



Axel Regeniter¹, Werner Siede²

Monoklonale Gammopathien: Erkennen – Abklären – Visualisieren

Bei einer monoklonalen Gammopathie wird das monoklonale Immunglobulin mittels Immunfixation oder Immunotyping nachgewiesen. Neben dem kompletten Immunglobulin-Molekül lassen sich auch freie Kappa- oder Lambda-Leichtketten in Serum und/oder im Urin nachweisen. Die Diagnostik sollte sowohl in Serum wie auch in Urin durchgeführt werden, weil sich in der Immunfixation komplette Immunglobuline besser im Serum und Leichtketten besser im Urin nachweisen lassen. Daneben hat sich die quantitative Messung freier Leichtketten im Serum etabliert.

Diagnostisch schwierig sind Abklärungen bei Patienten mit Immunkomplexen, z.B. aufgrund von Auto-Antikörpern, aber auch bei Patienten mit veränderten Immunglobulin-Konzentrationen, z.B. aufgrund einer immunsuppressiven Therapie nach einer Stammzelltransplantation. Hier zeigen sich oft schwer zu beurteilende Inhomogenitäten (Zonierungen), niedrige Immunglobulin-Konzentrationen und kleinere, häufig bi- oder auch triklonale Extragradienten. Die Abgrenzung dieser «Zonierungen» und der Übergang zu einer monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS) ist fließend. Bei der MGUS handelt es sich um den Nachweis monoklonaler Immunglobuline im Serum ohne weitere klinische Symptomatik [1]. Eine MGUS hat zunächst einmal keinen Krankheitswert, findet sich bei 3–4% der über 50-Jährigen und weiter zunehmend bei steigendem Lebensalter. Es kann sich aber auch um die Vorstufe einer malignen lymphoproliferativen Erkrankung oder einer Amyloidose handeln. Eine Verlaufsbeobachtung ist sowohl bei der MGUS wie auch bei einer unklaren Zonierung erforderlich [2]. Eine eindeutige MGUS sollte weiter abgeklärt werden [3].

Nicht selten ist dies ein Zufallsbefund einer auffälligen Serumelektrophorese. Die Bewertung inhomogen/MGUS ist gerade bei kleineren monoklonalen Fraktionen nicht immer einfach. Jahreszeitlich gehäuft, besonders im Winterhalbjahr, kommt es weiterhin zum Nachweis kleinerer transienter monoklonaler Gammopathien. Diese

machten in einer Studie 8,7% aller beobachteten kleineren monoklonalen Gammopathien aus, hatten keine prognostische Relevanz und waren meist Begleiterscheinungen infektiöser Erkrankungen [4].

Erkennen: Extragradienten in der Elektrophorese

Die Serumprotein-Elektrophorese ist eine kostengünstige, automatisierbare Methode zum Nachweis von Dysproteinämien und liefert einen globalen Überblick über die Verteilung der wichtigsten Proteine.

Das Kurvenbild sollte immer visuell beurteilt werden, da Extragradienten vorhanden sein könnten, auch wenn die Gamma- oder Beta-Region numerisch im Referenzbereich liegen. Neben dem Extragradienten kann auch eine erniedrigte Gamma-Fraktion durch eine monoklonale Gammopathie verursacht werden. Die Beurteilung der Kurve ist von der Erfahrung des Befundenden abhängig, was besonders bei diagnostisch nicht eindeutigen Veränderungen wichtig ist.

Neben der Agarose-Gel-Elektrophorese hat sich die Kapillar-Elektrophorese etabliert. Sie liefert mittels trägerloser Trennung, der hohen applizierten Spannung und der guten Wärmeableitung bessere Trennergebnisse. Nachteilig ist die Erfassung von Nicht-Proteinen durch die UV-Detektion bei 200 nm, die als Extragradienten erscheinen können, z.B. bei intravenös applizierten Antibiotika [5].

Kleinere Extragradienten können bei der visuellen Auswertung auch einer Kapillar-Elektrophorese leicht übersehen werden. Eine sorgfältige und zeitaufwendige Analyse der gezoomten Region ist dann erforderlich.

Beide Elektrophorese-Verfahren liefern Datenpunkte an einem Detektor, die mittels Fourier-Transformation in eine Kurve verwandelt werden können. Dies erlaubt eine objektive, mathematisch definierte Detektion monoklonaler Veränderungen [6]. Die Kapillar-Elektrophorese liefert dabei wesentlich mehr Datenpunkte als ein densitometrisch erfasstes Agarose-Gel, so dass auch kleinere Extragradienten automatisiert detektiert werden können.

Abklären monoklonaler Veränderungen

Ein Extragradient wird mittels Immunfixation oder Immunotyping weiter differenziert. Bei der Immunfixation wird die Probe auf einem Agarose-Gel elektrophoretisch getrennt; spezifische Antikörper gegen IgG, IgA, IgM, Kappa und Lambda aufgetragen und die fixierten Komplexe mit einem Farbstoff sichtbar gemacht. Die korrespondierenden Banden entsprechen dem Typ der monoklonalen Gammopathie.

Beim Immunotyping wird das Patientenserum mit Antikörpern vorbehandelt. Die gebildeten Immunkomplexe werden am Detektor nicht mehr erfasst; die fehlenden Peaks identifizieren die monoklonale Gammopathie (Abbildung 3b). Beide Verfahren liefern vergleichbare Ergebnisse [7,8]. Das Vorgehen bei unklaren Konstellationen findet sich in Tabelle 3.

Heute wird für die Elektrophorese und Immunfixation meist ein Halb-Automat benutzt, der gutgefärbte Folien erstellt. Dabei ist die Trennstrecke wesentlich kürzer im Vergleich mit den früher üblichen, manuell erstellten Gelen. Manchmal findet sich

1 PD Dr. med. Axel Regeniter, Klinische Chemie Universitätsspital Basel

2 PD Dr. Werner Siede, medica (Medizinische Laboratorien Dr. F. Kaeppli AG), Zürich

Kriterien monoklonaler Gradienten in der Protein-Elektrophorese

- zusätzliche Fraktion oder Peak (Extragradient)
- ungewöhnliche Form einer Fraktion (Asymmetrie)
- ungewöhnliche Erhöhung einer Fraktion (Komigration)
- erniedrigte Gamma-Globulin-Fraktion (möglicher Hinweis auf monoklonale freie Leichtketten)

Tabelle 1

Kapillarelektrophorese verglichen mit Agarose-Gel-Elektrophorese

- Trennleistung**
- ✓ Höhere Auflösung, detaillierte Differenzierung
 - ✓ Erfassung phänotypischer Varianten
- UV-Detektion**
- ✓ Exakte Quantifizierung
 - ✓ Keine Störung durch Lipoproteine
 - ✗ Zusätzliche Extragradienten (Erfassung von Nicht-Proteinen)
- Erkennung monoklonaler Komponenten**
- ✓ Verbesserte Sensitivität
 - ✗ Verminderte Spezifität

Tabelle 2

Differenzierung unklarer Konstellationen bei Verdacht auf monoklonale Gammopathie

- Atypische Lokalisation (α -1, α -2, β -1, β -2) → hochauflösende Immunfixation
- Singuläre Leichtkettenbande → freie Leichtketten, IgD/IgE
- Fraglich monoklonal → Immunkomplex, oligoklonale Muster

Tabelle 3

eine Zonierung insbesondere in den Leichtkettenspuren, was eine monoklonale Veränderung vortäuschen kann (Abbildung 2).

Bei der Trennung mittels Kapillarelektrophorese / Immunotyping kommt es aufgrund der hohen Spannung zu einem Auflösen von Immunkomplexen. Monoklonale Gammopathien in der Beta-Region lassen sich aufgrund der fehlenden Proteinfärbung und Detektion bei 200 nm ebenfalls besser identifizieren. Eine Schwäche besteht bei der Erkennung reiner Leichtketten-Myelome sowie kleineren IgM-Gammopathien. Auch werden nicht immer eindeutig identifizierbare, «inhomogene» Ergebnisse gefunden.

Sowohl bei der Immunfixation wie auch beim Immunotyping sichert die erneute Analyse mit Immunfixation auf einer hochauflösenden Folie den korrekten Befund (Abbildung 2).

Bei einer eigenen Untersuchung an 43 unklaren Proben, die mit allen drei Verfahren untersucht wurden, erwiesen sich die unklaren Zonierungen mit der hochauflösenden Folie entweder als Artefakte oder als kleinere monoklonale Fraktionen. Eine zusätzliche Differenzierung mit dem toxischen Mercaptoethanol war nicht erforderlich.

Weitere Untersuchungen

Bei der Erstdiagnostik monoklonaler Gammopathien werden bei Veränderungen nur in den Leichtketten ergänzend weitere Antikörper zum Nachweis eines seltenen IgD/IgE-Myeloms eingesetzt. Weiterhin sollten auch die freien Leichtketten im Serum quantitativ bestimmt werden. Diese Untersuchung hat weniger in der Erstdiagnostik aber in der Überwachung monoklonaler Gammopathien und in der Rezidiv-Erkennung einen hohen Stellenwert.

Die Abklärung freier Leichtketten im Urin (Bence-Jones-Protein) ist Bestandteil der Erstdiagnostik und sollte ergänzend zu den Serum-Untersuchungen immer durchgeführt werden (Nierenerkrankung).

Darstellen

Laborwerte werden in Serum und Urin häufig ohne ersichtlichen Zusammenhang zu unterschiedlichen Zeitpunkten angefordert. Dies führte zur Entwicklung eines spezialisierten Befundberichtes zur Proteinelektrophorese und Immunfixation, der sich bei den Autoren seit vielen Jahren bewährt hat. Im Vordergrund des Befundberichtes steht die Elektrophorese-Kurve in aussagekräftiger Grösse und die eindeutige Kennzeichnung mathematisch →

Gammopathies monoclonales: Détection – mise au point – visualisation

Différentes méthodes sont aujourd’hui utilisées pour le diagnostic des gammopathies monoclonales, fournissant une multitude de résultats sériques et urinaires. Nous décrivons les procédés diagnostiques de routine actuellement disponibles, montrons les écueils potentiels et présentons une démarche diagnostique qui a été conçue par les auteurs et a fait ses preuves dans la pratique quotidienne de routine.

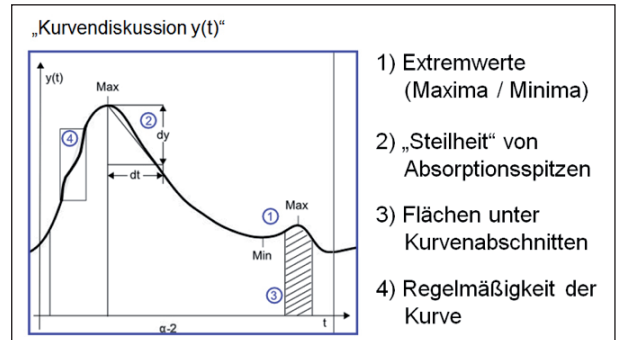


Abbildung 1: Verwertbare Informationen nach Fouriertransformation der Datenpunkte.

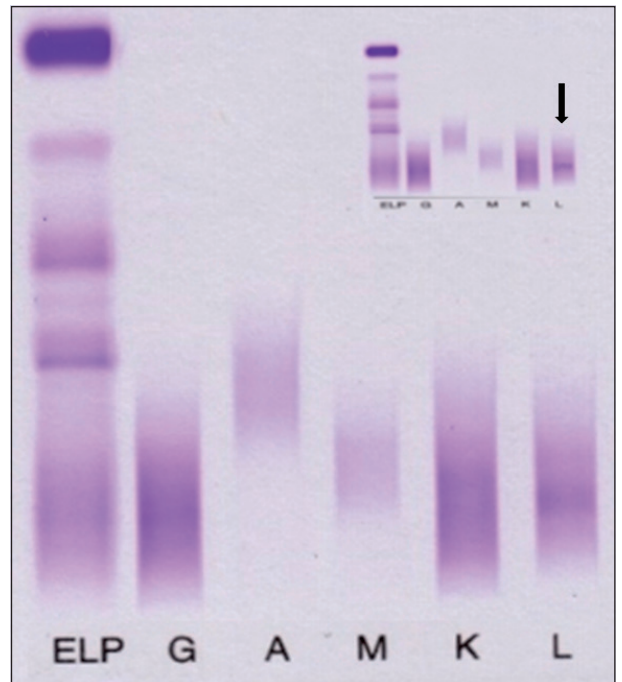


Abbildung 2: Immunfixation auf einem Standard-Agarose-Gel (rechts oben) und auf hochauflösender Folie. Der Pfeil kennzeichnet die fragile monoklonale Lambda-Komponente. Es wurden bei normalen Kappa-Lambda-Leichtketten-Quotienten und unauffälligem Knochenmark in 3 Laboratorien 3 verschiedene Diagnosen gestellt. Standard: Monoklonale Gammopathie IgM Lambda, monoklonale freie Leichtkette Lambda. Hochauflösend: Oligoklonales Muster. Die endgültige Diagnose war eine chronisch entzündliche Erkrankung aus dem rheumatischen Formenkreis.

erkannter und bestätigter Extragradien. Vorbefunde werden als rote Kurve dargestellt. Die Elektrophorese-Muster werden mit Texten aus einer Wissensbasis interpretiert und zusätzlich mit Hinweisen auf mögliche Ursachen ergänzt. Zusätzlich kann eine evtl. durchgeführte Immunfixation/typisierung dokumentiert und archiviert werden.

Im Befund werden relevante Werte (Immunglobuline, freie Leichtketten) mit Parametern aus der Hämatologie/Klinischen Chemie automatisch anhand der Patientennummer ergänzt, sofern diese in engerem zeitlichem Zusammenhang stehen. Die Visualisierung der Messwerte und die Markierung pathologischer Bereiche und Peaks erfolgt farblich. So ist auch die Konstellation einer unauffälligen «runden» Elektrophorese-Kurve mit verminderter Gammafraktion, verminderten Immunglobulinen, aber einer relevanten Erhöhung freier Leichtketten deutlich erkennbar.

Mit dem hier dargestellten Konzept lassen sich die meisten unklaren Befund-Konstellationen klären. Schlussendlich ist zusätzlich eine Verlaufs-darstellung aller relevanten Serum- und Urin-Parameter sinnvoll. Damit wird nicht nur der Verlauf einer bereits bekannten monoklonalen Gammopathie überwacht, sondern es können auch initial unklare Konstellationen endgültig geklärt werden.

Korrespondenz:
Axel.Regeniter@unibas.ch

Referenzen

Online unter: www.sulm.ch/d/pipette → Aktuelle Ausgabe (Nr. 1-2016).

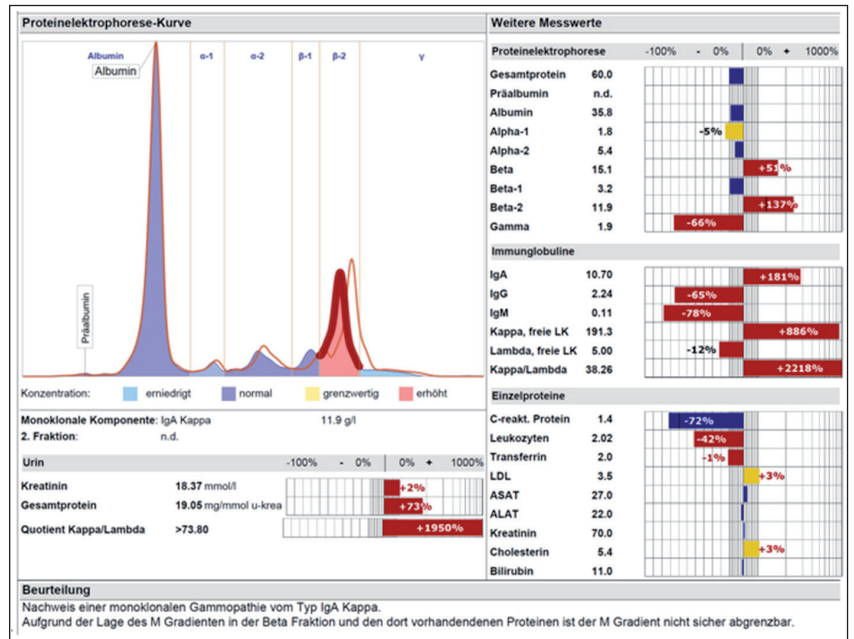


Abbildung 3a: Serum- und Urin-Ergebnisse bei bekannter monoklonaler Gammopathie.

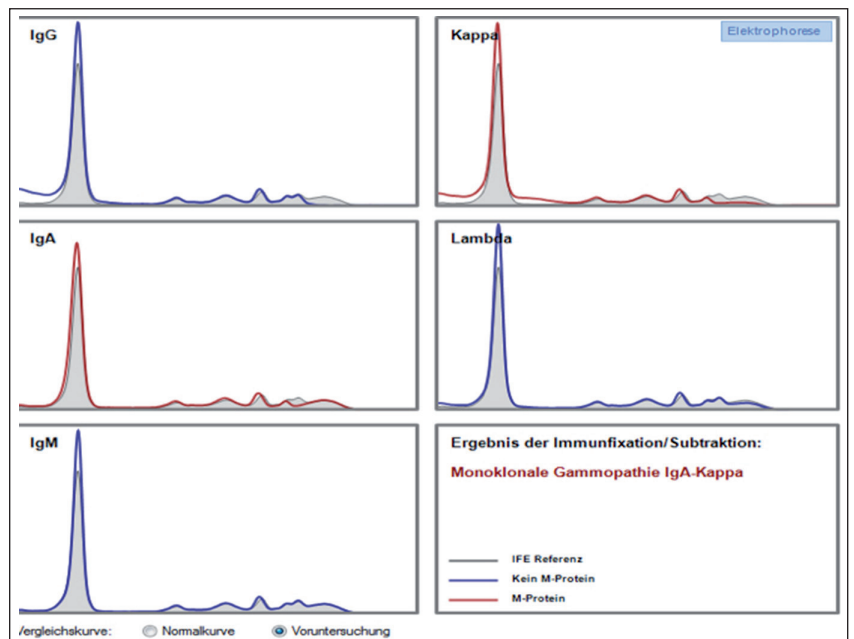


Abbildung 3b: Immunotyping bei gering ausgeprägter monoklonaler Gammopathie; Typ IgA Kappa im Beta-Bereich; keine Überlagerung durch UV-Detektion.

2016 info society days

Swiss eHealth Forum

Elektronisches Patientendossier – was nun?

10. & 11. März 2016 | BERNEXPO

Weitere Informationen unter www.infosocietydays.ch/eHealth

@ISD_eHealth