

Immunonephelometrische Bestimmung der Leichtketten von Immunglobulinen und des Kappa/Lambda-Quotienten im Urin bei Patienten mit monoklonaler Gammopathie

Immunonephelometrical Analysis of Immunoglobulin Light Chains and Kappa/Lambda Ratio in Urine of Patients with Monoclonal Gammopathy

W. Hein, U. Kaboth

Zusammenfassung: Physiologischerweise kommen in den Immunglobulinen die κ -Leichtketten ca. 2 \times häufiger als λ -Ketten vor. Dagegen tritt bei Patienten mit monoklonalen Gammopathien – durch Ausscheidung des monoklonalen Immunglobulins oder der freien monoklonalen Leichtkette (Bence-Jones-Protein) im Urin – eine entsprechende Verschiebung des κ/λ -Quotienten auf.

Bei 640 unter Verdacht auf Bence-Jones-Proteinurie eingesandten Proben wurden parallel immunonephelometrische Messungen von κ und λ sowie Immunelektrophorese (IEP) und Immunfixation (IFE) durchgeführt mit der Frage, inwieweit die schnelle immunonephelometrische Messung des κ/λ -Quotienten die aufwendigere IEP und/oder IFE zu ersetzen vermag oder ob dadurch eine diagnostisch vertretbare kostensparende Vorauswahl für den Einsatz dieser immunoelektrophoretischen Verfahren getroffen werden kann.

In allen 118 Urinproben mit sowohl κ wie λ unter der Nachweisgrenze (< 1 mg/l) und in 125 Proben mit meßbarer Konzentration für κ wie auch λ und einem κ/λ -Quotienten im Bereich von 1,9 bis 3,6 fanden sich keine M-Proteine (Paraproteine), so daß die IEP und IFE hier überflüssig erscheinen. Demgegenüber konnte bei allen 37 Patienten mit einem κ/λ -Quotienten von > 10 und allen 30 Patienten mit κ/λ < 0,6 ausnahmslos ein entsprechendes M-Protein gefunden werden, das in diesen Bereichen allein auf Grund dieses immunonephelometrischen Befundes bereits gesichert werden kann. IEP und/oder IFE sind weiterhin erforderlich, wenn eine Beeinträchtigung durch polyklonales IgG möglich ist, womit man ab IgG-Werten von > 10 mg/l rechnen muß. Ein zusätzlicher Vorteil der immunonephelometrischen Vormessung ist, daß aus den Absolutwerten abgeleitet werden kann, ob die IEP/IFE des nativen oder des 100:1 eingeeengten Urins sinnvoll er-

scheint. Bei Leichtketten-Werten > 70 mg/l sollte zunächst nur die native Urinprobe untersucht werden, da sonst durch Antigen-Überschuß das Ergebnis oft schwer ablesbar ist.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß durch die Bestimmung der Leichtketten-Konzentration sowie des κ/λ -Quotienten immunoelektrophoretische Untersuchungen eingespart werden können, einerseits durch die bereits primäre Vorauswahl des richtigen Konzentrationsansatzes, andererseits durch den sogar prinzipiell möglichen Verzicht auf IEP und/oder IFE in bestimmten eindeutigen κ/λ -Bereichen, die bereits mit ganz hoher Wahrscheinlichkeit – und dies sehr rasch – die Präsenz eines M-Proteins beweisen oder ausschließen.

Schlüsselwörter: Bence-Jones-Protein; Immunfixation; Monoklonale Gammopathie; Immunonephelometrie; Paraproteine.

Summary: Physiologically, κ light chains occur about twice as frequently as λ chains in immunoglobulins. In patients with monoclonal gammopathy, the presence of a monoclonal immunoglobulin or a free monoclonal light chain (Bence Jones Protein) in the urine causes a shift in the κ/λ ratio.

Immunonephelometrical analysis of κ/λ ratio in the urine is a much simpler and quicker method than the common immunoelectrophoresis (IEP) and immunofixation (IFE) for the detection of Bence Jones proteins. In order to identify an algorithmic approach to what extent the immunonephelometrical analysis of κ/λ ratio can replace immunoelectrophoresis and immunofixation, the urine samples of 640 patients with suspected Bence Jones protein were analysed both by immunonephelometrical analysis of κ and λ as well as by immunoelectrophoresis and immunofixation.

All 118 urine samples with immunonephelometrically both κ and λ below the limit of detection (< 1 mg/l) and 125 samples with detectable concentrations of κ and λ and a κ/λ ratio between 1.9 and 3.6 showed no M-proteins (paraproteins) in IEP or IFE, suggesting that in these cases IEP and IFE may not be necessary. On the other hand, in all 37 patients with κ/λ ratio >

Korrespondenzadresse: Dr. med. Waldemar Hein, Abteilung Hämatologie und Onkologie, Georg-August-Universität Göttingen, Robert-Koch-Straße 40, D-37075 Göttingen.
Tel.: +49 551 39-2714, Fax: +49 551 39-8587.
E-Mail: whein@gwdg.de
Eingegangen: 22. Januar 2001/Angenommen: 5. September 2001

10 as well as in all 30 patients showing $\kappa/\lambda < 0.6$, corresponding M-proteins could be detected with IEP and IFE, respectively. This indicates that in this range of κ/λ ratio, immunonephelometrical analysis alone is principally sufficient to prove the presence of an M-protein.

However, IEP and IFE still have to be performed whenever essential interference with polyclonal IgG is likely, as can be expected in IgG concentrations exceeding > 10 mg/l. Another benefit of an immunonephelometrical screening is the information of whether IEP and/or IFE should be performed with a native or concentrated urine sample corresponding to the immunonephelometrical concentration of the dominant light chain: A concentration of > 70 mg/l indicates that the native urine samples should be analysed first, because an excess of antigen can impede the reading of the electrophoretical pattern in concentrated urine.

Our results show that immunonephelometrical screening of light chain concentrations and κ/λ ratio in urine economises the immunoelectrophoretical procedures: firstly, by providing information about the adequate urine concentration to be used for IEP/IFE and secondly, by proving or excluding the presence of an M-protein, if the κ/λ ratio falls within pathological ranges. Hence, in these cases IEP and/or IFE, principally, can be replaced by the determination of the κ/λ ratio in urine.

Keywords: Bence Jones protein; immunofixation; monoclonal gammopathy; immunonephelometry; paraproteins.

Einleitung

Der Nachweis eines „monoklonalen Proteins“ (M-Protein, Paraprotein) im Serum oder Urin – als vollständiges monoklonales Immunglobulin oder auch als Bence-Jones-Protein – spielt eine wesentliche Rolle in der Primärdiagnostik- und Verlaufskontrolle bei monoklonalen Gammopathien, insbesondere beim Plasmozytom, aber auch bei Non-Hodgkin-Lymphomen sowie der AL-Amyloidose [1].

Bei einem Teil (bis 80 %) der Patienten mit monoklonalen Gammopathien wird der Leichtkettenanteil im Überschuß produziert – entweder bereits bei der Erstdiagnose, öfter aber auch erst im weiteren Verlauf der Erkrankung [2]. Dieses nach seinem Erstbeschreiber benannte Bence-Jones-Protein wird als kleines Molekül von ca. 22.000 Dalton rasch durch das Glomerulum filtriert, nur zum Teil rückresorbiert und daher im Urin ausgeschieden, z. T. auch als Dimer [3, 4]. Bei ca. 5–20 % der Plasmozytompatienten wird ausschließlich ein Bence-Jones-Protein gebildet (sog. Bence-Jones-Plasmozytom), das tückischerweise im

Serum meist nicht erkennbar und nur durch die Urinuntersuchung nachweisbar ist. Die klinische Bedeutung beruht auch darauf, daß der Nachweis eines Bence-Jones-Proteins mit einer schlechteren Prognose und mit einer oft bereits vorhandenen oder sich zu einem späteren Zeitpunkt entwickelnden Niereninsuffizienz korreliert [5, 6]. Bei Fehlen eines M-Proteins im Serum und anderer Kriterien eines Plasmozytoms weist eine isoliert vorkommende Bence-Jones-Proteinurie auf eine andere monoklonale Gammopathie, z. B. eine AL-Amyloidose oder evtl. eine „idiopathische Bence-Jones-Proteinurie“, hin [7].

Standardmethode der qualitativen Paraprotein-Diagnostik ist die Serum und Urinuntersuchung mit der Proteinelektrophorese, Immunelektrophorese (IEP) und/oder Immunfixationselektrophorese (Immunfixation, IFE) [8, 9]. Als Alternative zur IEP und IFE bei der Diagnostik von monoklonalen Proteinen im Urin wird die quantitative Messung von Leichtketten empfohlen [10, 11]. Während physiologischerweise die im vollständigen Immunglobulin jeweils paarig – 2 x Kappa oder 2 x Lambda – vorhandenen Leichtketten insgesamt in einem etwa konstanten Verhältnis, ungefähr doppelt so häufig κ als λ [12], vorkommen, wird diese κ/λ -Relation bei Ausschleudung einer freien monoklonalen Leichtkette (Bence-Jones-Protein) oder auch eines vollständigen monoklonalen Immunglobulins im Urin entsprechend verschoben, so daß daraus ein diagnostisch verwertbarer pathologischer κ/λ -Quotient resultiert.

Es stellte sich die Frage, inwieweit die wenig aufwendige und schnelle nephelometrische Leichtkettenmessung die kostenintensivere IEP und IFE bei der Diagnostik von monoklonalen Proteinen im Urin ersetzen kann, ohne daß klinisch relevante Bence-Jones-Proteine oder monoklonale Immunglobuline übersehen werden.

Material und Methoden

Analysiert wurden 640 Urinproben, die zur Untersuchung auf das Vorliegen eines Paraproteins im Urin routinemäßig im Serologisch-Immunologischen Laboratorium der Abteilung Hämatologie und Onkologie der Georg-August-Universität Göttingen eingingen. Alle Proben wurden mit der IEP und IFE (Fa. Technoclone, Wien) untersucht. In jeder Probe wurden außerdem κ - und λ -Leichtketten mittels Immunonephelometrie bestimmt und der κ/λ -Quotient rechnerisch ermittelt.

Die Durchführung und Interpretation der IEP und IFE beruhen im wesentlichen auf den früher [13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20] beschriebenen Techniken. Die IEP wurde mit nativen und eingengten, die IFE mit eingengten und in Sonderfällen mit nativen Proben durchgeführt. Die Konzentration der Proben erfolgte mit einem Zentrifugal-Konzentrator Centrisart II (Fa. Sartorius, Göttingen) oder durch Filtration in stehender Kammer Urifil-10 (Fa. Millipore, Eschborn). Für die immunonephelometrischen Bestimmungen stand

Nicht standardisierte Abkürzungen: BJP = Bence-Jones-Protein; IEP = Immunelektrophorese; IFE = Immunfixationselektrophorese, Immunfixation; UPE = Urin-Proteinelektrophorese

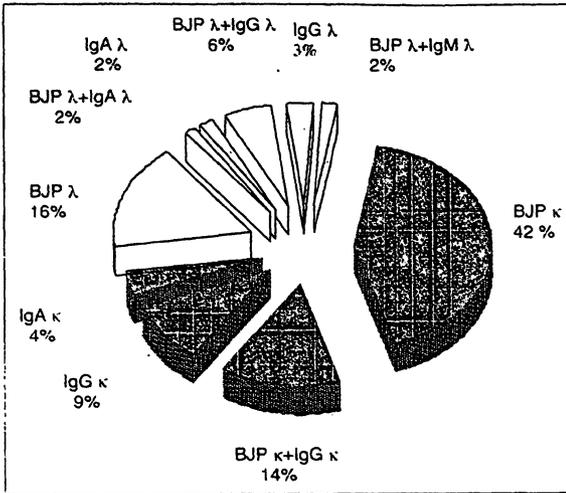


Abbildung 1 Verteilung der 127 Paraproteine, die mit der IEP und IFE festgestellt wurden

ein Behring Nephelometer Analyser – BNA (Fa. Dade Behring, Liederbach) zur Verfügung. Die Leichtketten-Bestimmung fand mit Antisera statt, die mit äußeren oder auch mit äußeren und inneren Determinanten reagieren (Antisera gegen freie und gebundene Leichtketten). Die Nachweisgrenze für κ und λ betrug jeweils 1 mg/l.

Ergebnisse

1. Immunelektrophoretische Befunde

Mit den immunelektrophoretischen Methoden IEP und IFE fanden wir in 127 von 640 Urinproben (20%) M-Proteine, entweder in Form eines monoklonalen Immunglobulins, eines Bence-Jones-Proteins oder deren Kombination. In den übrigen 513 Proben (80%) fanden sich keine Hinweise auf das Vorhandensein eines monoklonalen Proteins. Die Häufigkeitsverteilung der monoklonalen Schwerkettenklassen und Leichtketten-typen ist in Abbildung 1 dargestellt.

Es zeigte sich das übliche „Übergewicht“ der monoklonalen Proteine mit Kappa-Leichtketten (69%) gegenüber solchen mit Leichtketten vom Lambda-Typ (31%) im Verhältnis von ca. 2,2:1. Eine isolierte Bence-Jones-Proteinurie wurde in 58% (42%) vom Typ κ, 16% vom Typ λ) der Paraprotein-positiven Proben gefunden. Weitere 42% der M-Proteine lagen als monoklonale Immunglobuline isoliert oder in Kombination mit einem Bence-Jones-Protein vor.

2. Immunonephelometrische Befunde

Die immunonephelometrischen Daten sind in Tabelle 1 (in Korrelation zu den immunelektrophoretischen Befunden) wie auch Abbildung 2 dargestellt. Bei 355 Patienten waren immunonephelometrisch sowohl κ als auch λ meßbar (55,5%). Bei 118 Patienten (18,4%)

Tabelle 1 Vergleich der immunonephelometrisch bestimmten Leichtketten-Konzentrationen und κ/λ-Quotienten mit den Ergebnissen der IEP und IFE

| Kappa/Lambda | IEP und/oder IFE | | |
|-----------------------------|-----------------------|------------------|---------------|
| | kein M-Protein n = | M-Protein n = | Gesamt n = |
| > 10 | 0 | 37 | 37 |
| 3,6–10 | 65 | 21 | 86 |
| (1,9–3,6) | 125 | 0 | 125 |
| 0,6–1,9 | 68 | 9 | 77 |
| < 0,6 | 0 | 30 | 30 |
| entweder κ oder λ meßbar | 137 | 30 | 167 |
| κ und λ nicht meßbar | 118 | 0 | 118 |
| | 513 | 127 | 640 |

lagen κ und λ unter der Nachweisgrenze des BNA-Nephelometers. In diesen Fällen fand sich auch nach Konzentration des Urins (100:1) mit der IEP und IEF kein Paraprotein. Es konnte also allein mit immunonephelometrischer Messung eine klinisch relevante Paraproteinurie ausgeschlossen werden. Bei 167 von 640 (26,1%) Patienten konnte nur eine der beiden Leichtketten nachgewiesen werden. Bei 5 Patienten war nur die Konzentration der κ-Kette (κ < 1 mg/l) und in 162 Fällen nur die Konzentration der λ-Kette (λ < 1 mg/l) nicht meßbar. In diesen Fällen empfiehlt sich eine präanalytische 20:1 Konzentrierung.

3. Korrelation des κ/λ-Quotienten mit den Ergebnissen der IEP und/oder IFE

Eine deutliche Abgrenzbarkeit Paraprotein-haltiger Urine ergab sich durch eine starke Abweichung vom physiologischen κ/λ-Quotienten, wie dies aus der Grafik in Abbildung 2 durch die Verteilung der mit schwarzen Symbolen markierten Paraprotein-positiven Urine deutlich ablesbar ist.

In allen 37 Fällen mit κ/λ > 10 fanden sich Paraproteine vom Typ κ und in allen 30 Proben mit κ/λ < 0,6 vom Typ λ (s. Tab. 1): Dies entspricht den „Wahrscheinlichkeitsfeldern“ 4 und 5 sowie 9 und 11 der Abbildung 3. Somit deuten κ/λ-Quotienten in diesen Bereichen auf mit hoher Sicherheit vorliegende Präsenz eines Paraproteins hin. Im κ/λ-Bereich von 1,9–3,6 lagen 125 Proben, die in der IEP und IFE kein Bence-Jones-Protein oder monoklonales Immunglobulin aufwiesen. Dies entspricht in Abbildung 3 dem Feld 6 und dem für unser Kollektiv wohl anzunehmenden physiologischen Bereich des κ/λ-Quotienten.

Bei einem Teil der Paraprotein-positiven Proben lag der κ/λ-Quotient im Grenzbereich von 0,6–1,9 bzw. 3,6–10 (Feld 7 + 8). Bei ausgeprägter Proteinurie mit

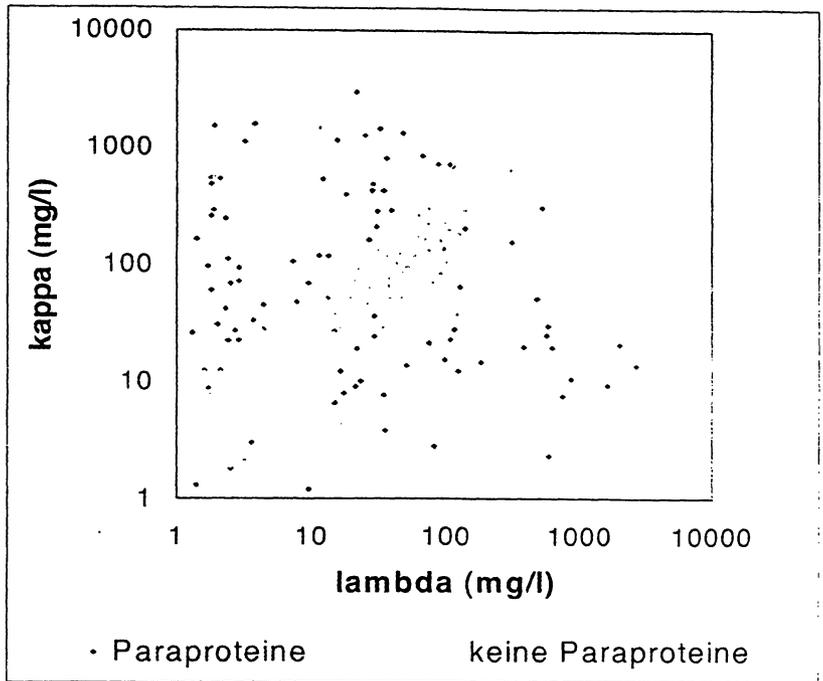


Abbildung 2 Urin-Kappa/Lambda-Quotient bei 355 Patienten mit immunonephelometrisch meßbarem Kappa und Lambda in Relation zu den Ergebnissen der IEP und IFE

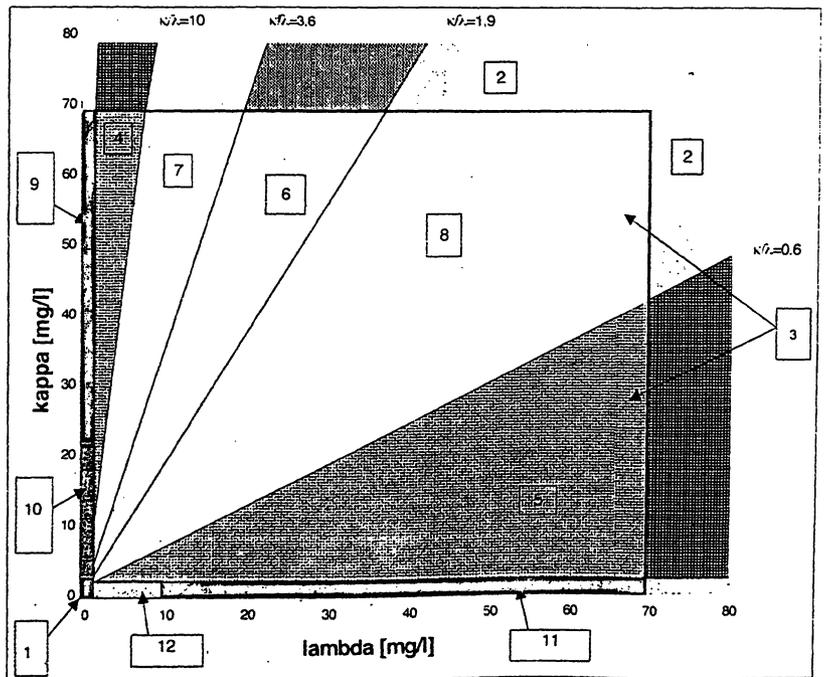


Abbildung 3 Entscheidungsbereiche für den Einsatz von IEP und IFE in Abhängigkeit von den a) Absolutwerten für κ und λ (Felder 1, 2 und 3) sowie vom b) κ/λ -Quotienten (Felder 4-12).
 a) Feld 1: κ und λ im Urin nicht meßbar: Präsenz eines klinisch relevanten M-Proteins ausgeschlossen; Feld 2: Urin ohne Konzentrieren zur IFE einsetzen; Feld 3: Urin nach Konzentrieren (100:1) zur IFE einsetzen;
 b) Felder 9 + 11 sowie 4 + 5: Präsenz eines M-Proteins im Urin auf Grund der Abweichung des κ/λ -Quotienten mit Sicherheit anzunehmen; Feld 6: Präsenz eines M-Proteins im Urin unwahrscheinlich.
 Das weitere Vorgehen für die 12 einzelnen Felder – die auch jeweils unterschiedliche „Wahrscheinlichkeiten“ für die Präsenz eines Paraproteins bedeuten – ist der detaillierten Erläuterung im Text zu entnehmen.

Konzentration des polyklonalen IgG > 10 mg/l kann oder muß sogar eine Abweichung des κ/λ -Quotienten durch die Reaktivität des Antiserums mit den Leichtketten der physiologischen Immunglobuline ausbleiben.

4. Konsequenzen für eine rationelle Diagnostik monoklonaler Proteine im Urin

Die Untersuchungsergebnisse legen die nachfolgenden rationell erscheinenden Empfehlungen für das Vorgehen bei der Diagnostik von monoklonalen Proteinen im Urin nahe: der Untersuchung einer Harnprobe mit IEP oder IFE sollte zunächst die immunonephelometrische Bestimmung der Konzentrationen beider Leichtketten sowie von IgG vorgeschaltet werden.

In Abbildung 3 sind schematisch die sich daraus ableitenden Entscheidungsbereiche (1–12) dargestellt. Die Numerierung (1–12) dieser grafischen Darstellung entspricht der ausführlichen Legende zu den einzelnen 12 „Entscheidungsfeldern“.

a. Absolute Leichtketten-Konzentration

Die erste Entscheidung bezüglich der immunoelektrophoretischen Untersuchung wird von den immunonephelometrisch bestimmten absoluten Leichtketten-Werten (Felder 1, 2 und 3 in Abb. 3) abhängig gemacht:

- In Fällen mit nicht meßbarem Kappa und Lambda (Feld 1) ist das Vorliegen eines M-Proteins extrem unwahrscheinlich. Eine weitere Untersuchung des Urins auf das Vorliegen eines Paraproteins ist streng genommen nicht indiziert. Lediglich bei dringendem klinischem Verdacht auf z. B. eine AL-Amyloidose, bei einem sekundären Antikörpermangel-Syndrom ohne bisher gelungenen Paraprotein-Nachweis oder bei Verdacht auf eine residuale monoklonale Gammopathie bei vorbekanntem Bence-Jones-Protein ist eine Urin-Analyse mittels IEP oder besser IFE von mindestens 100:1 konzentrierten Proben zu erwägen.
- Proben mit Konzentration einer der beiden Leichtketten (κ oder λ) über 70 mg/l (Feld 2 in Abb. 3) sollten *ohne Konzentrierung* untersucht werden, um Ableseschwierigkeiten durch Antigen-Überschuß („Auslöschphänomen“) und damit evtl. falsch-negative Befunde zu vermeiden.
- Wenn die Konzentration der κ und λ Leichtketten jeweils kleiner als 70 mg/l, aber größer als 1 mg/l ist (Feld 3), sollte die Untersuchung mittels IFE in 100:1 eingengten Proben stattfinden.

b. κ/λ -Quotient

Sind die Konzentrationen beider Leichtketten meßbar, dann wird der κ/λ -Quotient berechnet.

- Bei $\kappa/\lambda > 10$ (Feld 4) besteht dringender Verdacht, ja ein nahezu sicherer Hinweis auf ein Bence-Jones-Protein Typ κ oder monoklonales Immunglobulin Typ κ . andererseits bei $\kappa/\lambda < 0,6$ (Feld 5) – ebenso sicherer Hinweis auf ein Bence-Jones-Protein Typ λ oder monoklonales Immunglobulin Typ λ . Beträgt zugleich Urin-IgG < 10 mg/l – ist die Ausscheidung

eines kompletten Immunglobulins unwahrscheinlich und es verbleibt nur die Möglichkeit einer Bence-Jones-Proteinurie. Zur Bestätigung erfolgt dann eine IFE mit Antiseren nur gegen die Leichtketten.

- Liegt der κ/λ -Quotient im Bereich 1,9–3,6 (Feld 6) – ist das Vorliegen eines Bence-Jones-Proteins und/oder eines monoklonalen Immunglobulins im Urin sehr unwahrscheinlich, aber dennoch bei sehr starker polyklonaler IgG-Ausscheidung (Urin-IgG > 10 mg/l) prinzipiell möglich. Nur bei dringendem klinischen Verdacht auf ein Paraprotein oder bei Urin-IgG > 10 mg/l ist dann eine IFE erforderlich.
- Liegt der κ/λ -Quotient im Bereich 3,6–10 (Feld 7) bzw. 0,6–1,9 (Feld 8) ist das Vorliegen eines Bence-Jones-Proteins oder monoklonalen Immunglobulins vom Typ κ bzw. λ möglich. Deswegen soll auch hier die IFE erfolgen.

Durch die Empfindlichkeit der Methodik bzw. des Nephelometers ist in einigen Fällen nur die Konzentration einer der beiden Leichtketten meßbar und die Bestimmung des κ/λ -Quotienten nicht möglich. In solchen Fällen sollte die Konzentration der dominierenden Leichtkette berücksichtigt werden. Bei einer κ -Konzentration von > 21 mg/l und nicht meßbarer λ -Konzentration besteht ein ganz dringender Verdacht auf ein Bence-Jones-Protein Typ κ oder monoklonales Immunglobulin Typ κ (Feld 9). Zur Bestätigung sollte hier eine IFE durchgeführt werden. Ist $\kappa < 21$ mg/l und λ nicht meßbar (Feld 10) – ist das Vorliegen eines Bence-Jones-Proteins vom Typ κ oder monoklonalen Immunglobulins Typ κ möglich. Durch immunonephelometrische Bestimmung der κ - und λ -Leichtketten aus 20:1 eingengter Probe kann dann bei berechenbar werdendem κ/λ -Quotienten bereits ein dringender Verdacht auf M-Protein deutlich werden. Auch hier sollte die IFE durchgeführt werden.

In Fällen mit $\lambda > 9$ mg/l und nicht meßbarem κ (Feld 11) ist ein Bence-Jones-Protein Typ λ und/oder monoklonales Immunglobulin Typ λ ebenfalls mit Sicherheit anzunehmen. Bei $\lambda < 9$ mg/l und nicht meßbarem κ (Feld 12) ist das Vorliegen eines Bence-Jones-Proteins vom Typ λ oder monoklonalen Immunglobulins Typ λ in geringer Menge durchaus möglich. Durch immunonephelometrische Bestimmung der κ - und λ -Leichtketten aus 20:1 eingengter Probe kann dann durch berechenbar werdenden κ/λ -Quotienten ebenfalls ein dringender M-Protein-Verdacht deutlich werden. Zur Bestätigung würde auch hier die IFE erfolgen.

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden die Ergebnisse der immunonephelometrischen Leichtketten-Bestimmung im Urin, die bei Patienten mit monoklonalen Gammopathien sowohl in der Primärdiagnostik wie auch zur Verlaufskontrolle – in etwa vergleichbar einem Tumormarker – eingesetzt werden kann, mit den Ergebnissen der immunoelektrophoretischen qualitativen Methoden (IEP und IFE) in der Urin-Primärdiagnostik bei

einem umfangreichen Patientengut überprüft und korreliert. Der Vergleich mit dem Begriff Tumormarker ergibt sich dabei aus der weitgehenden Parallelität von klinischem Verlauf (Progression, Remission) und der korrespondierenden Zunahme oder Abnahme der Menge des von den Myelomzellen gebildeten und freigesetzten monoklonalen Proteins im Serum und – speziell bei den Bence-Jones-Proteinen – auch im Urin.

Bei insgesamt 640 unter Verdacht auf Paraproteinurie eingesandten Proben wurden parallel immunonephelometrische Messungen von κ und λ sowie Immunelektrophorese (IEP) und Immunfixationselektrophorese (IFE) – in unterschiedlicher Konzentration – durchgeführt, mit der Frage, inwieweit die relativ wenig aufwendige und auch rasche Messung des κ/λ -Quotienten die wesentlich kostenintensivere und auch weniger schnelle Immunelektrophorese (IEP) und/oder Immunfixationselektrophorese (IFE) zum M-Protein-Nachweis (oder Ausschluß) ausreichend zuverlässig ersetzen könnte.

Es zeigte sich, daß in allen 118 Urinproben mit sowohl κ wie λ unter der immunonephelometrischen Nachweisgrenze (< 1 mg/l) durch die Immunelektrophorese und Immunfixationselektrophorese auch nach Einengen des Urins (100:1) kein Bence-Jones-Protein oder monoklonales Immunglobulin nachweisbar war und somit diese aufwendigere Ergänzungsuntersuchung eingespart werden kann, da die Präsenz eines M-Proteins unter diesen Bedingungen in hohem Maße unwahrscheinlich ist. Ähnliche Beobachtungen machten Grubb [21] und Levinson [11]. Laut Grubb [21] sei in Fällen mit κ und λ Werten unter der Nachweisgrenze der Immunnephelometrie von bereits $\kappa < 5$ mg/l und $\lambda < 5$ mg/l eine Bence-Jones-Proteinurie ausgeschlossen. Bei Abwesenheit von verdächtigen Banden in der Urin-Proteinelektrophorese (UPE) und bei nicht meßbaren Leichtketten-Konzentrationen ($\kappa < 18,5$ mg/l, $\lambda < 50$ mg/l, also bei höherer Sensitivitätsgrenze als in unseren Untersuchungen) empfiehlt Levinson [11] sogar auf die Immunfixation zu verzichten. Es ist allerdings sinnvoll, zur Paraprotein-Diagnostik im Urin auch die Urin-Proteinelektrophorese verfügbar zu haben, um bei κ - und λ -Werten unter der Meßgrenze der Immunnephelometrie möglichst zuverlässig auf die dann überflüssige IEP und IFE wirklich verzichten zu können. Dies ist um so mehr zu empfehlen, als es nicht nur den theoretischen Einwand, sondern in der Literatur [22, 23] Beobachtungen gibt, daß unterschiedliche Antikörperchargen u. U. bestimmte Epitope eines monoklonalen Proteins auch einmal nicht oder zumindest schlechter erfassen. Hierdurch kann es ein falsch-niedriges Resultat für die Messung eines κ - oder λ -Wertes ergeben.

Bei 125 Proben mit meßbarer Konzentration für κ wie auch λ und einem κ/λ -Quotienten im mittleren physiologischen Bereich von 1,9 bis 3,6 fand sich ebenfalls kein monoklonales Immunglobulin oder Bence-Jones-Protein, so daß die ergänzende Immunelektrophorese (IEP) und Immunfixation (IFE) mit Einengen des Urins nach unseren Daten ebenfalls über-

flüssig erscheint und vielleicht nur in wenigen Einzelfällen bei dringendem klinischem Verdacht auf entsprechende Erkrankung (Plasmozytom, Non-Hodgkin-Lymphom, AL-Amyloidose, sekundäres Antikörpermangel-Syndrom) oder Präsenz eines potentiellen Störfaktors wie polyklonales IgG durchgeführt werden sollte. Eine Vereinheitlichung eines „Referenzbereiches“ für den κ/λ -Quotienten ist wegen der Zahl angewandter Methoden, der Inhomogenität der Antiseren und der oft zu kleinen Stichproben in bisherigen Publikationen [24, 25, 26, 27], insbesondere aber wegen des konkurrierenden Einflusses von polyklonalem IgG bei der Abgrenzung von „pathologischen κ/λ -Quotienten“ kaum möglich und auch eher nicht sinnvoll.

Es konnte aber bei allen 37 Patienten mit einem κ/λ -Quotienten von > 10 und allen 30 Patienten mit einem κ/λ -Quotienten von $< 0,6$ ausnahmslos ein entsprechendes Paraprotein gefunden werden, das also in diesen Bereichen eigentlich allein auf Grund dieses rasch verfügbaren immunonephelometrischen Befundes bereits diagnostiziert werden kann; der Befund sollte dann im Rahmen einer Primärdiagnostik ergänzend durch Immunelektrophorese und/oder Immunfixationselektrophorese bestätigt und spezifiziert werden. (Die entsprechenden κ/λ -Bereiche bzw. auch „Wahrscheinlichkeitsfelder“ für die Präsenz eines Paraproteins sind in Abb. 2 und insbesondere in Abb. 3 graphisch dargestellt.)

Für die Bewertung des κ/λ -Quotienten im Urin und der daraus abzuleitenden Konsequenzen ist stets die Berücksichtigung der absoluten quantitativen Meßwerte, nicht nur von κ und λ , sondern auch anderer Urin-Proteine (z. B. IgG) erforderlich. So gehört zu den Vorteilen der vor der IEP und/oder IFE durchgeführten κ/λ -Messung im Urin, daß aus den Absolutwerten der Leichtketten-Konzentration abgeleitet werden kann, ob die IEP und/oder IFE des nativen oder z. B. des 100:1 eingengten Urins sinnvoll erscheint. Bei Leichtketten-Werten > 70 mg/l sollte nach unseren Daten zunächst nur der native Urin untersucht werden, da sonst durch hohen Antigen-Überschuß das Ergebnis oft schwer oder sogar gar nicht ablesbar ist. Die nephelometrische Leichtketten-Bestimmung kann also die häufig bei Vorbereitung der elektrophoretischen Urinuntersuchungen durchgeführte Gesamteiweiß-Bestimmung [28] ersetzen.

Die Durchführung einer Immunelektrophorese und/oder Immunfixation ist weiterhin erforderlich, wenn die Konzentration einer der beiden Leichtketten unter der immunonephelometrischen Nachweisgrenze liegt, so daß der Quotient nicht gebildet werden kann, oder wenn eine Beeinträchtigung des Quotienten durch die gleichzeitige Präsenz von polyklonalem IgG möglich ist, womit man ab IgG-Werten von > 10 mg/l rechnen muß. Ein weiterer Nachteil der immunonephelometrischen κ/λ -Messung ist demnach die für einen Teil der Patientenproben nicht ausreichende Sensitivitätsgrenze für die Meßbarkeit beider Leichtketten-Konzentrationen [29]. Dies kann aber durch das Einengen des Urins (ca. 20:1) bei klinisch dringendem Verdacht auf gerin-

ge Mengen eines M-Proteins kompensiert werden. Die Anwendbarkeit dieser präanalytischen Konzentrierung wird aber andererseits auch durch unterschiedliche Größe der Leichtketten (z. B. Dimere) und entsprechend unterschiedliche Diffusionsgeschwindigkeit sowie evtl. auch durch Proteinverlust während des Einengens limitiert [30] und sollte nur in den erwähnten Sonderfällen angewendet werden.

Zusammenfassend konnten auf Grund der dargestellten Befunde mit der immunonephelometrischen Leichtketten-Bestimmung als erstem Schritt im Vorfeld der immunoelektrophoretischen Untersuchungen verschiedene Vorschläge für eine rationellere Paraprotein-Diagnostik im Urin ausgearbeitet werden. Durch die Bestimmung der Leichtketten-Konzentration sowie des κ/λ -Quotienten können immunoelektrophoretische Untersuchungen eingespart werden – einerseits durch die bereits primäre Vorauswahl des richtigen Konzentrationsansatzes, andererseits aber auch durch möglichen Verzicht auf überflüssig erscheinende Immunoelektrophoresen bei bestimmten eindeutigen κ/λ -Bereichen, die bereits mit ganz hoher Wahrscheinlichkeit die Präsenz eines M-Proteins beweisen oder ausschließen. Für die klinische Praxis ist auch bedeutsam, daß – z. B. bei akut aufgefallener Niereninsuffizienz unklarer Ätiologie – der Paraprotein-Nachweis oder Ausschluß sehr rasch (innerhalb ca. 1 Stunde) erfolgen kann.

Letztlich ist hervorzuheben, daß insbesondere bei isolierter Bence-Jones-Proteinurie und bei Bence-Jones-Plasmozytom die immunonephelometrische Quantifizierung des Bence-Jones-Proteins einen ganz wichtigen Verlaufparameter zu Beurteilung von Progression bzw. Remission der Tumorerkrankung darstellt und wesentlich sinnvoller und preiswerter ist als die Wiederholung von IEP oder IFE.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. R. Hilgers aus der Abteilung Medizinische Statistik danken wir für wertvolle Ratschläge und anregende Diskussionen. Herrn Prof. Dr. med. G. Brittinger danken wir für die Unterstützung und Korrektur des Manuskriptes. Für die Hilfe bei der Durchführung der Arbeit danken wir den Mitarbeiterinnen des Labors D. Beyer und C. Ruppin und bei der Gestaltung I. Wienzek und E. Höcht.

Literatur

1. Alexanian R, Weber D, Liu F. Differential Diagnosis of Monoclonal Gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999;123:108–13.
2. Kyle RA. Multiple Myeloma and other Plasma Cell Disorders. In: Hoffman R, Hematology. Basic principles and practice. New York (USA): Churchill Livingstone, 1995: 1354–74.
3. Sölling K. Free light chains of immunoglobulins: studies of renal handling and clinical significance. Scand J Clin Lab Invest 1981;41 (Suppl 157):15–83.
4. Hofmann W, Edel HH, Guder WG, Ivandic M, Scherberich JE. Hamuntersuchungen zur differenzierten Diagnostik einer Proteinurie. Dt Arztebl 2001;12:A 756–763.
5. Solomon A. Clinical Implications of Monoclonal Light Chains. Semin Oncol 1986;13(3):341–9.

6. Alexanian R, Barlogie B, Dixon D. Renal failure in multiple myeloma. Pathogenesis and prognostic implications. Arch Intern Med 1990;150:1693–5.
7. Attalmanan M, Levinson SS. Understanding and Identifying Monoclonal Gammopathies. Clin Chem 2000;46(8B):1230–8.
8. Keren DF. Procedures for the Evaluation of Monoclonal Immunoglobulins. Arch Pathol Lab Med 1999;123:126–32.
9. Lahuerta JJ, Martinez-Lopez J, Serna JD, Blade J, Grande C, Alegre A, Vazquez L, Garcia-Larana J, Sureda A, Rubia JD, Conde E, Martinez R, Perez-Equiza K, Moraleda JM, Leon A, Besalduch J, Cabrera R, Miguel JD, Morales A, Garcia-Ruiz JC, Diaz-Medavilla J, San-Miguel J. Remission status defined by immunofixation vs. electrophoresis after autologous transplantation has a major impact on the outcome of multiple myeloma patients. Br J Haematol 2000;109(2):438–46.
10. Boege F, Koehler B, Liebermann F. Identification and quantification of Bence-Jones proteinuria by automated nephelometric screening. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1990;28:37–42.
11. Levinson SS. An algorithmic approach using κ/λ ratios to improve the diagnostic accuracy of urine protein electrophoresis and to reduce the volume required for immunoelectrophoresis. Clin Chim Acta 1997;262:121–30.
12. Thomas L. Immunglobuline. In: Thomas L, editor. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. Frankfurt/Main (DE): TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 1998: 684–95.
13. Grabar P, Williams CA. Methode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immuno-chimiques d'un mélange de protéines, application au sérum sanguin. Biochim Biophys Acta 1953;10:193–4.
14. Scheidegger JJ. Une micro-méthode de l'immuno-électrophorèse. Int Arch Allergy 1955;7:103–10.
15. Penn G, Batya J. Interpretation of immunoelectrophoretic patterns. Chicago (USA): Am Soc Clin Pathol, 1978.
16. Wilson AT. Direct immunoelectrophoresis. J Immunol 1964;92: 431–4.
17. Alfonso E. Quantitative immunoelectrophoresis of serum proteins. Clin Chim Acta 1964;10:114–22.
18. Alper CA, Johnson AM. Immunofixation electrophoresis: A technique for the study of protein polymorphism. Vox Sang 1969;17:445–52.
19. Ritchie RF, Smith R. Immunofixation I. General Principles and Application to Agarose Gel Electrophoresis. Clin Chem 1976;22: 497–9.
20. Bauer K, Molinari E. Immunofixation : Techniken – Interpretation. Stuttgart (DE): Georg Thieme Verlag, 1989.
21. Grubb A. Zur empfindlichen und schnellen Klassifizierung der Proteinurie: Analyse einzelner Proteine im Urin. Diagn Lab 1992;42:157–62.
22. Tillyer CR. The estimation of free light chains of immunoglobulins in biological fluids. Int J Clin Lab Res 1992;22:152–8.
23. Boege F. Bence Jones-Proteine. J Lab Med 1999;23(9):477–82.
24. Robinson EL, Gowland E, Ward ID, Scarffe JH. Radioimmunoassay of free light chains of immunoglobulins in urine. Clin Chem 1982;28:2254–8.
25. Brouwer J, Otting-van de Ruit M, Busking-van der Lely H. Estimation of free light chains of immunoglobulins by enzyme immunoassay. Clin Chim Acta 1985;150:267–74.
26. Peisker K, Heyer KU, Hauser K, Langer T. Entwicklung eines immunochemischen Tests für den Nachweis freier Immunglobulin-Leichtketten (Bence Jones-Proteine) im Urin. J Lab Med 2000; 24(1):27–32.
27. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT, Drew R. Highly Sensitive, Automated Immunoassay for Immunoglobulin Free Light Chains in Serum and Urine. Clin Chem 2001;47(4):673–80.
28. Messinger M, Thomas L. Immunfixations-Elektrophorese (IFE) zum Screening auf Bence Jones-Proteinurie. Lab med 1992;16: 262–6.
29. Levinson SS, Keren DF. Free Light Chains of Immunoglobulins: Clinical Laboratory Analysis. Clin Chem 1994;40(10): 1869–78.
30. Levinson SS. Urine Protein Electrophoresis and Immunofixation Electrophoresis Supplement One Another in Characterizing Proteinuria. Ann Clin Lab Sci 2000;30:79–84.