

# Die diagnostische Wertigkeit des Kappa/Lambda-Leichtketten-Quotienten bei Nachweis, Identifizierung und Quantifizierung monoklonaler Immunglobuline im Vergleich zu Immunfixation, M-Gradient und quantitativer Immunglobulinbestimmung: Untersuchungen an 101 Patientenseren

Diagnostic Value of the kappa/lambda Light Chain-Ratio for Detecting, Typing and Quantitating Monoclonal Immunoglobulines: A Comparison with Immuno-Fixation, M-Gradient and Quantitative Immunoglobuline Determination Carried out on 101 Sera.

F. Boege, B. Koehler und M. Schwab  
Hauptlabor der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg

## Zusammenfassung:

*Spezifität und Sensitivität der Erfassung monoklonaler Immunglobuline durch die Bestimmung des Leichtkettenquotienten oder durch Nachweis eines M-Gradienten werden mit der Immunfixation verglichen. Konzentrationswerte für monoklonale Immunglobuline werden zum einen berechnet als Differenz der gemessenen Konzentration der jeweils erhöhten Immunglobulinklasse zur oberen Normbereichsgrenze und zum anderen aus der Verschiebung des Leichtkettenquotienten. Die Resultate beider Verfahren werden durch lineare Regression verglichen. Verwendbarkeit und diagnostischer Stellenwert der Leichtkettenquotienten-Bestimmung werden diskutiert.*

## Schlüsselwörter:

Leichtkettenquotient – Immunfixation – M-Gradient – monoklonale Immunglobuline

## Summary:

*The detection of monoclonal immunoglobulins by serum protein electrophoresis (M-gradient) or by light-chain-ratio determination is compared to immunofixation with respect to sensitivity and specificity. Concentrations of the monoclonal immunoglobuline component are expressed as the difference between the measured immunoglobuline concentration and the upper level of the normal range (= excess-Ig) or are calculated from the light-chain-ratio. The quantitative results of both methods are compared. Utility and diagnostic value of the light-chain-ratio determination are discussed in the light of the data.*

## Keywords:

Light-chain-ratio – immunofixation – M-Gradient – monoclonal immunoglobulines

## Einleitung

Mono(Oligo-)klonale Immunglobuline stammen aus hyperstimulierten oder maligne entarteten B-Zell-Klonen. Ihr Auftreten im Serum, Urin oder Liquor wird als Mono(Oligo-)klonale Gammopathie (MG) bezeichnet und als möglicher Hinweis auf das Vorliegen schwerwiegender Störungen des Immunsystems gewertet (1, 2, 3, 4). Sie können mit unterschiedlicher Häufigkeit zu jeder der 5 Klassen und zu einem der beiden Typen von Immunglobulinen gehören (5). Neben kompletten Tetrameren können hierbei auch isoliert schwere oder leichte Ketten auftreten (2, 6). Letztere entgehen häufig dem Nachweis im Serum, da sie die glomeruläre Basalmembran passieren können und vorwiegend im Urin als sog. Bence-Jones-Proteine auftreten (7, 8, 9, 10, 11). In der Zonen-Serum-

Protein-Elektrophorese (SPE) wandern monoklonale Immunglobuline als singuläre schmale Banden – sogenannte M-Gradienten – in der beta<sub>2</sub>, gamma- oder alpha<sub>2</sub>-Fraktion (1, 12, 32). Bei der quantitativen Immunglobulinbestimmung bleiben sie häufig dann unbemerkt, wenn das vermehrte Vorhandensein eines monoklonalen Immunglobulins durch ein (sekundäres) Mangelsyndrom der übrigen polyklonalen Immunglobuline verschleiert wird (13).

Der sichere Nachweis von monoklonalen Immunglobulinen kann z. Z. nur qualitativ durch Immunelektrophorese (IEP) oder Immunfixation (IFE) geführt werden (12, 14, 15, 16). Letztgenanntes Verfahren gilt aufgrund hoher Sensitivität und Spezifität als Methode der Wahl zur Klassifizierung und Typisierung aller Formen monoklonaler Immunglobuline einschließlich freier leichter und schwerer Ketten (12).

Mit der Entwicklung schneller, automatisierbarer, immun-titrimetrischer Verfahren zur Quantifizierung schwerer und leichter Immunglobulinketten wurde ein einfacherer Weg des Nachweises monoklonaler Immunglobuline vorgeschlagen. Die meisten kommerziell erhältlichen Antisera unterscheiden sich zwischen freien und polymeren Immunglobulinketten. Dennoch sollte sich die vermehrte Produktion monoklonaler Immunglobulinkomponenten, das Auftreten isolierter Leicht- oder Schwerketten und die quantitative Vermehrung einer Immunglobulinklasse frühzeitig in einer Verschiebung des Leichtkettenquotienten  $\kappa : \lambda$  ( $= Q_{IgL}$ ) manifestieren (13, 17, 18, 34). Neben dem qualitativen Nachweis monoklonaler Immunglobuline ist es möglich, aus diesem Leichtkettenquotienten auch die Konzentration der monoklonalen Komponente im Serum zu errechnen (13). In einer Reihe von Untersuchungen wurde die Klassifizierung und Typisierung von monoklonalen Immunglobulinen mittels dieser Technik mit den Ergebnissen der IFE und/oder IEP verglichen. Die Ergebnisse sind uneinheitlich: Einerseits werden gute Übereinstimmungen (80–99 %) zwischen den Ergebnissen der elektrophoretischen und des immun-titrimetrischen Verfahrens berichtet, so daß ein weitgehender Ersatz des einen durch das andere Verfahren möglich scheint (13, 18–21). Andererseits traten schlechte Übereinstimmungen (60–70 %) auf, wenn nur geringe Konzentrationen der monoklonalen Immunglobuline und kein sekundärer Antikörpermangel (22, 23) oder oligoklonale Immunglobulinvermehrungen vorlagen (22). Bei monoklonalem IgM wurde beobachtet, daß die tatsächlich gemessenen Leichtkettenkonzentrationen hinter den berechneten Erwartungswerten zurückbleiben, was vermutlich auf eine sterische Behinderung der Epitopenerkennung im Polymer zurückzuführen ist (19). Ähnliche Effekte können für die übrigen Immunglobulinklassen nicht sicher ausgeschlossen werden. Sämtliche Untersucher kommen daher zu dem Schluß, daß ein vollständiger Ersatz der elektrophoretischen Methode durch die quantitative Immunnephelometrie nicht möglich, daß jedoch eine zusätzliche Anwendung des quantitativen Verfahrens sinnvoll erscheint. Ziel der hier vorliegenden Untersuchung war es, den Stellenwert des quantitativen Verfahrens gegenüber SPE und IFE im Rahmen einer Stufendiagnostik der MG zu definieren. Durch Simultananalyse von Seren eines Patientenkollektivs, bei dem aufgrund klinischer, histologischer oder laborchemischer Parameter der Verdacht einer monoklonalen Gammopathie bestand, sollten Sensitivitäten und Spezifitäten der drei Verfahren bei der Erkennung und Quantifizierung monoklonaler Gammopathien verglichen und Kriterien für die Anwendung erarbeitet werden.

## Patientenserum, Materialien und Methoden

### Patientenserum:

Analysiert wurden die Seren von 101 Patienten (39–81 Jahre, Median, 62 J;  $m/w = 0.98$ ), die dem Labor unter der Fragestellung *monoklonale Immunglobuline* zugingen. Es wurde in allen Fällen aus derselben Serumprobe die Protein-Elektrophorese und Immunfixation durchgeführt, sowie die Konzentration der schweren Immunglobulinketten *gamma*, *alpha* und *my*, sowie der freien und gebundenen Leichtketten *kappa* und *lambda* bestimmt. In Fällen, wo es nicht möglich war, alle Bestimmungen am selben Tag durchzuführen, wurden die Seren bei  $-20^{\circ}\text{C}$  längstens für 4 Monate zwischengelagert.

Die *Serumproteinelektrophorese* wurde auf Cellulose-Acetat-Folien durchgeführt.

### Immunfixation:

Verwendet wurden Agarose-beschichtete Folien und Reagentien der Firma Immuno (Wien). Es standen Antisera gegen die schweren Ketten *alpha*, *gamma*, *delta* und *my*, gegen die leichten Ketten *kappa* und *lambda* sowie gegen die im intakten Immunglobulinpolymer verborgenen Epitope der freien leichten Ketten (Anti-Bence-Jones) zur Verfügung. Die Auswertung erfolgte entsprechend den Vorschriften des Herstellers.

### Immunnephelometrie:

Zur quantitativen Bestimmung der Immunglobulinketten wurde ein Behring-Nephelometer-Analyser, Testschemata, Reagenzien und Antisera der Herstellerfirma (Behringwerke AG, Marburg) verwendet.

Die Bestimmung ist bei normalen und erhöhten Konzentrationen der radialen Immundiffusion hinsichtlich Richtigkeit und Präzision gleichwertig, während bei erniedrigten Konzentrationen mit erhöhter Meßgenauigkeit gerechnet werden muß (35).

### Normbereiche:

Bei der Festsetzung der Normbereiche für die nephelometrische Immunglobulinbestimmung haben wir uns an den Werten einer in letzter Zeit publizierten Feldstudie orientiert: IgG: 800–1700 mg/dl; IgA: 90–470 mg/dl; IgM: 60–350 mg/dl(m), 70–280 mg/dl(f)(24); IgL *kappa*: 2000–4100 mg/l; IgL *lambda*: 1100–2400 mg/l sowie  $Q_{IgL}$ : 1,29–2,61 (13).

### Kalkulation des sekundären Antikörpermangels (Immunoparese):

Zur Überprüfung und Quantifizierung wurde auf der Basis der quantitativen IgG-, IgA- und IgM-Bestimmung folgender Quotient berechnet:

$$\frac{L1 + L2}{UG_1 + UG_2}$$

$L1, L2$  = Konzentrationen der beiden nicht-monoklonalen Immunglobulinklassen.

$UG_1, UG_2$  = zugehörige Normbereichsuntergrenzen.

Ein sekundärer Antikörpermangel wurde bei Werten kleiner 1 angenommen.

### Kalkulation der Konzentration zirkulierender monoklonaler Antikörper:

1. Die Menge der zirkulierenden monoklonalen Immunglobuline wurde anhand der Differenz zur oberen Normgrenze der jeweilig erhöhten Immunglobulinklasse abschätzend berechnet (= Immunglobulinüberschußkonzentration).

2. Anhand des  $Q_{IgL}$  wurde die minimale Konzentration monoklonaler Leichtketten berechnet: monoklonales IgL *kappa* = IgL *kappa* – (IgL *lambda* \* 2,61); monoklonales *lambda* = IgL *lambda* – (IgL *kappa* / 2,61) (13) und daraus anhand des bekannten mittleren Leichtkettengehaltes der verschiedenen Immunglobulinklassen (19) die Konzentration der monoklonalen Immunglobulinkomponente kalkuliert.

## Statistische Verfahren:

1. Sensitivität und Spezifität der Detektion monoklonaler Immunglobuline durch SPE oder  $Q_{IgL}$ -Bestimmung wurden mit den Ergebnissen der Immunfixation durch Kreuztabulation verglichen.

2. In den übereinstimmenden Fällen wurden:

- Typisierungsergebnisse der Immunfixation und der quantitativen Bestimmung der leichten und schweren Ketten prozentual verglichen und
- die aus dem  $Q_{IgL}$  rechnerisch ermittelte Konzentration der monoklonalen Immunglobulinkomponente durch lineare Regression mit der Überschußkonzentration der jeweilig erhöhten Immunglobulinklasse verglichen.

## Ergebnisse

Eine Übersicht der mit den verschiedenen Methoden erhobenen Daten zeigt Tabelle 1.

### Vergleich Immunfixation (IFE) / $Q_{IgL}$ (Tabelle 2 a):

Durch IFE wurden in 76 von 101 der untersuchten Serumproben monoklonale Immunglobuline festgestellt. Die Verteilung der Typen und Klassen entsprach in etwa der in anderen Untersuchungen (5, 6, 15, 18, 20) gefundenen. Von diesen 76 Proben wurden 73 übereinstimmend durch einen verschobenen  $Q_{IgL}$  identifiziert, woraus sich eine

Tab. 1: Datenübersicht

IFE	gesamt Immunglob.- Überschuß		k/l-Quotient M-Gradient verschoben vorhanden		n
	n	n	n	n	
IgG $\kappa$	31	25	30	27	19
$\lambda$	15	14	15	15	4
IgA $\kappa$	8	8	7	8	5
$\lambda$	6	4	6	4	4
IgM $\kappa$	13	13	12	11	6
IgD $\lambda$	1	1	1	1	1
biklonal	2	2	2	1	2
polyklonal	25	17	4	17	1

Tab. 2 a: Vergleich Immunfixation / Leichtkettenquotient

	Leichtkettenquotient:				gesamt:	
	verschoben		nicht verschoben		n	%
	n	%	n	%		
Immunfixation monoklonal	73	96,05	3	3,95	76	100
Immunfixation nicht monoklonal	4	16	21	84	25	100

Tab. 2 b: Vergleich Immunfixation / M-Gradient

	M-Gradient				gesamt:	
	nachweisb.		nicht nachweisb.		n	%
	n	%	n	%		
Immunfixation monoklonal	67	88,16	9	11,84	76	100
Immunfixation nicht monoklonal	17	68	8	32	25	100

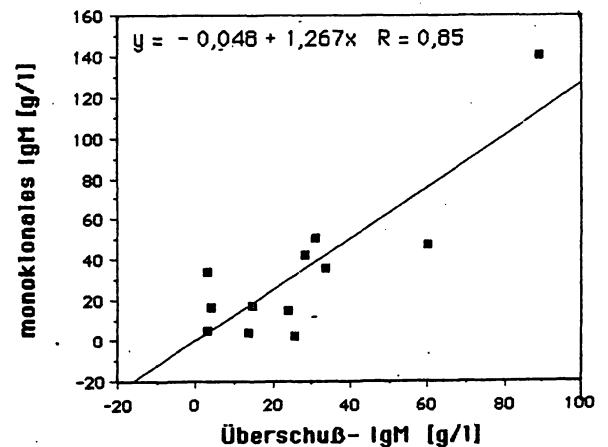
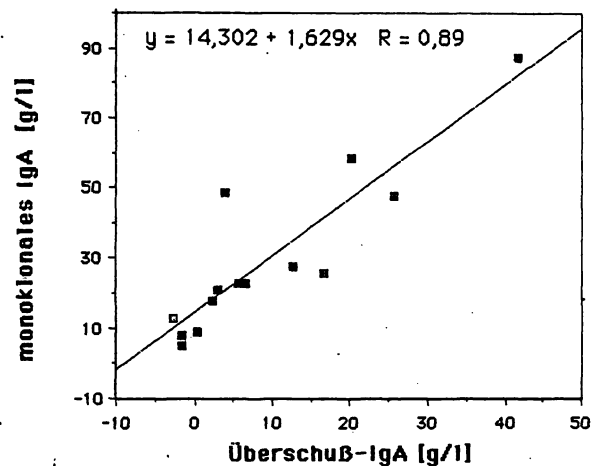
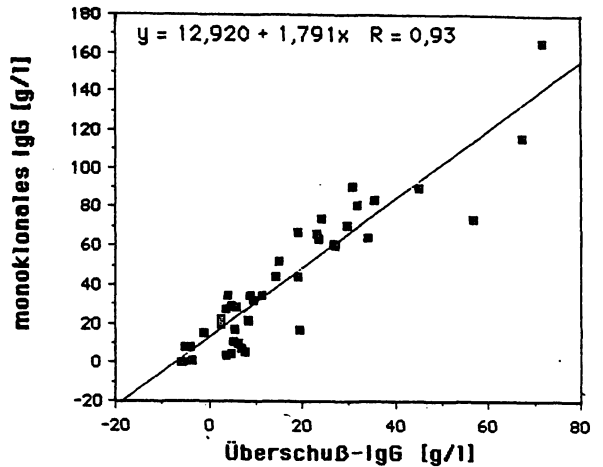


Abb. 1 a-c: Vergleichende Konzentrationsbestimmung des monoklonalen Immunglobulins. In der Abszisse ist die Differenz zwischen gemessener Konzentration und Normbereichsobergrenze für die jeweilig erhöhte Immunglobulinklasse aufgetragen (Überschuß-Ig). In der Ordinate ist die nach Whitcher (13) aus dem Leichtkettenquotienten berechnete Konzentration aufgetragen (monoklonales Ig). Der Regression der Daten liegt ein lineares Modell zugrunde. Die Gleichung und der Punktmomentskorrelations-Koeffizient (R) sind jeweils in der oberen linken Ecke aufgeführt. Der Vergleich wurde für die Immunglobulinklassen getrennt durchgeführt: Abb. 1 a, IgG; Abb. 1 b, IgA; Abb. 1 c, IgM.

Sensitivität von 96,05 % ergibt. Die Klassifizierung und Typisierung war in diesen 76 Fällen übereinstimmend. In den drei restlichen Proben war trotz positiven IFE-Befundes keine Verschiebung des  $Q_{IgL}$  zu beobachten. Diese 3 falsch-negativen Proben stammen von Patienten im Initialstadium der Erkrankung mit nur geringen Konzentrationen monoklonaler Immunglobuline und ohne einen Mangel der nicht-monoklonalen Immunglobuline. In 25 der untersuchten 101 Proben konnten durch IFE keine monoklonalen Immunglobuline nachgewiesen werden. Hiervon wurde in 21 Proben übereinstimmend ein normaler  $Q_{IgL}$  beobachtet, woraus sich für die Quotientenmethode eine Spezifität von 84 % ergibt. In 4 Proben fand sich ein verschobener Quotient, obwohl in der IFE keine monoklonalen Immunglobuline nachweisbar waren. In diesen 4 Fällen handelt es sich um polyklonale Gammopathien mit erheblicher Vermehrung aller Immunglobulinklassen und beider Leichtkettentypen.

#### *Vergleich Immunfixation (IFE) / M-Gradient (Tabelle 2 b):*

Bei unvoreingenommener Beurteilung konnte nur in 67 der 76 Proben, in denen durch IFE monoklonale Immunglobuline nachweisbar waren, in der SPE ein M-Gradient sicher identifiziert werden. In den übrigen 9 Fällen war das Bild der SPE entweder unauffällig oder es imponierte eine breitbasige Vermehrung der gamma- bzw.  $\beta$ -Fraktion. Von den 12 Proben, in denen monoklonale Immunglobuline aufgrund der Immunfixation ausgeschlossen werden konnten, schienen 17 in der SPE einen M-Gradienten aufzuweisen. Hieraus ergibt sich für den M-Gradienten bei einer Sensitivität von 88,16 % eine Spezifität von 32 %.

#### *Quantitätsberechnungen der monoklonalen Komponente:*

Für das Staging und die Verlaufsbeobachtung monoklonaler Gammopathien spielt die quantitative Einschätzung der monoklonalen Immunglobulinkomponente eine große Rolle. Üblicherweise orientiert man sich an der Überschußkonzentration der jeweils erhöhten Immunglobulinklasse (31). Eine Alternative stellt die von Whicher et al. (12, 13) vorgeschlagene, auf dem  $Q_{IgL}$  beruhende Berechnung dar. Ein Vergleich beider Größen wurde für alle in IFE und  $Q_{IgL}$ -Bestimmung übereinstimmenden Proben durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 a-c für IgG, IgA und IgM getrennt dargestellt: Es wurden für IgG und IgA akzeptable Korrelationen (Punktmomentkorrelationskoeffizienten R: 0.93 bzw 0.89) jedoch für IgM eine schlechte Korrelation (Punktmomentkorrelationskoeffizient R = 0.85) gefunden. Die Steigungen der Regressionsgeraden ( $y$  = monoklonale Komponente aus  $Q_{IgL}$  berechnet) waren für IgG und IgA sehr ähnlich (1.79 bzw. 1.629), für IgM jedoch deutlich geringer (1.267). Die Tatsache, daß in allen drei Fällen Steigungen größer 1 beobachtet wurden, ist wahrscheinlich auf das Vorhandensein freier Leichtketten (auch in der IFE als separate Bande nachweisbar) in einem Teil der Proben zurückzuführen. Die  $y$ -Achsenabschnitte der Regressionsgeraden waren für IgG und IgA positiv und lagen im Bereich des Serum-Normbereiches. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß sich geringere Konzentrationen monoklonaler Immunglobuline (vor allem bei sekundärem Antikörpermangel) noch nicht in einer Überschreitung des Normbereiches der jeweiligen Immunglobulinklasse manifestieren. Dennoch besteht schon eine deutliche Verschiebung des  $Q_{IgL}$  und damit eine aus diesem erfaßbare Konzentration monoklonaler Leichtketten. Die monoklonalen Immunglobuline werden also durch den  $Q_{IgL}$  im niedrigen Konzen-

trationsbereich mit höherer Sensitivität gemessen. Für IgM wurde ein negativer  $y$ -Achsenabschnitt ermittelt. Dies ist zusammen mit der wesentlich größeren Streuung und dem flacheren Geradenverlauf wahrscheinlich Ausdruck einer nur unvollständigen Erfassung der im IgM-Polymer gebundenen Leichtketten. Ein solcher Effekt wurde auch von anderen beobachtet und im Sinne einer sterischen Behinderung der Epitopenerkennung diskutiert (19).

## Diskussion

### *1. Nachweis und Identifizierung monoklonaler Immunglobuline:*

Obwohl die Bestimmung des  $Q_{IgL}$  den Nachweis und die Identifizierung monoklonaler Immunglobuline mit ähnlicher Sensitivität wie die sehr viel umständlicheren Immunelektrophoretischen Verfahren gestattet, scheinen gerade bei den diagnostisch entscheidenden Fällen partielle Schwächen dieser Methode zutage zu treten:

- Liegen die monoklonalen Immunglobuline nur in geringen Konzentrationen vor und besteht kein sekundärer Antikörpermangel, kommt es nicht zu einer signifikanten Verschiebung des  $Q_{IgL}$ . Initialstadien der MG können daher dem Nachweis entgehen.
- Auch bei polyklonalen Immunglobulinvermehrungen kann es offenbar zu einer Verschiebung des  $Q_{IgL}$  kommen. Eine Differenzierung zwischen poly- und monoklonalen Gammopathien ist daher nicht immer sicher möglich.
- Monoklonales IgM wird nur unvollständig erfaßt.
- Schließlich wird es auch nicht möglich sein, eine (sehr seltene) biklonale Gammopathie vom Typ  $\lambda + \kappa$  zu erkennen.

Aufgrund dieser Unsicherheiten kommen wir im Gegensatz zu Whicher et al. (13) zu dem Schluß, daß auf IEP oder IFE zugunsten der Leichtkettenbestimmung *nicht* verzichtet werden kann. Nur durch ein immun-elektrophoretisches Verfahren läßt sich der klinisch dringende Verdacht einer MG mit ausreichender Sicherheit erhärten oder entkräften. Andererseits ist es den meisten Labors unmöglich, eine derart aufwendige Methode in engeren Zeitabständen zur Verfügung zu stellen oder größere Probenzahlen auf diese Weise zu analysieren. Als Screening-Methoden kommen IEP oder IFE daher nicht in Frage.

Die Bestimmung des  $Q_{IgL}$  dagegen läßt sich gut mechanisieren, unter entsprechenden apparativen Voraussetzungen problemlos in die Laborroutine integrieren und in engen zeitlichen Intervallen durchführen. Vorteilhaft in diesem Zusammenhang ist auch, daß das numerisch exakte Ergebnis keiner weiteren Befundung bedarf. Diese Methode eignet sich daher einerseits sehr gut zur Vorbereitung von IEP oder IFE: In Kenntnis der Konzentrationen der schweren und leichten Immunglobulinketten sowie des  $Q_{IgL}$  gelingt es in den meisten Fällen, auf Anhieb die passenden Probenvorverdünnungen in der Elektrophorese einzusetzen und sich Wiederholungsanalysen oder Simultanmessungen von Verdünnungsreihen zu ersparen. Andererseits ist der  $Q_{IgL}$  in unseren Augen vor allem ein Screening- und Verlaufsparameter, der daher hinsichtlich Sensitivität und Selektivität mit den üblichen Screeningmethoden – also vor allem der densitometrischen Analyse der SPE – verglichen werden sollte:

Die morphologische Begutachtung des Densitogramms der SPE und die Identifizierung von M-Gradienten gilt noch immer als ein diagnostisches Hauptkriterium mono-

klonaler Gammopathien (27). Insbesondere zu Verlaufsbeobachtungen, zu Dignitätseinschätzungen und bei der Therapiekontrolle von MG's wird ihm größere Bedeutung als der quantitativen Immunglobulinbestimmung zugeschrieben, da ein sekundärer Antikörpermangel die Erkennung des M-Gradienten nicht beeinträchtigt (5, 28). Der M-Gradient ist jedoch nicht spezifisch für monoklonale Gammopathien. Er kann auch bei polyklonalen Immunglobulinvermehrungen im Rahmen anderer lymphoproliferativer Erkrankungen, bei Autoimmunerkrankungen sowie gelegentlich im Rahmen maligner epithelialer Tumoren auftreten (27, 29). Diese geringe Spezifität, die auch im Rahmen dieser Untersuchung nachvollzogen werden konnte, ist wohl zum Teil durch die mannigfaltigen technischen Fehlermöglichkeiten der Methode bedingt, von denen die Verunreinigung der Serumprobe durch Fibrinogen nur als Beispiel genannt sei (12, 27, 32). Die sichere Erkennung eines M-Gradienten gelingt erst ab Konzentrationen des monoklonalen Immunglobulins von mehr als 2 g/dl, wobei nur monoklonales IgG und IgM als typischer schmalbasiger Gipfel in der  $\gamma$ -Fraktion imponieren, während monoklonales IgA oft breitbasig in der  $\beta$ -Fraktion wandert und aus diesem Grunde übersehen wird (30). Auch monoklonales IgG kann breitbasig zwischen gamma- und  $\alpha_2$ -Fraktion wandern (32). Schließlich können die L-Ketten von IgA und IgM durch IgG-Präzipitate überlagert sein, was die Auswertung erschwert (28). Der M-Gradient ist in erster Linie durch die Morphologie und nicht durch die quantitative Auswertung der SPE definiert. Seine Bestimmung enthält daher eine erhebliche subjektive Komponente, wodurch die Reproduzierbarkeit, aber auch die Übertragbarkeit der Ergebnisse von einem Labor zum anderen eingeschränkt wird (33).

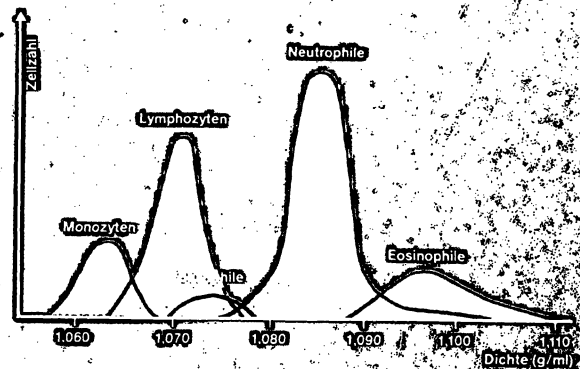
Wie unsere Daten zeigen, ist der  $Q_{1gL}$  im Vergleich hierzu nicht nur wesentlich sensitiver und spezifischer für den Nachweis monoklonaler Gammopathien, sondern birgt bei vergleichbarem zeitlichem und technischem Aufwand auch sehr viel weniger Fehlermöglichkeiten. Darüber hinaus ist das Untersuchungsergebnis leichter, eindeutiger und verbindlich interpretierbar. Wir glauben daher, daß bei klinischem, histologischem oder radiologischem Verdacht einer monoklonalen Gammopathie die Bestimmung des  $Q_{1gL}$  eine sinnvolle Ergänzung des laborchemischen Screeningprogramms darstellt, das der Durchführung einer IFE vorausgehen und diese ergänzen sollte. Im Gegensatz zu Whicher et al. (33) halten wir diese Screeningmethode für sensitiver und spezifischer und damit geeigneter als die Bestimmung eines M-Gradienten.

## 2. Bestimmung der Serumkonzentration monoklonaler Immunglobuline:

Neben dem qualitativen Nachweis und der Typisierung und Klassifizierung monoklonaler Immunglobuline läßt sich aus dem  $Q_{1gL}$  auch die Konzentration der monoklonalen Immunglobulinkomponente berechnen. Für die Verlaufsbeurteilung, das Staging und die Therapiekontrolle monoklonaler Gammopathien ist diese Quantifizierung von großer Bedeutung (31). Es handelt sich bei monoklonalen Immunglobulinen um Tumor-Marker im eigentlichen Sinne. Die üblicherweise herangezogenen Parameter der quantitativen densitometrischen Auswertung der  $\gamma$ -Fraktion oder der quantitativen Immunglobulinbestimmung haben zwei Nachteile:

- geringe Konzentrationen monoklonaler Immunglobuline heben sich vor einem polyklonalen physiologischen Hintergrund nicht ab;

# Optimale Isolierung von Blutzellen



## LYMPHOZYTEN

Lymphoprep™  
Lympho-paque®

Dichte: 1,077 g/ml  
Dichte: 1,086 g/ml

## MONOZYTEN

Nycodenz® Monocytes

Dichte: 1,068 g/ml

## GRANULOZYTEN

Polyprep™  
Nycodenz®  
Metrizamide  
Metrizoate

Dichte: 1,113 g/ml



**DR. MOLTER** GMBH

Postfach 1320 · D-6903 Neckargemünd

Info-Gutschein

Zellseparierung LAB

DR. MOLTER GMBH · Postfach 1320 · D-6903 Neckargemünd

Name: \_\_\_\_\_

Krankenhaus/ \_\_\_\_\_

Labor: \_\_\_\_\_

Straße: \_\_\_\_\_

PLZ/Ort: \_\_\_\_\_

Telefon: \_\_\_\_\_

– beim Auftreten eines sekundären Antikörpermangel-syndrom werden niedrige – im Extremfall – physiologische Werte gemessen, obwohl das in der Zirkulation befindliche Immunglobulin dann fast ausschließlich monoklonalen Ursprungs sein kann.

Die aus dem  $Q_{IgG}$  abgeleiteten Konzentrationswerte für monoklonale Immunglobuline nehmen unter physiologischen Bedingungen den Wert Null an. Es gibt also keinen Hintergrund. Darüber hinaus wird das Ergebnis durch einen sekundären Antikörpermangel nicht verfälscht, sondern eher präzisiert. Dieser Parameter sollte sich daher gut zur Verlaufs- und Therapiekontrolle monoklonaler Gammopathien eignen, sofern es sich nicht um einen der seltenen (3,95 %) Fälle handelt, in denen keine Verschiebung des Quotienten auftritt. Um zu überprüfen, ob aus diesem Ansatz heraus verwertbare quantitative Ergebnisse erhalten werden, haben wir in der vorliegenden Untersuchung versucht, das aus dem  $Q_{IgG}$  berechnete monoklonale Immunglobulin mit den Ergebnissen der direkten quantitativen Immunglobulinbestimmung zu vergleichen. Wir interpretieren unsere Ergebnisse dahingehend, daß zumindest für IgG und IgA beide Methoden zu konkordanten Ergebnissen kommen, wobei monoklonale Immunglobuline im niedrigen Konzentrationsbereich durch den  $Q_{IgG}$  erwartungsgemäß wesentlich sensitiver gemessen werden. Wir halten es für einen ausgesprochenen Vorteil dieser Methode, daß offenbar auch freie Leichtketten miterfaßt werden. Die für IgM beobachteten größeren Unterschiede zwischen beiden Methoden sind wahrscheinlich durch eine sterische Behinderung der Epitopenkennung bedingt und zeigen individuelle Schwankungen: Die große Streuamplitude der Datenpunkte um die Regressionsgrade scheint uns darauf hinzudeuten, daß es sich bei den untersuchten Proben in dieser Hinsicht um ein heterogenes Kollektiv gehandelt hat. Es sollte daher von Fall zu Fall geprüft werden, ob das nach Whicher (13) berechnete monoklonale IgM einen brauchbaren Verlaufsparemeter abgibt.

### 3. Conclusio:

Die Messung der Serum-Immunglobulinleichtketten und die Berechnung des  $Q_{IgG}$  erlauben in den meisten Fällen den Nachweis und die Typisierung monoklonaler Immunglobuline. Die Methode scheint jedoch nicht ausreichend sensitiv und spezifisch zur Diagnosesicherung. Diese sollte daher immun-elektrophoretischen Verfahren vorbehalten bleiben. Als Screening-Parameter des diagnostischen Vorfeldes scheint der  $Q_{IgG}$  den bisher üblichen Verfahren (z. B. M-Gradientenbestimmung aus der SPE) überlegen und könnte an dieser Stelle seinen Platz im diagnostischen Stufenplan finden.

Die aus dem  $Q_{IgG}$  rechnerisch abgeleitete Konzentration monoklonaler Immunglobuline spiegelt unseres Erachtens die tatsächlichen Verhältnisse in den meisten Fällen realistisch wieder und ist der einfachen quantitativen Immunglobulinbestimmung an Sensitivität überlegen, vor allem, wenn (i) nur geringe Konzentrationen des monoklonalen Immunglobulins vorliegen, (ii) ein sekundärer Antikörpermangel besteht und (iii) freie Leichtketten auftreten. Wir halten es daher für möglich, daß sich dieser Parameter besonders zur Therapie- und Verlaufskontrolle eignet. Dies zu überprüfen ist Gegenstand laufender Untersuchungen in unserem Labor.

### Danksagung

Für exzellente technische Hilfe danken wir Frau C. Gastl, für beratende Gespräche Herrn Dr. M. Lammers.

### Schrifttum

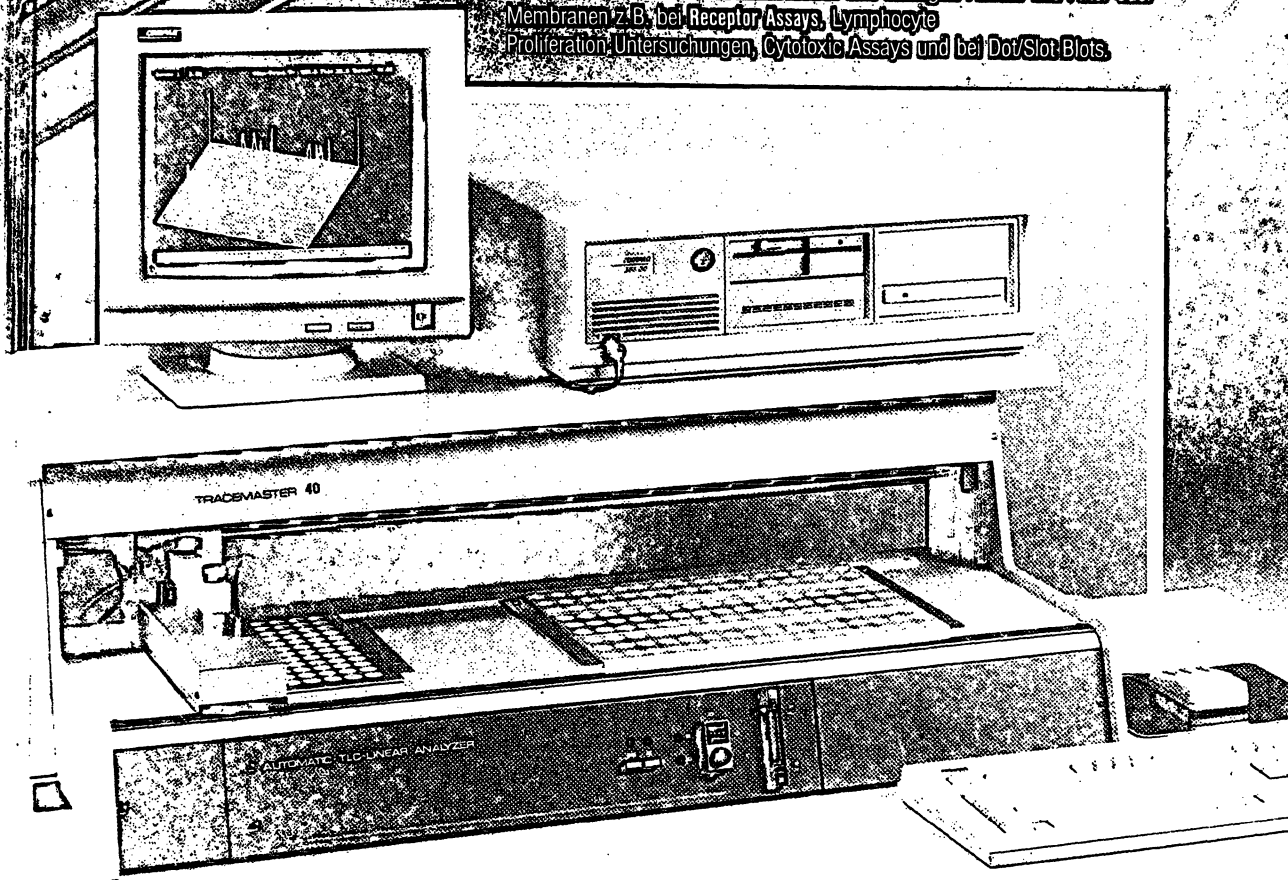
1. HEREMANNS, J. F., MASSON, P. L.: Specific analysis of immunoglobulins: Techniques and clinical value. *Clin. Chem.* 19, 297–300 (1973).
2. WALDENSTRÖM, J. G.: Antibody activity of monoclonal immunoglobulins in myeloma, macroglobulinemia and benign gammopathy. *Med. Oncol., Tumor Pharmacother.* 3, 135–140 (1986).
3. PASCALI, E., PEZZOLI, A.: Serum and urine monoclonal immunoglobulins in malignant non-hodgkin's lymphoma. *Acta haemat.* 75, 193–198 (1986).
4. MELLSTEDT, H., HOLM, G., BJÖRKHOLM, M.: Multiple myeloma, waldenström's macroglobulinemia and benign monoclonal gammopathy: Characteristics of the b cell clone, immunoregulatory cell populations and clinical implications. *Adv. Cancer Res.* 41, 257–285 (1984).
5. BARTL, R., FATEH-MOGHADAM, A.: Die Diagnose des Multiplen Myeloms. *Oncologie* 9, 183–195 (1986).
6. SOLOMON, A.: Bence-Jones proteins and light chains of immunoglobulins. *N. Engl. J. Med.* 294, 17–23; 91–98 (1976).
7. SINCLAIR, D., DAGG, J. H., SMITH, J. G., STOTT, D. I.: The incidence and possible relevance of bence-jones protein in the sera of patients with multiple myeloma. *British J. Haemat.* 62, 689–694 (1986).
8. AXIAK, S. M., KRISHNAMOORTHY, L., GUINAN, J., RAINSON, R. L.: Quantitation of free kappa light chains in serum and urine using a monoclonal antibody based inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Immunol. Methods* 99, 141–147 (1987).
9. GRAZIANI, M. S., RIGHETTI, G.: Immunoblotting for detecting bence jones proteinuria. *Clin. Chem.* 33, 1080–1081 (1987).
10. NORDEN, A. G. W., FULCHER, L. M., FLYNN, F. V.: Detection of bence-jones protein by isoelectrofocusing of unconcentrated urine followed by nitrocellulose blotting and immunoperoxidase staining. *Clin. Chim. Acta.* 153, 149–158 (1985).
11. PEZZOLI, A., PASCALI, E.: Monoclonal bence jones proteinuria in chronic lymphocytic leukaemia. *Scand J. Haematol.* 36, 18–24 (1986).
12. WHICHER, J. T., CALVIN, J., RICHES, P., WARREN, C.: The laboratory investigation of paraproteinaemia. *Ann. Clin. Biochem.* 24, 119–132 (1987).
13. WHICHER, J. T., WALLAGE, M., FIFIELD, R.: Use of immunoglobulin heavy- and light-chain measurements compared with existing techniques as a means of typing monoclonal immunoglobulins. *Clin. Chem.* 33, 1771–1773 (1987).
14. MARSHALL, M. O.: Comparison of immunofixation and immunoelectrophoresis methods in the identification of monoclonal immunoglobulins in serum. *Clin. Chim. Acta.* 104, 1–9 (1980).
15. MAUCH, H., HAMMER, H. J.: Die differenzierte Diagnostik monoklonaler Immunglobuline mit der Immunfixation. *Lab. Med.* 5, 227–239 (1981).
16. LINK, H., LAURENZA, M. A.: Immunoglobulin class and light chain type of oligoclonal bands in CSF in multiple sclerosis determined by agarose gel electrophoresis and immunofixation. *Ann. Neurol.* 6, 107–110 (1979).
17. EICKHOFF, K., HEIPERTZ, R., WIKSTRÖM, J.: Determination of kappa/lambda immunoglobulin light chain ratios in CSF from patients with multiple sclerosis and other neurological diseases. *Acta. Neurol. Scand.* 57, 107–110 (1978).
18. CARON, J., HORSFALL, K., PENN, G. M.: Utility of kappa/lambda quantitation: Results of a multicenter study (Abstract). *Clin. Chem.* 32, 114 (1986).
19. LAMMERS, M., GRESSNER, A. M.: Immunoglobulin light chain determination in serum and urine by use of a fully mechanized immunonephelometric method. *J. Clin. Chem. Biochem.* 24, Abstract E 11, 787 (1986).
20. PRANIS, R., HORSFALL, K., CARON, J.: Quantitation of kappa and lambda light chains by rate nephelometry. *Clin. Chem.* 6, Abstract 452, 1141 (1986).
21. SCHULTZ, A. L., FINK, L. M.: What is the most efficient way to evaluate immunoglobulins? *Clin. Chem.* 32, 391 (1986).
22. HOYER, J., BLESSUM, C. R., BURKE, M.: Accuracy of the presence of monoclonal proteins by quantitative and electrophoretic means. *Clin. Chem.* 32, Abstract 471, 1145 (1986).
23. GUINAN, J. E. C., KENNY, D. F., GATEBY, P. A.: Detection and typing of serum paraproteins with the quantitative kappa : lambda ratio test. *Clin. Chem.* 32, 1951 (1986).
24. THOMAS, L.: Labor und Diagnose. Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg/Lahn (1988).
25. RITZMANN, S. E., DANIELS, J. C.: Serum protein abnormalities – diagnostic and clinical aspects. Little, Brown and Company (Inc.) Boston (1975).
26. FISCHBACH, F., WICK, H., HERTLI, I., BILL, M.: Turbidimetrische Bestimmung von IgA, IgG, IgM, C3 und C4 mit dem Boehringer-Mannheim/Hitachi-705-Analysesystem. Ermittlung altersabhängiger Richtwerte. *Lab. Med.* 12, 449–455 (1988).
27. PASTNER, D., GABL, F.: Methoden zur Diagnose von Myelom und Morbus Waldenström. *Lab. Med.* 3, 157 (1979).
28. THOMAS, L.: Serumweiß-Elektrophorese in Labor und Diagnose. Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg/Lahn, S. 661 ff. (1988).
29. TISCHENDORF, F. W., HAAS, H., MICHELITSCH, B.: Diagnose und Differentialdiagnose der monoklonalen Gammopathien. *Internistische Welt* 6, 226–232 (1981).
30. GRÄSMANN, W., SONNTAG, M.: Früherkennung monoklonaler Gammopathien. *Lab. Med.* 11, 363–366 (1987).
31. DURIE, B. G. M., SALMON, S. E.: A clinical staging system for multiple myeloma, correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment and survival. *Cancer* 36, 842–854 (1975).
32. KYLE, R. A., GARTON, J. P.: Laboratory monitoring of myeloma proteins. *Seminars in Oncology* 13, 310–317 (1986).
33. WHICHER, J. T., SPENCE, C. E.: Serumprotein 'zone' electrophoresis – an outmoded test? *Ann. Clin. Biochem.* 24, 133–139 (1987).
34. SOMMER, R., HOHENWALLNER, W.: Paraproteinämien: Kappa/Lambda-Quotient als Suchtest. *Laborumsblätter* 29, 27–32 (1979).
35. BOEGE, F., FISCHBACH, W.: Wie sicher ist die Erfassung stark erhöhter Serum-Immunglobuline durch nephelometrische und turbidimetrische Meßverfahren? *Ärzt. Lab.* 35, 121–125 (1989).

### Anschrift für die Verfasser:

Dr. med. F. Boege  
Hauptlabor der Medizinischen  
Poliklinik der Universität  
Klinikstraße 8  
8790 Würzburg

# NEU Für die Mikrobiologie: Durchbruch bei der Radioisotopen-Messung

Der neue MSC 2000 mißt automatisch alle flächigen Proben wie Filter oder Membranen z.B. bei Receptor Assays, Lymphocyte Proliferation Untersuchungen, Cytotoxic Assays und bei Dot/Slot Blots.



Eine der Hauptanwendungen des MSC 2000 ist die Ausmessung von Filterproben von Zellharvestern. Hier werden entscheidende Vorteile des MSC 2000 gegenüber Flüssigszintillationszählern sichtbar:

Die beaufschlagten Filterpositionen brauchen nicht ausgestanzt und in Flüssigszintillationsvials gegeben werden, Flüssigszintillator wird nicht benötigt. Vielmehr werden die kompletten Filtermatten in eine Kassette gelegt und auf den Meßtisch des MSC 2000 gebracht – danach erfolgt die automatische Auswertung.

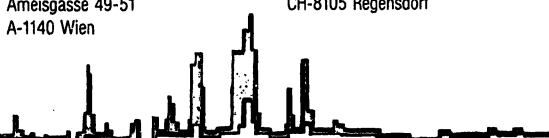
# berthold

Strahlungsmeßgeräte für Industrie,  
Wissenschaft und Medizin.

Stammwerk  
Laboratorium Prof. Dr. Berthold  
D-7547 Wildbad 1, Postfach 160  
Telefon (0 70 81) 177-0  
Telex 7 24 019  
Telefax (0 70 81) 177-100

Österreich  
Berthold-Analytische-Instrumente  
Vertriebsgesellschaft mbH  
Arneisgasse 49-51  
A-1140 Wien

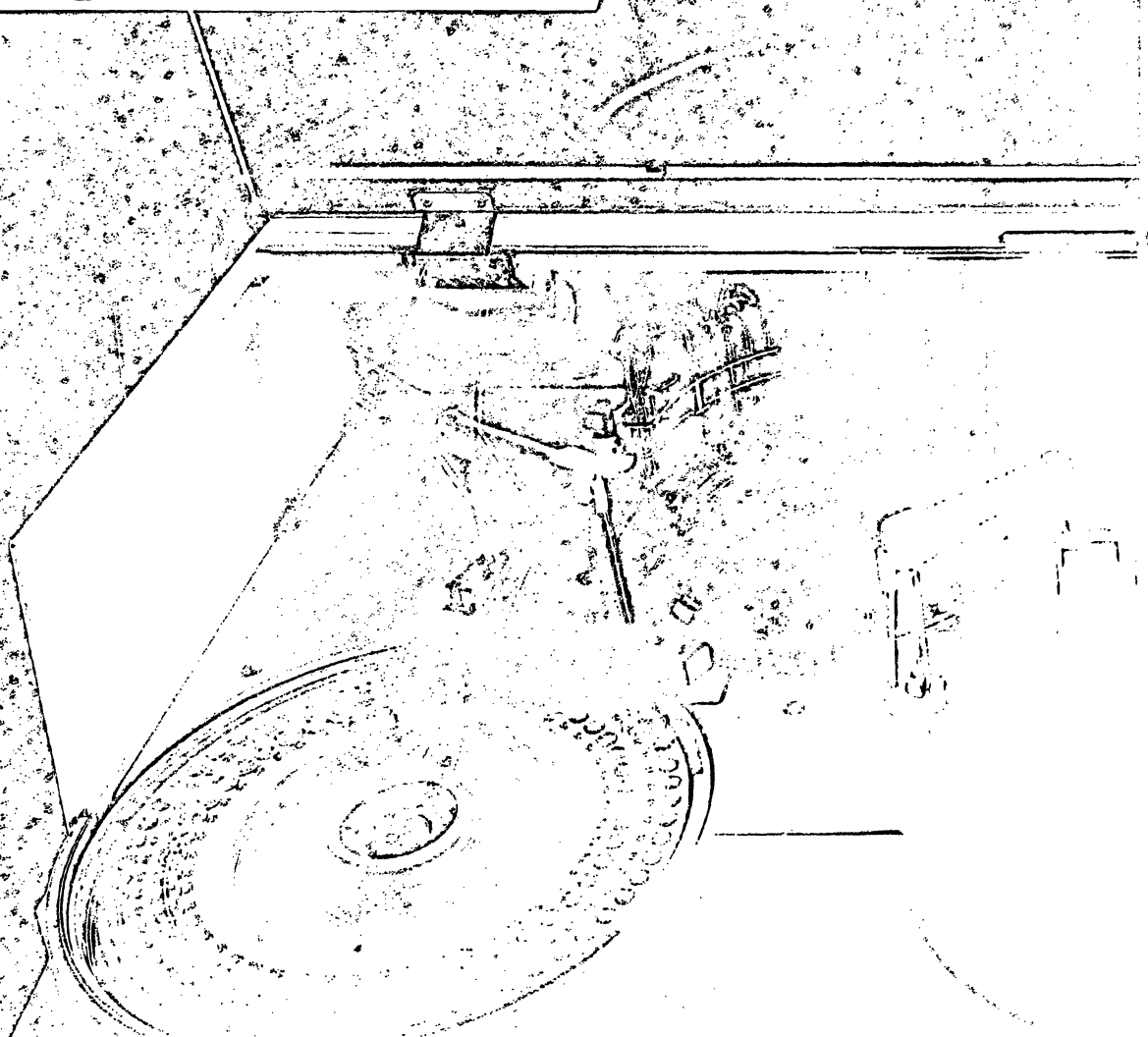
Schweiz  
Berthold AG  
Adlikerstrasse 236  
CH-8105 Regensdorf



*Erfolg kommt*

*nicht von*

*ungefähr...*







*...über 1000 BM/Hitachi Analysensysteme  
in Deutschland sind ein beredtes Zeugnis.*



Boehringer Mannheim GmbH  
6800 Mannheim 31

2. Auflage

# JURAMED®

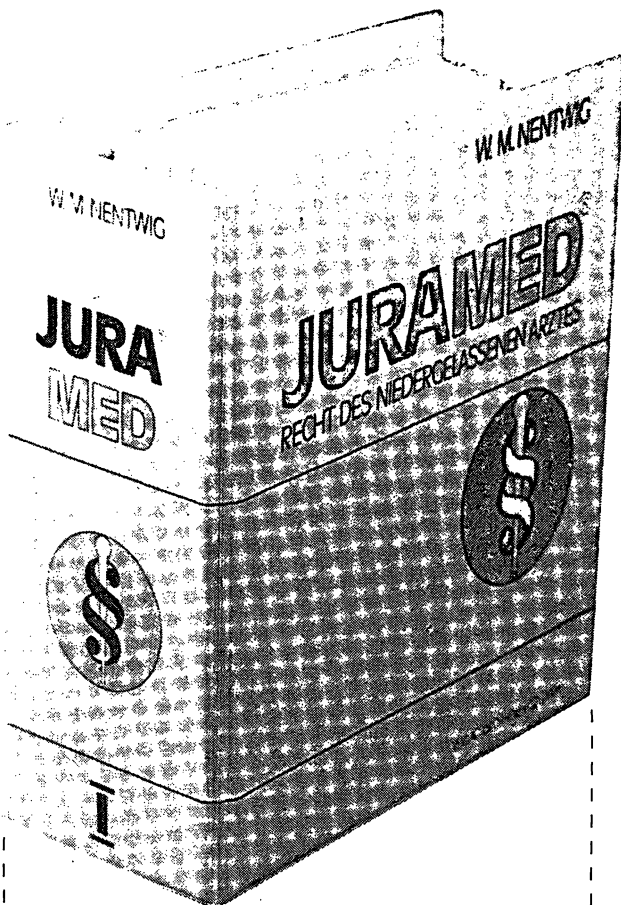
## RECHT DES NIEDERGELASSENEN ARZTES

### Was ist JURAMED?

JURAMED ist ein praxisnahes Werk über das Recht des niedergelassenen Arztes, zusammengestellt von anerkannten Fachleuten, die wissen, wo den niedergelassenen Arzt (juristisch) der Schuh drückt.

Die übersichtliche Gestaltung des Werkes und ein hervorragend gegliedertes Register ermöglichen dem Ratsuchenden, in kürzester Zeit fündig zu werden. Die hier jeweils angebotene prägnante Problemlösung, auch auf arbeitsrechtlichem Gebiet, erlaubt es dem Benutzer, zu agieren und nicht zu reagieren.

Nentwig, W. M.: JURAMED – Recht des niedergelassenen Arztes. Loseblattwerk im Sammelordner, 2. Auflage, 98,- DM, einmal jährlich erscheinende Nachtragslieferung (Seitenpreis 0,29 DM), ISBN 3-87409-003-5.



Hiermit bestelle ich das Grundwerk **JURAMED**, 518 Seiten, zum Preis von 98,- DM sowie die einmal jährlich erscheinende Nachtragslieferung (Seitenpreis 0,29 DM).

Name: \_\_\_\_\_

Straße: \_\_\_\_\_

PLZ/Ort: \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_

Diese Bestellung kann ich binnen einer Frist von einer Woche schriftlich widerrufen. Der Widerruf ist an den Verlag Kirchheim, Postfach 2524, 6500 Mainz, zu richten. Zur Wahrung der Frist genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs. Diesen Hinweis habe ich zur Kenntnis genommen und bestätige dies durch meine 2. Unterschrift.

Datum: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_

### Warum ist JURAMED immer aktuell?

Da es sich um eine Loseblattsammlung handelt, sind die häufig auftretenden Änderungen in Gesetz und Rechtsprechung in kürzester Zeit Bestandteile des Werkes und stehen aktuell zur Verfügung.

Die Beschränkung auf die wesentlichen Kernprobleme der jeweiligen Fallgestaltung und deren griffige Darstellung erlaubt es auch dem unter chronischer Zeitnot leidenden Leser, schnell umfassend informiert zu sein.

In einer Zeit, in der sich der niedergelassene Arzt mehr und mehr mit rechtlichen Problemen konfrontiert sieht, ist JURAMED ein unentbehrlicher Begleiter.

**VERLAG  
KIRCHHEIM  
MAINZ**

Postfach 2524, 6500 Mainz