Freie Immunglobulin-Leichtketten und Gammopathien

Nutzen der Bestimmung im Serum

Denis Rivier

Médecin-consultant, Laboratoire Meditest SA, Vevey; früherer «maître d'enseignement et de recherches» am Département de biochimie de la faculté de biologie et médecine an der Universität Lausanne

Quintessenz

- Zur Überwachung monoklonaler Gammopathien wurde der Nachweis freier Immunglobulin-Leichtketten im Urin (vormals Bence-Jones-Proteine) durch deren Bestimmung im Serum ersetzt.
- Mit der differenzierten Bestimmung der freien Immunglobulin-Leichtketten (FLC) Kappa (κ) und Lambda (λ) im Serum kann gezeigt werden, dass Lymphozyten der B-Linie unter physiologischen Bedingungen Spuren an FLC produzieren, die über das renale Glomerulum filtriert und anschliessend durch den proximalen Tubulus rückresorbiert werden.
- Der κ/λ-Quotient der FLC ist bei malignen monoklonalen Gammopathien verändert (z.B. Myelome, Morbus Waldenström), bei monoklonalen Gammopathien unklarer Signifikanz (MGUS) im Normbereich. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit (einige Stunden) der FLC im Serum ermöglicht deren Bestimmung, die Wirksamkeit einer Behandlung rasch abzuschätzen und einen Rückfall zu erkennen.
- Bei einer allgemeinen Stimulierung der B-Lymphozyten (Autoimmunkrankheiten, Infektionen) sind die FLC erhöht, das Verhältnis κ/λ bleibt jedoch im Normbereich (polyklonale Gammopathien). Die Bestimmung der FLC ist zur Überwachung bestimmter Erkrankungen (Lupus erythematodes) von Nutzen. Eine Veränderung des κ/λ-Quotienten ermöglicht es, die monoklonale Entwicklung einer Gammopathie aufzudecken.

Einführung

Denis Rivier

Der Autor hat keine finanzielle Unterstützung und keine anderen Interessenskonflikte im Zusammenhang mit diesem Beitrag deklariert.

Die aktuellen Kenntnisse über Immunglobuline, ihre Struktur (Schwerketten und Leichtketten, verbunden über Disulfidbrücken) und ihr Verhalten unter physiologischen und pathologischen Bedingungen haben sich durch ihre Analyse im Urin und im Serum von Patienten mit multiplem Myelom oder Morbus Waldenström mit immunologischen, elektrophoretischen und immunelektrophoretischen Methoden (Immunfixation) etabliert. Die Entdeckung, dass leichte Immunglobulinketten in freiem Zustand im Urin (Bence-Jones-Proteine) und im Serum gefunden werden können, wurde dank dieser Techniken möglich. Mit der differenzierten Bestimmung der freien Leichtketten (FLC) im Serum über eine Immunnephelometrie kann gezeigt werden, dass während der Entwicklung proliferativer Erkrankungen der B-Lymphozyten ein Überschuss an Kappa *oder* Lambda (mit verändertem Quotienten) auf eine ungünstige Prognose hinweist, und sie ermöglicht eine Unterscheidung maligner monoklonaler Gammopathien (Myelome, Waldenström) von Gammopathien unklarer Signifikanz.

Bei polyklonalen Gammopathien (Autoimmunerkrankungen, infektiöse Erkrankungen) wird ein Überschuss der FLC Kappa κ *und* Lambda λ beobachtet (Quotient κ/λ stabil), der eine Rolle beim inflammatorischen Prozess spielt. Die Bedeutung ihrer Bestimmung wird diskutiert. Freie Leichtketten können toxisch sein. Entsprechend ihrer Konzentration und ihrer Struktur beschränkt sich die Toxizität auf die Niere oder ist systemisch (Amyloidose).

Methoden

Beim multiplen Myelom, das früher als *Mollietes ossium* [1, 2] bezeichnet wurde, erlaubte der *Erhitzungstest* (Tab. 1) gegen 1850 die Detektion der Bence-Jones-Proteine im Urin, die sich später als *freie Leicht-Immunglobulinketten* (FLC) entpuppten.
Der unverlässliche Erhitzungstest wurde jetzt (150 Jahre später) durch eine *immunchemische Bestimmung* ersetzt. Diese hat den grossen Vorteil, dass sie dank der von Bradwell und Kollegen [3] vorgenommenen Entwicklung von Antiseren mit Antikörpern, die sich ausschliesslich gegen verdeckte Epitope der Leichtketten richten, auch im Serum angewendet werden kann (Abb. 1). Diese Zielstrukturen sind nur zugänglich, solange sich die Leichtketten im freien Zustand befinden (solange sie nicht mit den Schwerketten verbunden sind wie im intakten Immunglobulin). Diese empfindliche Technik (in der Grössenordnung von mg/l) ermöglicht die Untersuchung der Produktion und der renalen Clearance der FLC unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.
Der Auftrennung der Serumproteine in einem Agar in alkalischem Puffer über ein elektrisches Feld *(Elektrophorese)* in Albumin und alpha-, beta-, gamma-Globulin schliesst sich eine *densiometrische Analyse* der verschiedenen Fraktionen an, die ein *Profil* bilden. Dies ermöglicht die Quantifizierung einer Produktion monoklonaler Immunglobuline *(monoklonale Gammopathie)*, die sich als Peak mit schmaler Basis darstellt, der das übliche Profil der Globuline verformt (Abb. 2).

Tabelle 1
Thermische Eigenschaften der Bence-Jones-Proteine.

Bestandteil im Urin	Thermische Behandlung des Urins	
	40 bis 60 °C	Siedepunkt
Albumin	Löslich	*Ausgefällt*
Anormale Proteine (Bence-Jones)	*Ausgefällt*	Löslich

Kombinationstechniken der Elektrophorese und der Immunpräzipitation, von Grabar im Jahr 1953 (Immunelektrophorese) und von Wilson 1964 *(Immunfixierung)* entwickelt, werden zur Untersuchung des Urins und des Serums von Patienten mit Gammopathien angewendet. Bei monoklonalen Gammopathien (Abb. 2) reagiert die Anomalie mit Anti-Kappa- oder Anti-Lambda-Antikörpern.

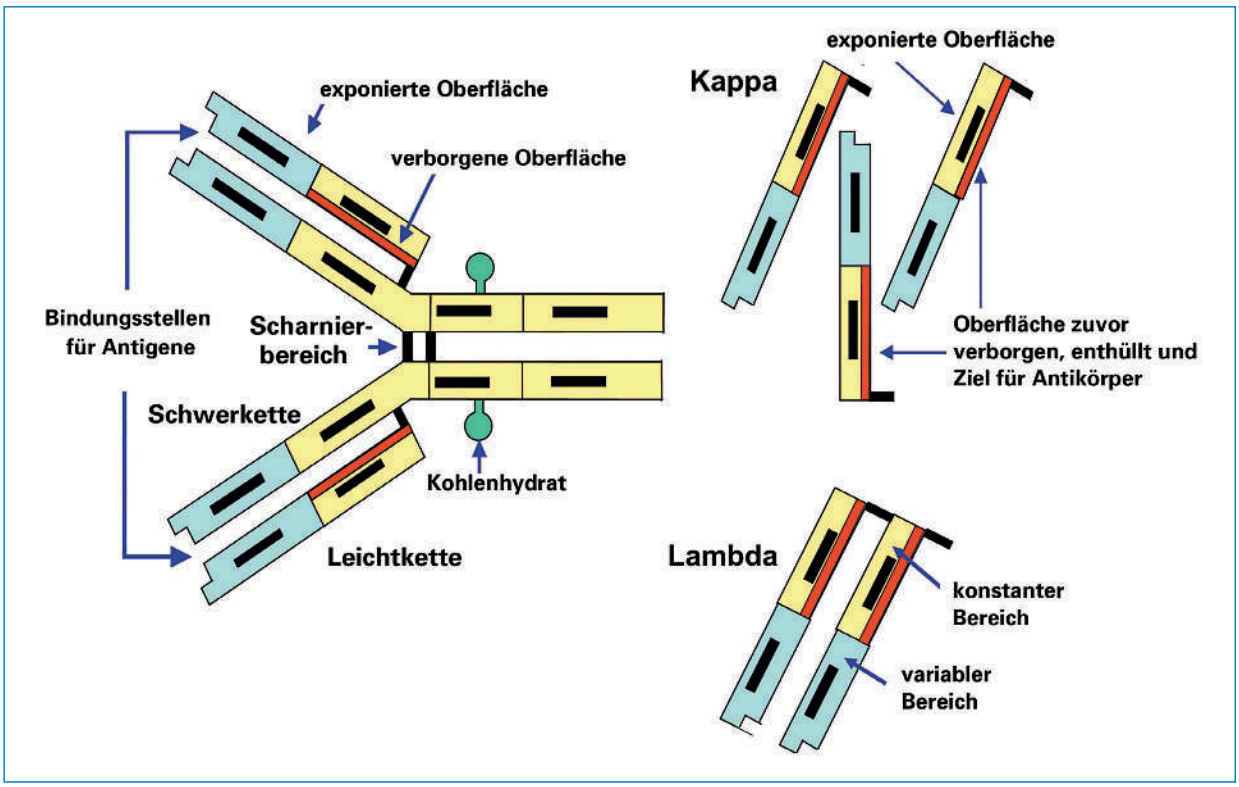

Abbildung 1
Molekulare Struktur eines Immunglobulins.
Struktur eines Immunglobulin-Moleküls mit Schwerketten und Leichtketten. Bei den Leichtketten (κ, λ) sind die antigenen Determinanten, die dem vollständigen Molekül und den freien Leichtketten (FLC) gemeinsam sind, erkennbar sowie die im vollständigen Molekül verborgenen Epitope, die in den FLC exponiert und somit Antikörpern ausgesetzt sind. Nachdruck mit freundlicher Genehmigung von A. R. Bradwell [4].

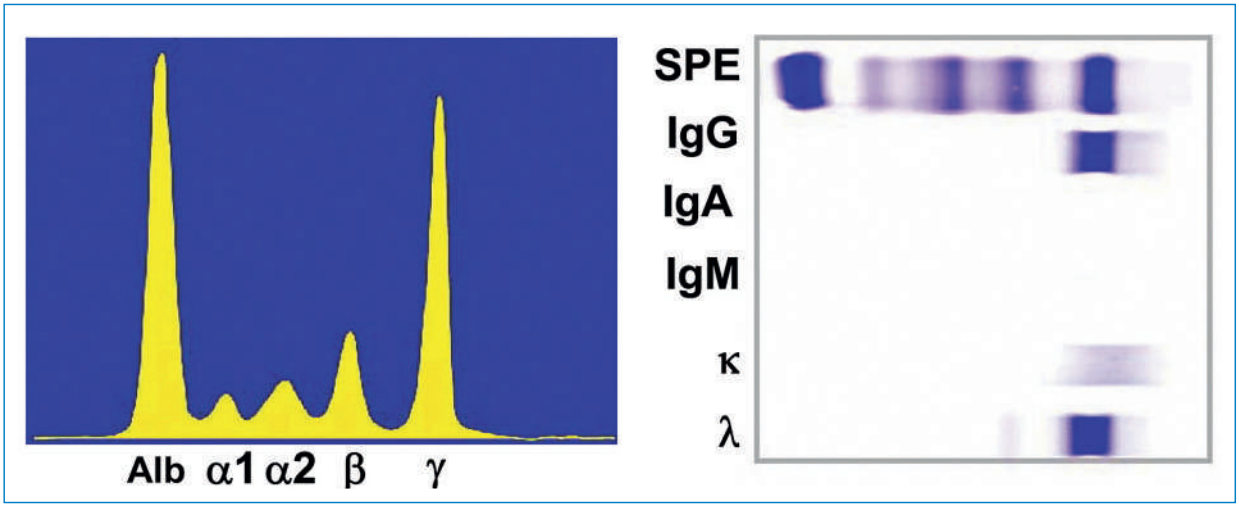

Abbildung 2
Elektrophorese und Immunfixation eines monoklonalen Serumproteins IgG λ.
Links ist die Abbildung eines elektrophoretischen Profils der Serum-Proteinfraktionen von Albumin *(Alb)* und Globulinen (α1, α2, β und γ); ein Peak mit schmaler Basis verändert den Verlauf der Gammaglobuline (γ).
Rechts ist ein gefärbtes Gel abgebildet, auf Basis einer Elektrophorese alleine *(SPE)* oder einer Elektrophorese, gefolgt von einer Immunfixation mit Antikörpern gegen die Schwerketten Gamma *(IgG)*, Alpha *(IgA)*, Mu *(IgM)* und mit Antikörpern gegen die Leichtketten Kappa (κ) und Lambda (λ). Eine Bande des monoklonalem IgG-Lambda (entspricht der elektrophoretischen Anomalie) wird begleitet von einer Spur an monoklonalem Lambda (freie Leichtketten) und einer kleinen Menge an polyklonalem IgG, erkennbar durch die Anti-Leichtketten-Antikörper (κ, λ); IgA und IgM sind nicht erkennbar. Die Abbildung wurde A. R. Bradwell von R. A. Kyle und J. A. Katzmann zur Verfügung gestellt; Nachdruck mit freundlicher Genehmigung von A. R. Bradwell [4].

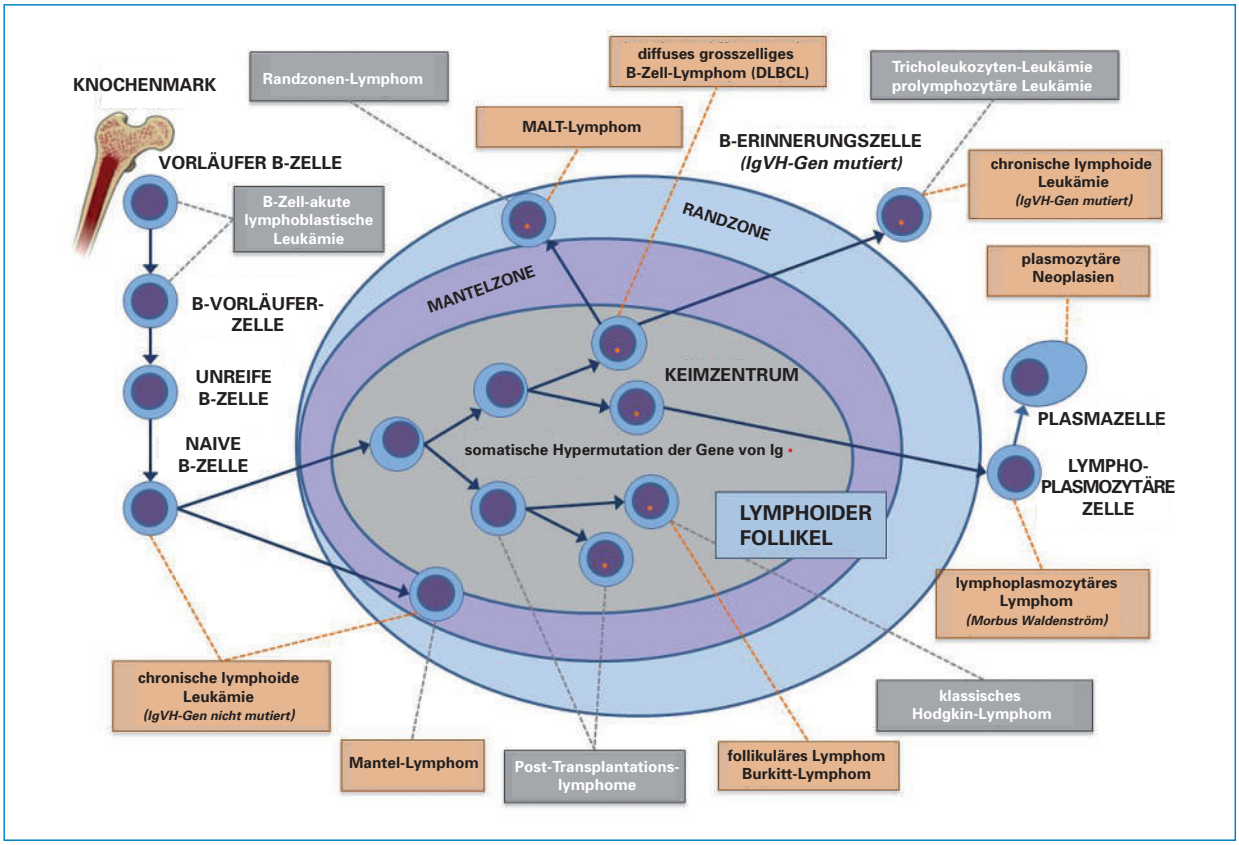

Abbildung 3
Entwicklung der lymphozytären B-Linie und mutmasslicher Ursprung der Neoplasien vom Typ B.
In Rot sind Neoplasie-Typen gekennzeichnet, in denen eine Produktion freier monoklonaler Leichtketten nachgewiesen werden konnte [4].
Ig: Immunglobulin, MALT: Mukosa-assoziiertes lymphoides Gewebe, DLBCL: Diffuses grosszelliges B-Zell-Lymphom. Schema nach Schmidt PM, Cornu P, Angelillo-Scherrer A. Bases physiopathologiques en Hématologie générale, 2011, www.2bib.ch/hemato, Nachdruck mit freundlicher Genehmigung der Autoren.

Normaler und pathologischer Stoffwechsel der freien Leicht-Immunglobulinketten

Es ist gesichert, dass FLC prinzipiell von normalen Plasmazellen, aber auch von anderen Zellen der B-Linie (*Lymphoplasmozytäre Zellen*, naive Lymphozyten, aktivierte Lymphozyten und Erinnerungszellen) sekretiert werden. *Diese Zellen* (Abb. 3 📷) synthetisieren einen Überschuss an Leichtketten im Verhältnis zu Schwerketten; sie exprimieren diese auf ihrer Oberfläche, oder sie sekretieren vollständige Immunglobuline (Leichtketten und Schwerketten verbunden durch S-S-Brücken) und kleine Mengen an FLC [4].
FLC mit einem Molekulargewicht von 25 bis 50 kDa werden, wenn sie monomer (meist kappa) oder dimer (meist lambda) vorliegen, vom Glomerulum gleichzeitig mit Albumin und Proteinen mit ähnlichen Molekulargewichten filtriert. Im proximalen Tubulus werden diese Proteine durch den Megalin-Cubilin-Komplex erkannt (Rezeptoren auf der Oberfläche von Epithelzellen), internalisiert und anschliessend abgebaut (Abb. 4 📷). Aus diesem Mechanismus der renalen Clearance resultiert eine sehr kurze Serum-Halbwertszeit der FLC (2 bis 6 Stunden), die sich von den langen Serum-Halbwertszeiten der IgM, IgA und IgG3 von 5 bis 6 Tagen (sie werden durch Pinozytose in allen eukaryotischen Zellen eliminiert) oder sogar von 20 bis 21 Tagen bei IgG1, IgG2 und IgG4 (teilweise recycelt nach Internalisierung des Brambell-Rezeptors in den Endothelialzellen) unterscheidet. Spuren an Leichtketten im normalen Urin stammen nicht aus der glomerulären Filtration, sondern wahrscheinlich aus einer tubulären distalen und eventuell einer urethralen Sekretion [4].

Warum werden die freien Leichtketten eher im Serum als im Urin bestimmt?

Wie oben erwähnt, wurden die FLC im Urin von Patienten mit Myelom entdeckt, wo sie die Bence-Jones-Proteine bildeten. Ihre systematische Erforschung im Urin wurde zur Einschätzung der Schwere des multiplen Myeloms empfohlen. Ihre Konzentration wurde über die Höhe des monoklonalen Peaks bei der Elektrophorese der Urinproteine ermittelt. Derzeit ist auch eine immunnephelometrische Bestimmung im Urin möglich. Allerdings ersetzt die Bestimmung im Serum zur Ersteinschätzung einer monoklonalen Gammopathie im Hinblick auf die Ergebnisinterpretation vorteilhaft die Bestimmung im Urin. Denn (a) tritt eine selektive Läsion des proximalen renalen Tubulus bei einem Individuum auf, das normale Mengen an FLC synthetisiert, können diese im Urin erhöht sein (durch mangelnden Abbau) und normal im Serum; (b) erfolgt eine mässige Stimulierung der Produktion bei intakter Nierenfunktion, kann die Konzentration im Urin normal sein und im Serum erhöht; (c) ist die Synthese stark erhöht (z.B. bei sich verschlechterndem Myelom) und die glomeruläre Filtration

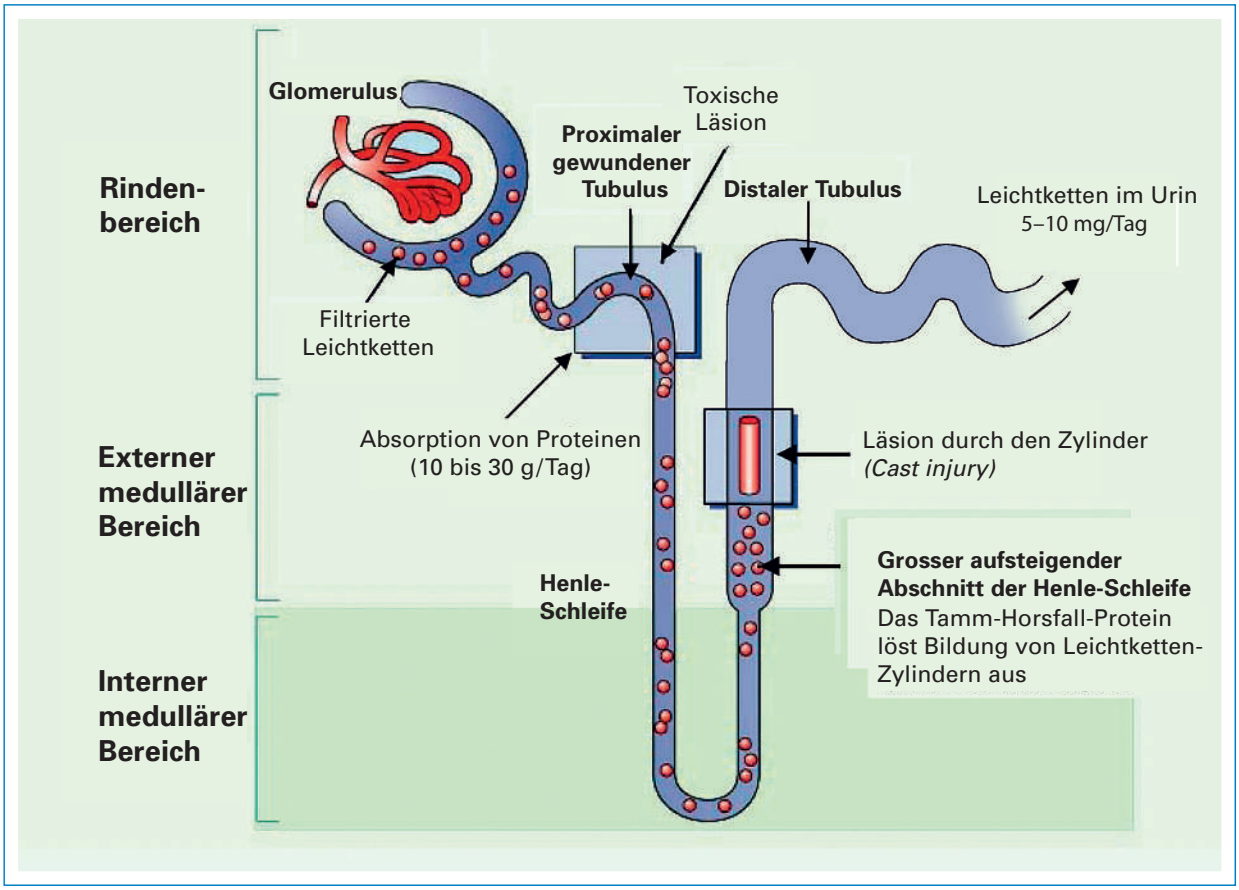

Abbildung 4
Nephron bei der Filtration, Metabolismus und Ausscheidung freier Leichtketten (FLC).
Gleichzeitig mit Proteinen ähnlichen Molekulargewichts werden die Leichtketten vom Glomerulum gefiltert, vollständig absorbiert und durch den gewundenen proximalen Tubulus verstoffwechselt, der jeden Tag 10 bis 30 g an Proteinen mit vergleichbarem Molekulargewicht absorbiert. Die Leichtketten im Urin, deren tägliche abgesonderte Menge 5 bis 10 mg beträgt, stammen wahrscheinlich aus distal tubulärer oder urethraler Sekretion.
Eine toxische Läsion des proximalen Tubulus hemmt die Absorption und die Metabolisierung der FLC. Eine überschüssige Produktion an FLC kann zur Bildung von Komplexen mit Tamm-Horsfall-Proteinen (Zylinder) im aufsteigenden Ast der Henle-Schleife führen, die eine Läsion des Nephrons mit sich bringen (Läsion durch den Zylinder).
Abbildung nach Johnson RJ, Feehally J, eds. Comprehensive Clinical Nephrology. 2nd Edition Chapt 17. © Mosby 2003. Nachdruck mit Genehmigung von Elsevier. Die Beschriftung wurde angepasst.

vermindert, ist die Erhöhung der FLC im Serum erkennbar, im Urin jedoch nicht.
Die Konzentration der FLC im Serum steht in direktem Zusammenhang zur Produktion, sofern die renale Clearance normal ist. Derzeit wird zum Nachweis einer Stimulierung der B-Lymphozyten, zur Einschätzung des Schweregrads einer monoklonalen Gammopathie und zur Überwachung des Verlaufs einer proliferativen Erkrankung unter der Behandlung *ausschliesslich die Bestimmung im Serum empfohlen*.

Überproduktion an freien Leichtketten

Die Überproduktion der FLC resultiert aus einer Stimulierung der B-Lymphozyten. Eine *polyklonale* Stimulierung *(Verhältnis Kappa/Lambda bleibt unverändert)* der Plasmazellen (IgG und IgA) oder der lymphoplasmozytären Zellen (IgM) zeigt sich bei Autoimmunerkrankungen (Lupus erythematodes, Sjögren-Syndrom, rheumatoide Arthritis) oder Infektionen (Pneumonie, chronische Hepatitis C). Eine *monoklonale* Stimulierung *(Verhältnis Kappa/Lambda ist verändert)* beobachtet man bei proliferativen Tumoren der Lymphozyten der B-Linie (Abb. 3) wie z.B. Plasmozyten (multiples oder solitäres Myelom, Plasmazellenleukämie) und lymphoplasmozytären Zellen (Morbus Waldenström) und sogar bei B-Lymphozyten im Stadium vor der Differenzierung (Mantel-Lymphom oder follikuläres Lymphom, chronische lymphatische Leukämie, Burkitt-Lymphom). Manche Gammopathien mit einer Überproduktion an freien Leichtketten verursachen eine systemische Amyloidose, oder sie treten in Verbindung mit dem *POEMS-Syndrom auf (Polyneuropathie, Organomegalie, Endokrinopathie, Monoklonale Gammopathie, Hautveränderungen)*. Unter diesen verschiedenen Bedingungen kann eine Erhöhung der FLC-Konzentration im Serum beobachtet werden.

Toxizität der FLC

Eine hinlänglich erhöhte Serumkonzentration an FLC (wie z.B. beim Myelom), egal welcher Struktur, hat eine *Veränderung der renalen Funktion* zur Folge: Die in grossen Mengen filtrierten FLC übersättigen das Megalin-Cubilin-System des proximalen Tubulus-Epitheliums; die nicht absorbierten FLC finden sich teilweise im Urin und teilweise im distalen Tubulus unter Bildung von Zylin-

dern (Komplexe mit Tamm-Horsfall-Protein), die den Tod des Nephrons verursachen. Die verbleibenden Nephrone, in denen eine Hyperfiltration der überschüssigen freien Leichtketten in das Blut stattfindet, werden auf diesem Weg geschädigt. Dies resultiert in einer progressiven Niereninsuffizienz mit Akkumulation der FLC im Blut und verringerter Ausscheidung im Urin (Abb. 4).
Bei bestimmten monoklonalen Gammopathien ist die Toxizität systemisch, denn die beteiligten FLC haben eine spezielle molekulare Konfiguration, die ihnen die Fähigkeit zur Autoaggregation zu Fasern verleiht (zusammengesetzt aus 3 bis 6 Fibrillen), die man Amyloide nennt; diese Fasern setzen sich mit anderen Bestandteilen ausserhalb der Zellen ab, wobei sie die Zerstörung von Geweben verursachen und eine Barriere bilden, die den metabolischen Austausch zwischen dem Zellinneren und dem Zelläusseren verhindert. Die Diagnose basiert auf einer rektalen Biopsie mit Anfärbung der Amyloid-Depots durch Kongorot und auf einer Bestimmung der FLC im Serum. Bei dieser Erkrankung, die als *amyloide AL* bezeichnet wird, ist die Toxizität der freien Leichtketten *systemisch*, indem sie in erster Linie die Funktion des Herzens und der Nieren verändert. Amyloid-Depots finden sich aber auch im Darm, in der Haut, in den Nerven usw. Nur ein geringer Anteil der freien Leichtketten (2–10%) mit Prädominanz der λ-Fragmente (85% der Fälle) ist amyloidogen [5, 6].

Klinischer Nutzen der Leichtketten-Bestimmung

Seit der Entwicklung der Bestimmung der FLC im Serum hat die Anzahl der Studien, in denen dieser neue Parameter untersucht wird, exponentiell zugenommen. Bei monoklonalen Gammopathien (plasmozytäres Myelom, Morbus Waldenström, Amyolidose) ist die Messung der FLC und des κ/λ-Quotienten integraler Bestandteil einer Erstabschätzung *(Untersuchung der klonalen Proliferation und anschliessend der Risikofaktoren für die klinische Aggressivität)* und der Überwachung vor oder nach der Therapie geworden. Zur Interpretation der Ergebnisse ist es wichtig, die Nierenfunktion zu bestimmen (siehe oben).

Tabelle 2
Nutzen der Bestimmung der FLC zur Ersteinschätzung einer monoklonalen Gammopathie von IgG oder IgA.

Pathologie	Medulläre Plasmazytose	Klinische Zeichen	Maximum der monoklonalen Produktion (g/l)	Leichtketten im Serum	
				κ oder λ (mg/l)	κ/λ-Quotient
MGUS (IgG, IgA)	<10%	Ø	30	<30	Normal (0,2–1,65) oder leicht verändert (0,13–0,26; 1,65–3)
Indolentes Myelom	≥10%	Ø	≥30	>30	0,06–0,26; 1,65–6,6
Symptomatisches Myelom	>10%	+ bis +++ (Knochen, Nieren, Hb usw.)	>30	>30	<0,06; >6,6

Bei bestimmten polyklonalen Gammopathien (Autoimmunerkrankungen und Infektionen) erweisen sich FCL-Bestimmungen sowohl für die Überwachung der Therapie als auch für die Erkennung monoklonaler Komplikationen von Nutzen.

Monoklonale Gammopathien von IgG oder IgA

Zusätzlich zur klinischen und biologischen Evaluierung (Kalzium, Kreatininämie, Hämoglobin, Untersuchung lytischer Knochenläsionen, Untersuchung des hämatopoetischen Marks, Quantifizierung der monoklonalen Produktion durch Integration eines elektrophoretischen Peaks) ist die die Bestimmung der FLC im Serum ein wichtiges Element zur Erstuntersuchung der verschiedenen Gammopathieformen (Tab. 2) sowie zur Überwachung der Therapie *(Monitoring)* und zur Erkennung potentieller Rezidive.
MGUS *(Monoklonale Gammopathien unklarer Signifikanz)* sind mit einer gering ausgeprägten und langsam fortschreitenden medullären Plasmozytose verbunden, deren Inzidenz mit dem Alter zunimmt (3 bis 5% der Bevölkerung über 70 Jahre); eine Entwicklung zu einem Myelom ist möglich; die Klasse des monoklonalen Immunglobulins (IgA ist aggressiver als IgG), die Menge der produzierten monoklonalen Immunglobuline (30 g/l stellen einen Wert dar, ab dem das Risiko zunimmt) und schliesslich die Konzentration der FLC gelten als Risikofaktoren. Steigt Letztere hinreichend an, um den κ/λ-Quotienten zu verändern (Tab. 2), nimmt das Risiko zu, und die klinischen und biologischen Kontrollen (Elektrophorese und Bestimmung der FLC) sollten intensiviert werden. Bleibt das Verhältnis κ/λ dagegen im Normbereich, ist die Prognose gut, und die Kontrollen (Elektrophorese und Bestimmung der FLC) können in grösseren Abständen erfolgen.
Bei *indolenten Myelomen*, die durch eine medulläre Plasmozytose und eine bedeutendere monoklonale Produktion als bei MGUS ohne offensichtliche organische Zeichen gekennzeichnet sind, ermöglicht die Verschlechterung des κ/λ-Quotienten (meist schon pathologisch zum Zeitpunkt der Diagnose) die frühzeitige Erkennung der Entwicklung zu einem symptomatischen Myelom. Sinkt der κ/λ-Quotient der Serum-FLC bei einem Patienten mit indolentem Myelom unter 0,06 ab oder steigt auf über 6,6 an, nimmt das Risiko einer aggressiven Entwicklung deutlich zu.
Beim *symptomatischen Myelomen* werden in 95% der Fälle monoklonale FLC produziert, meist begleitet von intaktem monoklonalem Immunglobulin. Die Bestimmung der FLC im Serum stellt einen unabhängigen prognostischen Faktor dar [7]. Dem prognostischen *ISS-Score* zufolge ([8] Tab. 3) ist die Entwicklung (definiert durch die Überlebensrate nach 1 Jahr oder 5 Jahren) bei einem bedeutend veränderten Quotienten κ/λ (<0,03 / >32) weniger gut als bei einem mässig veränderten Quotienten (0,03–0,06; 1,65–6,6).

Zusammenfassend erlaubt die Bestimmung des κ/λ-Quotienten bei monoklonalen Gammopathien von IgG und IgAa die Evaluierung der klinischen Aggressivität der monoklonalen Gammopathie und ist Bestandteil einer Ersteinschätzung, die die nachfolgende Behandlung bestimmt.

Tabelle 3
Überlebensraten bei symptomatischem Myelom entsprechend der Kombination des ISS-Scores und des κ/λ Quotienten der FLC im Serum.

International Staging System (ISS)	β_2-Mikroglobulin im Serum	Albumin im Serum	FLC			
			κ/λ-Quotient 0,03–0,06 oder 1,65–6,6		κ/λ-Quotient <0,03 – >32	
Stadium	(mg/l)	(g/l)	Nach 1 Jahr (%)	Nach 5 Jahren (%)	Nach 1 Jahr (%)	Nach 5 Jahren (%)
I	<3,5	≥35	87,6	41,5	88,9	29,8
II	3,5–5,0	≥35	83,2	35,2	77,5	20,5
III	>5,0	<35	67,6	24,4	62,5	15,3

Die Überwachung von Myelomen während der Behandlung wird mit der Bestimmung der FLC im Serum erleichtert: Angesichts ihrer kurzen Eliminationshalbwertszeit (2 bis 6 Stunden) kann eine Verminderung der FLC im Serum in den Tagen nach Behandlungsbeginn beobachtet werden. Wenn sich umgekehrt die FLC nicht verringern, kann eine rasche Änderung der Behandlung in Betracht gezogen werden. Dies ist ein deutlicher Vorteil des κ/λ-Quotienten gegenüber der Quantifizierung über den elektrophoretischen Peak, der eine ungefähre Messung der Konzentration eines monoklonalen IgA oder IgG darstellt, bei denen sich die Halbwertszeiten zwischen 5 und 21 Tagen bewegen.
Eine Normalisierung des κ/λ-Quotienten während der Behandlung ermöglicht die Definition des Begriffs der «strikten» kompletten Remission, der einen besseren Krankheitszustand darstellt als eine habituelle Komplettremission, die auf dem Verschwinden der monoklonalen Immunglobuline (Paraprotein) und der plasmozytären medullären Infiltration basiert [9].
Bei einer Remission ermöglichen regelmässige Kontrollen der Gesamt-FLC und des κ/λ-Quotienten, ein Rezidiv *frühzeitig zu erkennen* und erneut eine Behandlung durchzuführen.

Monoklonale Leichtketten-Gammopathien

Bei diesen Erkrankungen werden nur freie Leichtketten produziert (monoklonale). Die Existenz der Leichtketten-MGUS wurde von Dispenzieri et al. [10] bei einer kaukasischen amerikanischen Bevölkerungspopulation ab 50 Jahren gut dokumentiert. Diese neue klinische Entität, deren Prävalenz etwas unter 1% liegt, ist definiert durch (a) eine Erhöhung der Konzentration an FLC (λ oder κ) und (b) einen gestörten κ/λ-Quotienten, (c) eine fehlende Expression einer monoklonalen Schwerkette und d) durch Fehlen klinischer Zeichen eines Myeloms. Dabei muss festgehalten werden, dass etwa 20% der Leichtketten-MGUS eine Nierenschädigung hervorrufen. Das Risiko der Entwicklung eines Myeloms (0,3% pro Jahr) ist bei MGUS von IgG oder IgA noch gering. Nichtsdestotrotz werden weitere Untersuchungen zum Ausschluss eines Myeloms oder einer Amyloidose empfohlen, wenn andere Zeichen wie eine Anämie, Hyperkalzämie oder Niereninsuffizienz damit verbunden sind. Die Bestimmung der FLC ist vor allem zur Diagnose und zur Überwachung von Patienten mit einem *Leichtketten-Myelom* geeignet.
Eine Produktion freier monoklonaler Leichtketten ist bei der Mehrzahl der Fälle der *«nicht sekretierenden» Myelome* evident, bei denen keine Produktion intakter monoklonaler Immunglobuline nachgewiesen werden kann [11]. Die Bestimmung der FLC ermöglicht die Überwachung der Tumorentwicklung.
Die Serumkonzentration der FLC, die für eine *Amyloidose* verantwortlich sind, hängt ab von (a) der von den klonalen Plasmazellen produzierten Menge, (b) der Nierenfunktion, (c) der Gewebeaffinität zur amyloidogenen Leichtkette. In 95 bis 97% der Fälle sind die FLC im Serum erhöht (zwischen 30 und 500 mg/l). Ein Nachweis der FLC im Urin (mit Immunfixation) ist nicht angebracht, ausser eine Amyloidose wird klinisch vermutet bei normaler Serumkonzentration der FLC (Bradwell, persönliche Kommunikation). Im Rahmen dieser Erkrankung ist die Bestimmung der FLC gerechtfertigt, und eine Verminderung der Werte oder eine Rückkehr zum Normalen stellt ein wichtiges Element der Überwachung der Behandlung dar [4].

Andere monoklonale Gammopathien

Bei monoklonalen Gammopathien vom IgM kann eine Überproduktion an Kappa- oder Lambda-FLC im Serum nachgewiesen werden. Die Konzentration der tumoralen FLC korreliert mit dem Ausmass der Aggressivität der Gammopathie. So haben Leu et al. [12] einen Grenzwert von 60 mg/l bestimmt, der 95% der MGUS vom IgM entspricht. Bei Patienten mit Morbus Waldenström weist die Gruppe, die wenig FLC produziert (<60 mg/l), im Durchschnitt geringere klinische und biologische Veränderungen auf als die Gruppe, die viel FCL (>60 mg/l) produziert. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Bestimmung der FLC ein nützlicher Bestandteil der Ersteinschätzung von IgM-Gammopathien ist. Darüber hinaus geht aus der neuen Studie von Leu et al. (2011) hervor, dass die Bestimmung der FLC zur frühzeitigen Evaluierung der Behandlungswirksamkeit bei Patienten mit Morbus Waldenström von Bedeutung ist [13].
Bei einer speziellen Form eines Myeloms, das als osteosklerotisches Myelom *(POEMS-Syndrom)* bezeichnet wird, hat eine Studie mit 50 Patienten gezeigt, dass die Lambda-FLC bei 90% aller Fälle erhöht waren, der κ/λ-Quotient jedoch kaum verändert war, trotz des monoklonalen Charakters von Lambda des intakten Immunglobulins bei der Immunfixation im Serum [14].
Bei *Schwerketten-Erkrankungen*, sehr seltenen Erkrankungen, werden definitionsgemäss nur monoklonale Schwerketten und keine monoklonalen Leichtketten produziert, es sei denn, es bestehe eine Koexistenz beider Gammopathien, wie in einem Fall beschrieben wurde, bei dem eine Schwerkettenerkrankung (IgG3) und eine überschüssige Produktion monoklonaler FLC vorlagen [15].
Bei 10 bis 20% der *Non-Hodgkin-B-Lymphome* vom B-Zell-Typ ist eine Anomalie der freien Leichtketten mit prädiktivem Wert nachweisbar [16]. Analoge Beobachtungen wurden bei *chronischen lymphatischen Leukämien vom B-Zell-Typ* gemacht [17].

Ein veränderter κ/λ-Quotient der freien Leichtketten wurde bei einer Form von *Hepatitis C* in Verbindung mit einer Kryoglobulinämie vom Typ II und Vaskulitis (42/59 Fälle) festgestellt, die sich zu einem Non-Hodgkin-Lymphom der B-Zellen entwickelte. Die Bestimmung der FCL wird bei allen Fällen von Hepatitis C zur Erkennung derartiger Eventualitäten empfohlen [18].

Polyklonale Gammopathien

Die FLC-Konzentration liegen bei polyklonalen Gammopathien selten über 100 mg/l (normaler κ/λ-Quotient). Diese Erhöhung resultiert aus einer Stimulierung der B-Lymphozyten, die man bei rheumatischen Erkrankungen autoimmunen Ursprungs und bei bestimmten Infektionen beobachtet. Während unter physiologischen Bedingungen keine Funktion der Leichtketten beschrieben wird, werden in der Literatur bei erhöhten Konzentrationen verschiedene Auswirkungen aufgezeigt [19]:

- Freisetzung von Mediatoren durch Mastozyten;
- Wechselwirkungen mit tubulären renalen Zellen, mesangialen Zellen, B-Lymphozyten;
- Genese einer Entzündung bei Niereninsuffizienz;
- Antiangiogenetische Aktivität, proteolytische Aktivität (Prothrombinase, Komplement-Aktivierung);
- Verbindung mit chemotaktischen Faktoren, Opioiden;
- Entzündungsmediation.

Die Bandbreite dieser Wirkungen findet eine sehr plausible Erklärung in der Diversität der variablen Bereiche der FCL, die a priori aktive Bereiche zahlreicher biologisch aktiver Moleküle imitieren können. Aus dieser Perspektive strebt man die Suche nach Peptiden an, die die biologische Aktivität der FCL bei entzündlichen Erkrankungen blockieren [19].

Rheumatische Autoimmunerkrankungen

Bei *Lupus erythematodes* wurde die Erhöhung der Produktion freier leichter Immunglobulinketten (im Urin) seit langer Zeit beobachtet [20]. Dies wurde durch Messungen im Serum bestätigt, und es wurde bei einem Kollektiv von Patienten mit Lupus erythematodes eine ausgezeichnete Korrelation zwischen der Höhe der FLC und der Krankheitsaktivität gezeigt, was diese Bestimmung zum Parameter der Wahl zur Überwachung dieser Erkrankung macht [21].

Beim *primären Sjögren-Syndrom* korreliert die Erhöhung der FCL gut mit der des IgG, des Beta-2-Mikroglobulins und des BAF *(B-Zell-aktivierender Faktor)*. Die Bestimmung der FLC ist auch hier von Bedeutung, denn sie ermöglicht es, Fälle einer Monoklonalität mit Risiko einer Lymphomentwicklung zu erkennen [22].

In einer Studie mit 50 Fällen von *rheumatoider Arthritis* zeigten Gottenberg et al. [23], dass die Erhöhung der FLC mit der CRP und der Aktivität der Erkrankung korreliert (bestimmt durch Kriterien des DAS28).

Infektionskrankheiten

In Bezug auf Infektionskrankheiten, die eine Gammopathie mit FLC-Erhöhung verursachen, wurde eine spezielle Aufmerksamkeit auf das Hepatitis-C-Virus gerichtet, das zusätzlich zur Leberschädigung eine Stimulierung der B-Lymphozyten hervorruft (siehe oben). Bei dieser Erkrankung ist die Bestimmung der FLC zur Beurteilung nach der Behandlung von Nutzen [18].

Diskussion und Schlussfolgerung

Unter physiologischen Bedingungen produzieren Lymphozyten der B-Linie im Serum einen geringfügigen Überschuss an polyklonalen freien Leichtketten. Es scheint, als ob es sich dabei lediglich um fehlerhafte Verbindungen mit Schwerketten handelt, denn während die freien Schwerketten von Plasmazellen abgebaut werden, bleiben die freien Leichtketten erhalten und werden sekretiert. Eine potentielle physiologische Funktion der FLC ist nicht bekannt.

Bei bestimmten polyklonalen Gammopathien ist die Produktion der FLC ohne Störung des κ/λ-Quotienten erhöht. Im Gegensatz dazu ist der Quotient bei monoklonalen Gammopathien verändert, was auf eine monoklonale Produktion freier Leichtketten in Verbindung oder nicht in Verbindung mit intaktem monoklonalem Immunglobulin hinweist. Je stärker der Quotient verändert ist, desto schlechter ist die Prognose. In Übereinstimmung mit dieser Beobachtung zeigten Ayliffe et al. [24] im Knochenmark mit Hilfe der Immunfluoreszenz, wie der Anteil der Plasmazellen, die nur Leichtketten produzieren (und keine Schwerketten), mit der Schwere des Myeloms zunimmt. Zudem weist gemäss den Autoren eine ausschliessliche Produktion freier Leichtketten durch die Plasmazelle auf das letzte Stadium der malignen Entwicklung hin.

Neue Fortschritte in der zytogenetischen Analyse der Lymphozyten der B-Linie im Mark und die Entdeckung von Missbildungen ermöglichen die Einschätzung der Schwere einer monoklonalen Gammopathie [25]. Dennoch liefern diese schwierigen und kostenintensiven Analysen weniger Informationen als die Analyse der FLC. Derzeit wird empfohlen, die Untersuchung der FLC vorzugsweise durch die Bestimmung *im Serum* vorzunehmen (ergänzend mit Immunfixation). Der klinische Nutzen der FLC-Analyse im Urin ist noch ein kontrovers diskutiertes Thema.

Denn, wie weiter oben schon erörtert wurde, das Ergebnis der Bestimmung im Urin kann durch einen tubulären renalen Defekt unter Bedingungen verändert sein, die nicht auf eine monoklonale Gammopathie hinweisen. Umgekehrt muss eine mässige Erhöhung der FLC im Serum mit einem normnahen Quotienten immer im Zusammenhang mit der renalen Clearance eingeschätzt werden. Die Bestimmung der FLC im Urin macht ausser zur Klärung einer zweifelhaften Immunfixation im Urin keinen Sinn.

Die Frage des Nutzens der Immunfixation im Urin zur Erkennung monoklonaler Gammopathien, die bei der Untersuchung im Serum möglicherweise nicht nachgewiesen werden können, wurde sorgfältig untersucht. Im Jahr 2006 führten Katzmann et al. [26] eine Studie mit 428 Patienten durch, die an monoklonalen Gammopathien in Verbindung mit einem Spektrum an proliferativen Dyskrasien vom Zelltyp B litten und deren Urin monoklonale Proteine aufwies. Die Untersuchungs-

ergebnisse der Kombination aus Elektrophorese, Immunfixation und der Bestimmung der FLC im Serum lagen nur bei zwei Patienten im Normbereich. Einer dieser Patienten wies eine MGUS (idiopathische Bence-Jones-Proteinurie), ein anderer eine monoklonale IgA auf, die durch anschliessende Kontrolle des Urins nicht bestätigt wurde. In dieser Studie wurde deutlich, dass eine Anwendung der Immunfixation im Urin zur Erkennung monoklonaler Gammopathien nicht erforderlich ist.

Im Jahr 2009 wurden im selben Labor [27] 1877 Patienten in eine Studie eingeschlossen: Die Zusammensetzung dieses neuen Kollektivs unterschied sich vom vorhergehenden: Die Anzahl der multiplen Myelome war von 35 auf 25% verringert, die MGUS waren von 16 auf 28% erhöht, während die Anteile der primären Amyloidosen (29/31%) und der indolenten Myelome (14/10%) konstant blieben. Im neuen Patientenkollektiv zeigten die Ergebnisse von drei Serumuntersuchungen bei 49 Patienten (2,6% aller Fälle) normale Werte, unter denen sich 15 Fälle einer MGUS befanden (alle erkannt durch Immunfixation im Urin), und 17 Fälle einer Amyloidose, die nur in 6 Fällen durch Immunfixation im Urin diagnostiziert waren. In dieser Studie der Mayo-Klinik, die den Vorteil hatte, dass im selben Kollektiv Patienten aus Allgemeinpraxen und vom Spezialisten (Primärpraxis und Überweisungspraxis) vorhanden waren, stellten die nicht durch Serumtests diagnostizierten MGUS eine Gruppe mit geringem Risiko dar (nur 2% entwickelten ein Myelom in 20 Jahren). Bei den anderen Fällen, die weder durch den Serumtest noch durch den Urintest diagnostiziert wurden, wurden 11 Plasmozytome, davon acht extra-medullär und drei Leichtketten-Depoterkrankungen, gezählt. Die Immunfixation im Urin ist immer eine sekundäre Untersuchung, die nicht erforderlich ist ausser bei seltenen Patienten mit negativen Serumtests, die dennoch klinische Zeichen einer Pathologie in Verbindung mit einer monoklonalen Gammopathie aufweisen. Die Quantifizierung der Immunglobulin-Isotypen oder die der Immunglobuline mit intaktem Kappa und Lambda, die früher zu Beginn und zur Überwachung von monoklonalen Gammopathien durchgeführt wurde, ist generell nicht von Nutzen, weil zum einen die Bestimmung der FLC, die Elektrophorese und die Immunfixation in der Mehrzahl der Fälle es ermöglichen, ein humorales Immundefizit festzustellen, und andererseits die Densitometrie des elektrophoretischen Peaks eine einfachere und effizientere Untersuchung zur Abschätzung der monoklonalen Produktion darstellt.

Abschliessend kann gesagt werden, dass neben ihrer Bedeutung in der Überwachung bestimmter polyklonaler Gammopathien die Hauptindikationen der kürzlich entwickelten Quantifizierung der FLC in einer Blutprobe in der Ersteinschätzung monoklonaler Gammopathien, ihrer therapeutischen Überwachung und der Erkennung von Rezidiven bestehen.

Danksagung

Der Autor dankt Herrn Dr. Pierre Cornu für die aufmerksame Durchsicht des Manuskripts.

Korrespondenz:
Dr. Denis Rivier
Médecin-consultant
Laboratoire Meditest SA
Av. Général-Guisan 30B
CH-1800 Vevey
denis.rivier[at]gmail.com

Literatur

Die vollständige Referenzliste findet sich unter www.medicalforum.ch.