

## Paraproteinämie und Immunfixation

# Ein folgenschwerer Zufallsbefund

**Paraproteinämien werden oft zufällig entdeckt und weisen auf ein Lymphom hin, dessen Malignitätsgrad abgeklärt werden muss. Das wichtigste Verfahren ist die Immunfixation.**

Zu den Untersuchungen, die im Zeitalter der Laboreinsparungen gern als obsolet deklariert werden, gehört die Serumeiweiß-Elektrophorese. Auch wenn die Kritiker zum Teil recht haben mögen, gibt es doch eine Erkrankung, bei der kein anderes Screeningverfahren vergleichbar preisgünstig spezifische Treffer liefert: die Paraproteinämie beim Morbus Kahler (Multiples Myelom, Plasmozytom) und beim Morbus Waldenström. Sie gehören zur Klasse der Non-Hodgkin-B-Lymphome, wobei der Morbus Kahler eine ungünstigere Prognose aufweist. In einem größeren Krankenhaus können damit Monat für Monat mehrere Paraproteinämien als Zufallsbefund aufgedeckt und einer weiterführenden Diagnostik zugeführt werden. Sie machen immerhin zehn Prozent aller hämatologischen Krebserkrankungen bzw. ein Prozent aller Malignome aus.

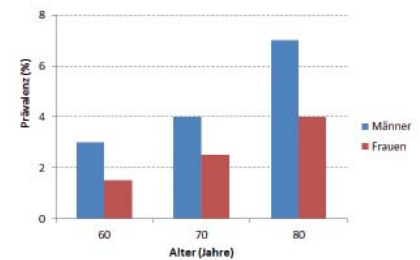
### Einteilung der Paraproteinämien

Autochthone Wucherungen von klonalen Plasmazellen (B-Lymphozyten) im Knochenmark oder auch extramedullär führen in der Regel zum Auftreten einheit-

lich aufgebauter („monoklonaler“) Immunglobuline, die in der Elektrophorese als scharfer Paraproteinpeak erscheinen (siehe linke Seite). Sehr selten kann die Sekretion von Immunglobulinen auch ausbleiben (*Non-secretory Myeloma*).

Die relative Häufigkeitsverteilung der fünf Immunglobulin-Klassen A, E, D, G und M unter den Paraproteinen entspricht in etwa den relativen Konzentrationsverhältnissen der normalen Immunglobuline im Serum, das heißt IgG überwiegt bei Weitem. Dazu kommen noch sogenannte Leichtketten-Paraproteine, bei denen inkomplette Immunglobulinmoleküle produziert und sezerniert werden. Nach dem Erstbeschreiber werden sie auch *Bence-Jones-Proteine* genannt; sie erscheinen wegen ihres geringen Molekulargewichts im Urin und führen in der Niere zu Ablagerungen (Nierenamyloid) mit der Gefahr des Nierenversagens.

Ursprünglich unterschied man zwischen „benignen“ und „malignen“ Paraproteinämien, doch Robert A. Kyle wies als erster darauf hin, dass auch die benignen Paraproteine mit einer relativ konstanten Rate



Das multiple Myelom ist eine maligne Erkrankung des höheren Alters, wobei Männer etwas stärker betroffen sind als Frauen.

von etwa einem Prozent pro Jahr in ein malignes Krankheitsgeschehen übergehen. In der Tabelle sind die unterschiedlichen Grade der Progredienz vom symptomlosen Frühstadium bis zum voll ausgeprägten Plasmozytom dargestellt. Dieses gliedert sich nach der Paraproteinkonzentration, dem Grad der Anämie und Hyperkalzämie sowie der Zahl der Osteolysen in die Stadien I bis III; das neuere *International Staging System (ISS)* stützt sich dagegen auf die Erhöhung von  $\beta_2$ -Mikroglobulin und Erniedrigung von Albumin im Serum.

Klinisch stehen Knochenschmerzen und Frakturen als Folge multipler Osteolysen im Vordergrund. Besonders gefürchtet sind Querschnittslähmungen durch Wirbelbrüche. Weitere Kennzeichen sind Anämie und Elektrolytstörungen sowie viskositätsbedingte Durchblutungsstörungen, Organstörungen durch Paraproteinablagerung und allgemeine Tumorzeichen wie Kachexie.

MGUS und Smoldering Myeloma verlaufen meist über viele Jahre symptomlos, ehe dann zunächst unspezifische Zeichen wie Müdigkeit, Abgeschlagenheit und

Bezeichnung	Abkürzung	Plasmazellen im Knochenmark	Klinik	Progredienz zum Multiplen Myelom
Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance	MGUS	< 10 Prozent	asymptomatisch, keine Endorganschäden	1 Prozent pro Jahr
Smoldering Myeloma	SM	≥ 10 Prozent	asymptomatisch, keine Endorganschäden	40 bis 70 Prozent in 5 Jahren
Multiple Myeloma	MM	≥ 10 Prozent	klinische Symptome, Endorganschäden	

Einteilung der Paraproteinämien (nach Kyle et al. *N engl J Med* 2007; 356:25ff). Die Progredienz von SM zu MM ist am höchsten, wenn die Plasmazellmenge im Knochenmark über 10 Prozent und der Paraproteinspiegel im Serum über 30 g/L liegt.

diffuse Schmerzen auftreten. Speziell in diesem Stadium ist der Zufallsbefund „Paraproteinämie“ wegweisend. Auch deutliche Erhöhungen der Blutsenkung können auf eine Paraproteinämie hinweisen.

MGUS und Smoldering Myeloma bedürfen zwar keiner Therapie, aber regelmäßiger Kontrollen von Laborwerten wie M-Gradient, Hämoglobin, Kalzium, Harnproteinen sowie Röntgenaufnahmen. Bei der Therapie manifester Multipler Myelome kommen verschiedene Chemotherapien und eventuell autologe Stammzelltransplantationen zum Einsatz. Unbehandelt beträgt die mittlere Überlebenszeit nach der Diagnosestellung nur etwa ein halbes Jahr, mit Chemotherapie können drei, mit Stammzelltransplantation fünf Jahre erreicht werden. Wenn ein Hyperviskositäts-Syndrom zur Mangeldurchblutung von Gehirn und peripheren Organen führt, kann eine Austauschtherapie (Plasmapherese) Erleichterung bringen.

### Nachweismethoden

Deutlich erhöhte Spiegel an Paraproteinen lassen sich durch automatisierte quantitative Immunglobulin-Bestimmungen zwar nicht exakt quantitativ, aber zweifelsfrei qualitativ erfassen. Bei niedrigen Paraproteinkonzentrationen im Frühstadium eines MGUS versagt dagegen die immunchemische Bestimmung, weil die große Menge normaler Immunglobuline die klonalen Moleküle überdeckt. Dazu kommt, dass die gegen polyklonale Immunglobuline gerichteten Antikörper im Testbesteck mit Paraproteinen inadäquat reagieren, so dass sich häufig falsche Werte ergeben.

Besonders wichtig, unter Klinikern aber oft zu wenig bekannt, ist das Versagen des sog. Teststreifensiebs beim Nachweis von freien Leichtketten (Bence-Jones Protein) im Harn. Das Proteinfeld auf dem Teststreifen reagiert vor allem auf Albumin und erfasst deshalb oft auch sehr hohe Konzentrationen von freien Leichtketten nicht.

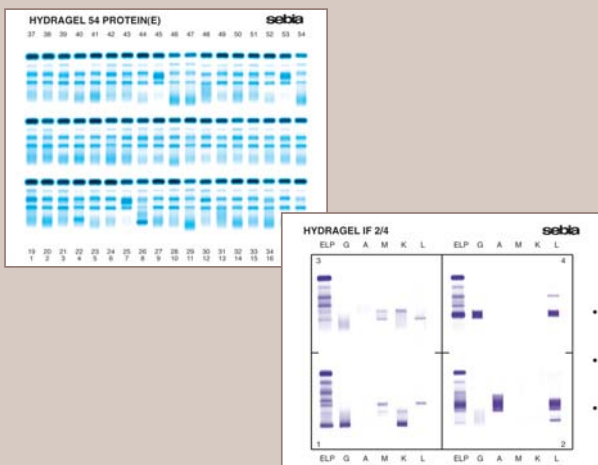
Dagegen erlaubt die Serumelektrophorese auf Agarose-Gelen als relativ billige und einfache Methode die Erkennung von Paraproteinbanden mit hoher Sicherheit. Tritt die Paraproteinbande isoliert auf, kann sie densitometrisch sogar relativ genau quantifiziert werden. Zusammen mit der Konzentration an Gesamteiweiß dient dies als Referenzmethode zur Bestimmung von Paraproteinen im Serum.

Zur weiteren exakten Abklärung der Paraproteinämie ist die Immunfixation Methode der Wahl. Dabei wird das Serum zunächst in Agarose-Gel auf mehreren Bahnen elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend mit Antisera gegen IgG, IgM usw. überschichtet. Während der Inkubation bilden sich unlösliche Immunkomplexe, die im Gel präzipitieren.

Durch Wässerung werden nicht präzipitierte Proteine entfernt und danach die Immunkomplexe in den Gelen angefärbt. Es ergeben sich charakteristische

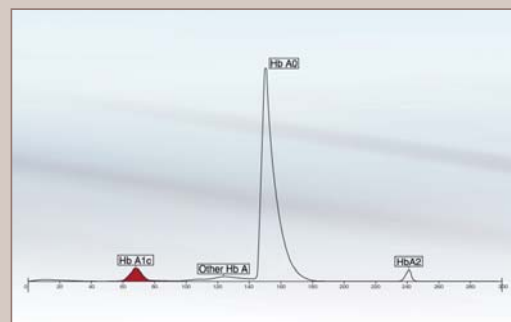
## SEBIA, The Art of Electrophoresis

### Agarose gel electrophoresis



HYDRASYS 2 SCAN

### Capillary electrophoresis



capillary  
sebia flex piercing

minicap sebia  
flex piercing

**sebia**

Münsterfeldallee 6, 36041 Fulda - Deutschland

Tel. : +49 (0)661 3 30 81 - Fax : +49 (0)661 3 18 81 - e-mail : sebia@sebia.de

Bandenmuster, die leicht zu interpretieren sind. So können die Schwer- und Leichtketten des Paraproteins sicher diagnostiziert und eventuelle weitere Auffälligkeiten wie Doppelbanden oder zusätzliche freie Leichtketten im Serum gefunden werden. Selbst beim sogenannten *Non-secretory Myeloma* findet man dort meist feine Paraprotein-Banden, die mit quantitativen Methoden nicht nachweisbar wären.

### Automatisierte Verfahren

Im Handel sind Teil- und Vollautomaten, die die Durchführung dieser Analytik stark vereinfachen und beschleunigen. Vor allem die Kapillarelektrophorese wurde für die automatisierte Immunfixation adaptiert. Als wichtigste Anbieter sind Sebia aus Frankreich sowie Helena aus Großbritannien (Vertrieb in Deutschland durch Sekisui) zu nennen.

Die Durchflusszytometrie eignet sich zwar nicht für Screening und Primär-

diagnostik, gibt aber zum Beispiel beim *Non-secretory Myeloma* durch Messung des intraplasmatischen kappa/lambda-Quotienten wertvolle diagnostische Hinweise. Bei der Therapiekontrolle und Relaps-Erkennung ist sie wichtig, um mit Markern wie CD19, CD56, CD38 und CD138 zwischen normalen und pathologischen Plasmazellen zu unterscheiden. So können durch die zytoplasmatische Leichtkettenexpression schon geringe Zahlen an pathologischen Plasmazellen bei einem Relaps erfasst werden, lange bevor deren Zellprodukt, das Paraprotein, im Serum nachweisbar ist. ❁



Prof. Dr. Kurt Bauer

Garnisongasse 7/24, 1090 Wien

kurt\_bauer@aon.at

SEKISUI



### V8 – die vollautomatisierte Kapillarelektrophorese

Helena Biosciences ist seit 1977 auf dem Gebiet Gel-Elektrophorese mit den SAS-Systemen aktiv. Seit zwei Jahren steht auch das vollautomatisierte Kapillarelektrophorese-System V8 für die Analyse von Serum- und Urinproteinen zur Verfügung.



Immunotypisierungen, CDT und die Bestimmung von Hämoglobin-Varianten (IEF) können ebenfalls vollautomatisch durchgeführt werden. Dank der Walk-Away-Funktion übernimmt der V8 vollständig automatisiert sämtliche Waschschriffe auch bei Methodenwechsel oder bei der Abschlussreinigung des Tages. Dann schaltet er selbsttätig ab.

**Beladung:** 112 Proben in 14 Racks gesamt-kontinuierliche Beladung

**Durchsatz/h:** ca. 70 Proben

**Barcode:** integriert für Proben- und Reagenzienidentifizierung  
**SAS-System:** automatisierte Probenverdünnung für SAS-Gele

**Kapillaren:** 8 Kapillaren einzeln abschaltbar; leicht auszutauschen

**Wartung:** automatisierte Wartungs- und Reinigungs-Zyklen

**Puffer:** alle Pufferlösungen ready to use on board

**Zusatzreagenzien/Antiseren:** gekühlte Reagenzienstation integriert

**Labor-EDV:** Bidirektionale Vernetzung

**Probenverteilung:** Integration in die FlexLab Laborstraße möglich

#### Kontaktinformation

Sekisui Virotech GmbH • Petra Thermann • Tel. 06142/6909-0 • www.sekisuivirotech.com

So einfach kann  
Färben sein:

VENTANA BenchMark.

Die neue Leichtigkeit  
des Färbens –  
vollautomatisch, flexibel  
und zuverlässig.

Roche Diagnostics Deutschland GmbH  
Sandhofer Straße 116  
68305 Mannheim

www.roche.de/gewebediagnostik

VENTANA und BENCHMARK  
sind Marken von Roche.

© 2012 Roche Diagnostics.  
Alle Rechte vorbehalten.