020. godine, možemo potvrditi činjenicu da se radi o retkom oboljenju.

U našoj studiji je inicijalno bio broj obolelih muškaraca nego žena (21:9). *Lambda* laki lanci su 4 puta češće zastupljeni nego *kappa* laki lanci, što je takođe u skladu sa podacima iz literature (2-4).

Kao značajni parametri za dijagnozu svakako se ističu BNP, NT-proBNP i troponin, koji nam ukazuju na zahvaćenost srca, što je i kod nas pokazalo veliki značaj.

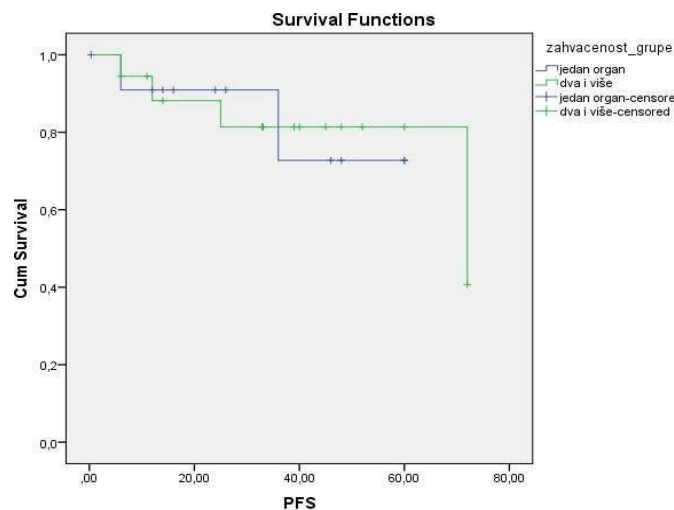
Zahvaćenost srca, koja predstavlja glavni negativni prognostički faktor, kod naših bolesnika pokazala se značajnom za ukupno preživljavanje. Iz priloženih grafikona

možemo jasno videti da je kod bolesnika sa srčanom amiloidozom lošije preživljavanje nego kod bolesnika kod kojih srčana funkcija nije oštećena. Zbog malog broja ispitanika nije, međutim, ustanovljena statistička značajnost **grafikon 1** (1, 4, 6).



**Grafikon 1.** Ukupno preživljavanje pacijenata u odnosu na zahvaćenost srca

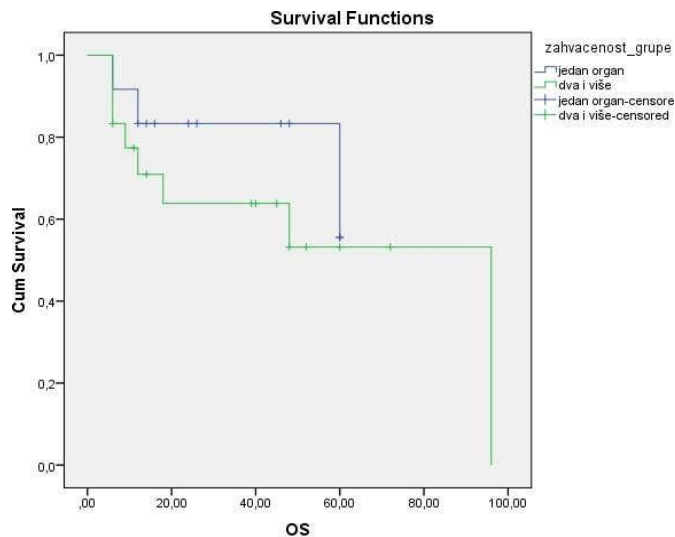
Ukupno preživljavanje je smanjeno kod bolesnika kod kojih su zahvaćeni dva ili više parenhimskih organa. Svi naši ispitanici imaju zahvaćen bar po jedan organ (**grafikon 2, grafikon 3**).



**Grafikon 2.** Progresija bolesti u odnosu na broj zahvaćenih organa

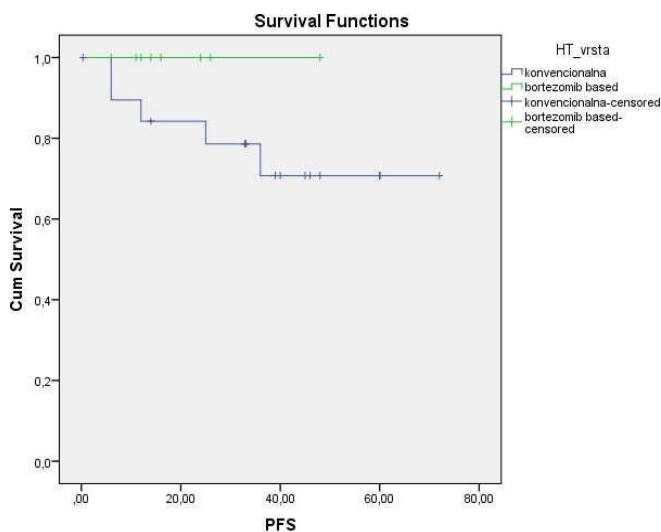
U terapijskom postupku se najboljim pokazao lek iz grupe inhibitora proteazoma, bortezomib, gde je povoljan terapijski odgovor postignut kod svih bolesnika koji su lečeni ovim modalitetom (9/9). Značaj ovog leka u terapiji AL pokazao se statistički značajnim. Njegova efikasnost u postizanju povoljnog terapijskog odgovora je razlog zašto je bortezomib okosnica u lečenju bolesnika sa AL i zašto predstavlja terapiju izbora. Njegova prednost je što se može koristiti kod bolesnika sa





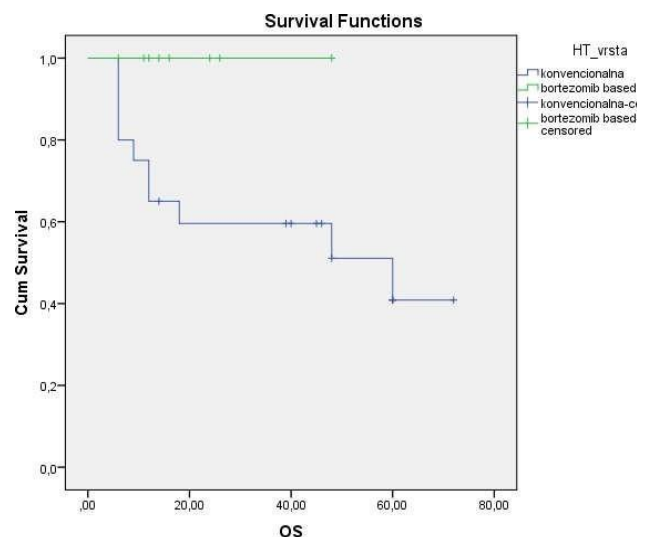
**Grafikon 3.** Ukupno preživljavanje pacijenata u odnosu na broj zahvaćenih organa

ozbiljnom srčanom i bubrežnom insuficijencijom, čije je preživljavanje, kao što smo spomenuli, izuzetno loše. Nedostatak ovog leka je njegova neurotoksičnost, pa se ne može davati pacijentima sa afekcijom perifernog nervnog sistema (PNS) (4). Konvencionalna terapija, koja se takođe koristi u lečenju, pokazala se manje efikasnom od bortezomiba (**grafikon 4, grafikon 5**).



**Grafikon 4.** Progresija bolesti u odnosu na primenenu terapiju

Visokodozna hemioterapija praćena autologom transplantacijom matičnih ćelija hematopoeze, posle indukcionog lečenja, namenjena je bolesnicima sa malim rizikom od komplikacija. Mora se pažljivo ispitati da li bolesnici ispunjavaju uslove za ovaj postupak kako bi se smanjio rizik od smrtnosti uzrokovane transplantacijom. Bolesnici sa visokim rizikom su oni koji su stariji od 65 godina, koji imaju smanjenu glomerularnu filtraciju (< 50 ml/min) i koji imaju smanjenu ejakcionu frakciju leve komore (< 45%) (4,5). Zbog brojnih faktora rizika samo su dva naša bolesnika zadovoljila uslove za transplantaciju, pa se rezultati ne mogu smatrati statistički značajnim.



**Grafikon 5.** Ukupno preživljavanje u odnosu na primenenu terapiju

## Zaključak

Prema rezultatima dobijenim u ovom istraživanju zaključujemo da oboleli sa zahvaćenošću srca, koja je glavni negativni prognostički faktor, imaju lošije preživljavanje u odnosu na one bez srčane zahvaćenosti. Parametri kao što su BNP, NTproBNP i troponin pokazali su se značajnim za prikazivanje prisustva amiloidoze srca. Novi modaliteti lečenja, koji podrazumevaju protokole zasnovane na bortezomibu i uključnje u program visokodozne hemioterapije sa autologom transplantacijom matičnih ćelija hematopoeze su neophodni za postizanje dugotrajne, stabilne remisije i daju nam nadu za bolje preživljavanje ovih bolesnika. Nedostatak studije je nedovoljan broj ispitanika, s obzirom na to da je primarna AL amiloidoza izuzetno retko oboljenje.

Zbog činjenice da je amiloidoza veliki imitator mnogih oboljenja, bitno je da bez obzira na njenu retku pojavu na vreme posumnjamo i ispitamo sve prethodno navedene parametre koji će nam pomoći u diferencijalnoj dijagnozi.

## Literatura

- Picken MM. The Pathology of Amyloidosis in Classification: A Review. *Acta Haematol.* 2020; 143:322–34.
- Longo DL. Plasma cell disorders. In: Fauci AS, Braunwald E, Is-selbacher KJ, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th ed. New York: McGraw-Hill; 1998. p. 1417–21. 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(5): 749–57.
- Rysava R. AL amyloidosis: advances in diagnostics and treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2018; 1-7.
- Dispenzieri A, Buadi F, Kumar SK, Reeder CB, Sher T, Lacy MQ, et al. Treatment of Immunoglobulin Light Chain Amyloidosis: Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) Consensus Statement. 2015; 90(8):1054-81.
- Pinney JH, Hawkins PN. Amyloidosis. *Ann Clin Biochem.* 2012; 49:229–41.
- Vaxman I, Gertza M. When to Suspect a Diagnosis of Amyloidosis. *Acta Haematol.* 2020; 143:304–11.
- Westmark P. Localized AL amyloidosis: A suicidal neoplasm?. *Upsala J Med Sci.* 2012; 117:244–50.
- Gerz MA, Lacy QM, Dispenzieri A. Immunoglobulin light chain amyloidosis (Primary amyloidosis, AL). In: Gertz AM, Greipp RP, editors. *Multiple myeloma and related plasma cell disorders*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 2004. p. 157–95.