



sene Plasmaosmolarität liegt im Referenzbereich [29]. Bei Verdacht auf Pseudohyponaträmie wird empfohlen, die Analyse mittels direkter ionenselektiver Methode zu wiederholen [18]. Bindungen von M-Proteinen an Assay-Bestandteile sind seltene Ursachen von Interferenzen, analog zu heterophilen Antikörpern [30, 31]. Bindet ein M-Protein an den Analyten, kann dies nebst der analytischen Interferenz auch physiologische Konsequenzen haben. So

verursachte ein Insulin-bindendes M-Protein bei einem Patienten Hypoglykämie durch verzögerte Insulin-Clearance [32].

Mögliche Einflussfaktoren, welche bestimmen ob es zu Interferenzen kommt, sind: Konzentration des M-Proteins, Affinität, Fähigkeit zur Polymerisation sowie Löslichkeit in Abhängigkeit von Temperatur, pH und Ionenstärke.

Zusammenfassend können M-Proteine Analysen im Labor über verschiedene

Mechanismen stören. Das Ringversuchsbeispiel zeigt uns, dass die Interferenzen in Laboratorien mehrheitlich übersehen werden, selbst wenn sie durch begleitende Analysen erkennbar wären.

Korrespondenz:
Christof.Schild@insel.ch

Referenzen

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

Luca Bernasconi¹, Esther Mundwiler¹

Monoklonale Gammopathien

Neue IMWG-Kriterien und Labortests für die Diagnose, Prognose und Verlaufskontrolle des Multiplen Myeloms

Die kürzlich aktualisierten Kriterien für die Diagnose des Multiplen Myeloms erlauben anhand sogenannter Malignitäts-Biomarker «Hochrisiko»-Patienten vor dem Erscheinen der Symptome zu identifizieren und therapieren. Die neuen Richtlinien berücksichtigen labortechnische Fortschritte, insbesondere die Bestimmung der freien Leichtketten und deren Quotient. Neue Labortests liefern zusätzlich prognostisch wertvolle Informationen und sollten für die Verlaufskontrolle in speziellen klinischen Situationen den klassischen Methoden vorgezogen werden.

Neue Diagnosekriterien für das Multiple Myelom

Im 2014 wurden aktualisierte Kriterien für die Diagnose des Multiplen Myeloms (MM) von der International Myeloma Working Group (IMWG) veröffentlicht [1]. Diese machen einen Paradigmenwechsel bezüglich Definition und Management dieser Erkrankung geltend. Die früheren Kriterien (2003) verlangten die Anwesenheit einer Endorganschädigung für die Diagnose des MM; d.h. Patienten mussten eine oder mehrere der sogenannten «CRAB»-Kriterien aufweisen: Hyperkalzämie (Calcium), Niereninsuffizienz (Renal), Anämie (Anemia) und/oder osteolytische Läsionen (Bone). Besonders problematisch bei dieser Voraussetzung war, speziell im Fall des sogenannten «Smouldering» Multiplen Myeloms (SMM), dass die Behandlung der Patienten erst begonnen werden konnte, nachdem der Schaden – oft schwer und potentiell irreversibel – bereits

angerichtet worden war. Dies konnte in einer Ära mit limitierten Behandlungsoptionen und signifikanten Nebenwirkungen akzeptiert werden, jedoch kann dies in Hinsicht auf die neuen, verbesserten Therapien nicht mehr gerechtfertigt werden. Insbesondere nicht, da aktuelle Studien beweisen, dass «Hochrisiko»-SMM-Patienten von einer frühzeitigen Therapie profitieren können [2].

Die neuen IMWG-Kriterien erlauben anhand von Frühindikatoren (sog. Malignitäts-Biomakern) eine Diagnose des MM, bevor die CRAB-Symptome auftreten. Zusätzlich zu den bekannten CRAB-Symptomen schliessen die revidierten IMWG-Kriterien folgende drei Marker als «Myelom-definierende Ereignisse» ein:

1. $\geq 60\%$ klonale Plasmazellen im Knochenmark;
2. ein Verhältnis (involvierter/nicht-involvierter) freier Leichtketten im Serum >100 (vorausgesetzt, dass die Konzentration der involvierten FLC mindestens 100 mg/l beträgt);
3. mehr als eine fokale Knochenläsion im MRT.

Bemerkenswerterweise wurde der Nachweis eines M-Proteins im Serum und/oder Urin in den neuen IMWG-Kriterien nicht mehr aufgenommen. Allerdings stellte dieses Kriterium schon in der früheren Fassung keine «sine qua non»-Bedingung dar, um die Diagnose der sogenannten «nicht-sezernierenden MM» (ca. 3% aller MM-Fälle) zu gewährleisten. Eine Zusammenfassung der neuen diagnostischen Kriterien für das MM befindet sich in Tabelle 1.

Labordiagnostik monoklonaler Gammopathien

Die Einführung der nephelometrischen Quantifizierung der freien Leichtketten (FLC) im Serum vor fast 15 Jahren, zusätzlich zu der gut etablierten Serumprotein- (SPE) und Immunfixationselektrophorese (IFE), hat die Abklärungsstrategien für monoklonale Gammopathien drastisch verändert. In einer Studie der Mayo Clinic aus dem Jahr 2009 untersuchten Katzmann und Kollegen die Sensitivität unterschiedlicher Methodenkombinationen zum Nachweis von monoklonalen Gammopathien [3]. →

¹ Dr. sc. nat. Luca Bernasconi, Esther Mundwiler, Institut für Labormedizin, Kantonsspital Aarau

Sie konnten zeigen, dass mit der Kombination von SPE, IFE und FLC im Serum, mit Ausnahme der AL-Amyloidose, eine 100%ige Sensitivität für proliferative Plasmazellerkrankungen wie MM, SMM und Lymphoplasmazytisches Lymphom erreicht wird und demzufolge auf die aufwendige 24h-Urinsammlung verzichtet werden kann. Eine alternative, vereinfachte Abklärungsstrategie ohne klinisch relevanten Sensitivitätsverlust sieht die Anwendung von SPE und sFLC als «First-line Screening»-Methoden vor, gefolgt von einer IFE nur bei einem pathologischen Ergebnis eines der beiden Tests [4]. Der isolierte Einsatz der SPE als initialer Screeningtest ist heutzutage obsolet, da sie eine ungenügende Sensitivität aufweist. Tiefkonzentrierte monoklonale Komponenten (z.B. monoklonale freie Leichtketten) mit gleichen elektrophoretischen Eigenschaften wie andere Serumproteine werden von diesen maskiert und

entgehen der Detektion mittels SPE. Entscheidend für die Auswahl des bestmöglichen analytischen Abklärungsprozesses ist der Informationsaustausch zwischen Arzt und Labor, da die Kenntnis der klinischen Indikation (z.B. Screening bei Verdacht auf MM oder AL-Amyloidose, Verlaufskontrolle einer bekannten monoklonalen Gammopathie) eine zentrale Rolle für die optimale Methodenauswahl im Labor spielt.

Bestimmung der freien Leichtketten im Serum

Als diagnostische Parameter

Heutzutage gilt ein stark abnormer FLC-Kappa/Lambda-Quotient als Surrogatmarker für die Sekretion von monoklonalen freien Leichtketten. Der FLC-Kappa/Lambda-Quotient wird häufig vor der Sättigung der tubulären Reabsorption der freien Leichtketten abnorm, d.h. vor dem Erscheinen der monoklonalen freien Leichtketten

im Urin. Als Folge wurde in den aktuellen Empfehlungen der IMWG die Bestimmung der freien Leichtketten in Kombination mit der SPE und IFE im Serum bei der initialen Abklärung einer monoklonalen Gammopathie aufgenommen [5]. Zudem – wie schon erwähnt – wurde die Bestimmung der freien Leichtketten in neuen internationalen und schweizerischen Kriterien zur Definition des MM integriert [1,6].

Als prognostischer Risikomarker

Die prognostische Aussagekraft des FLC-Quotienten beim MM, SMM und MGUS wurde durch verschiedene Studien belegt. Anhand einer multivariaten Analyse zeigten Kyrtsonis und Kollegen, dass abnorme FLC-Quotienten bei der Erstdiagnose eines MM prognostische Informationen liefern und stark mit dem Überleben des Patienten korrelieren [7]. Insbesondere beim SMM identifiziert ein stark abnormer FLC-Quotient (involvierte/nicht-involvierte FLC ≥ 100)

Ihr Partner für die spezielle Proteindiagnostik

Freelite®

Der Goldstandard zur Bestimmung der Freien Leichtketten im Serum

Wichtiger Biomarker für die Diagnose, Prognose und Verlaufskontrolle von Monoklonalen Gammopathien

Hevylite®

Separate Bestimmung von IgG κ /IgG λ • IgA κ /IgA λ • IgM κ /IgM λ

Standardisierte und reproduzierbare Quantifizierung von monoklonalen Immunglobulinen

Unterstützt die Früherkennung eines Rezidivs und die Identifikation einer minimalen Resterkrankung



Leistungsstark und kompakt

Der ideale Analyser für die Bestimmung von **Freelite** und **Hevylite**

- Effizient
- Zuverlässig
- Bedienerfreundlich

Plus

ein umfassendes Assay-Menü für die spezielle Proteindiagnostik

Die optimale Kombination für die Beurteilung Monoklonaler Gammopathien

The Binding Site GmbH

Robert-Bosch-Straße 2A
D-68723 Schwetzingen

Deutschland

Tel.: +49 (0) 6202 92 62-0
E-Mail: office@bindingsite.de

Schweiz:

Tel.: +41 (0) 840 827001
E-Mail: office@bindingsite.ch





«Hochrisiko»-Patienten, bei denen eine Progression zu einem symptomatischen MM mit grosser Wahrscheinlichkeit unmittelbar bevorsteht [8]. In einer früheren Studie der Mayo Clinic wurde aus einer grossen MGUS-Kohorte das Progressionsrisiko zum MM anhand des FLC-Quotienten beurteilt. Dieses war bei Patienten mit einem abnormen FLC-Quotienten signifikant höher (17% auf 10 Jahre) als bei denen mit einem FLC-Quotienten im Normbereich (5% auf 10 Jahre) und unabhängig von Konzentration und Typ des M-Proteins [9]. Eine Strategie für die Risikostratifizierung anhand dieser drei Faktoren (FLC-Quotient, M-Protein-Konzentration und -Typ) ermöglicht die Frequenz der Nachuntersuchungen abhängig von der Risikoeinstufung zu gestalten (Tabelle 2) [10]. Nicht zuletzt ist bei der Beurteilung des Therapieerfolgs eine Normalisierung des FLC-Quotienten für die Definition einer «stringent complete response» notwendig.

Als Parameter für die Verlaufskontrolle

Dank ihrer kurzen Halbwertszeit (2–6 Stunden) kann die Bestimmung der FLC als zeitnahe Indikator für das Therapieansprechen eingesetzt werden. Grundsätzlich sollte für die Quantifizierung der monoklonalen Komponente bei der Verlaufskontrolle eines Leichtketten-/oligosekretorischen MM der FLC-Assay anderen quantitativen Verfahren vorgezogen werden. Ausserdem wird auch bei Patienten mit intakten, quantifizierbaren, monoklonalen Immunglobulinen eine zusätzliche, engmaschige Verlaufskontrolle mittels FLC zur Erkennung einer sogenannten «Light Chain Escape» (isolierter monoklonaler FLC-Anstieg beim Rezidiv) empfohlen [11].

Der Hevylite-Assay

Ein neuer automatisierter Immunoassay (Hevylite, The Binding Site, UK) ermöglicht die quantitative Bestimmung leichtkettenspezifischer Immun-

Gammopathies monoclonales

Nouveaux critères du International Myeloma Working Group (IMWG) et tests de laboratoire pour le diagnostic, le pronostic et le contrôle de l'évolution du myélome multiple

Les critères récemment actualisés pour le diagnostic du myélome multiple permettent d'identifier et de traiter les patients à haut risque avant l'apparition des symptômes en utilisant des biomarqueurs de malignité. Les nouvelles recommandations tiennent compte des progrès des techniques de laboratoire, intégrant notamment la détermination des chaînes légères libres et de leur quotient. Les nouveaux tests de laboratoire fournissent en outre de précieuses informations pronostiques et devraient être privilégiés par rapport aux méthodes classiques pour le contrôle de l'évolution des situations cliniques particulières.

globuline (IgG-/A-/M-Kappa; IgG-/A-/M-Lambda). Die Moleküle werden, ähnlich wie bei der Bestimmung der freien Leichtketten, paarweise (z.B. IgG-Kappa/IgG-Lambda) errechnet. Dieser Test hat – im Vergleich zu den gewöhnlichen Quantifizierungsmethoden von monoklonalen Komponenten – den Vorteil, weniger laboraufwendig zu sein und gleichzeitig eine Aussage bezüglich Klonalität, Konzentration und Immunsuppression zu liefern. Des Weiteren weist Hevylite massgebliche Vorteile für die Verlaufskontrolle monoklonaler Komponenten auf, welche mittels herkömmlicher Methoden schwierig zu quantifizieren sind (z.B. monoklonale IgA-Komponenten, die in der Beta-Fraktion ko-migrieren). Schliesslich ermöglicht der Quotient des involvierten/nicht-involvierten Immunglobulintyps prognostische Aussagen. Bei MM-Patienten z.B. ist eine pathologische Ratio mit der Verringerung des progressionsfreien Überlebens verbunden [12]. Eine weitere Studie zeigte, dass die Suppression des isotypspezifischen, nicht-involvierten Immunglobulins (die sogenannte Pair-Suppression) bei der MGUS prognostisch für die Entwicklung zum MM ist [13]. Offizielle Empfehlungen bezüglich des Einsatzes dieser neuen Methode sollten demnächst erscheinen.

Korrespondenz:
Luca.Bernasconi@ksa.ch

Referenzen

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

Klonale* BMPC ≥ 10% und mindestens eine der folgenden Myelom-definierenden Ereignisse:	
CRABs	Hyperkalzämie (Calcium) – Ca > 0,25 mmol/l über ONW – Ca > 2,75 mmol/l
	Niereninsuffizienz (Renal) – GFR < 40 ml/min – Serum Creatinin > 177 mmol/l
	Anämie (Anemia) – Hb > 20 g/l unter UNW – Hb < 100 g/l
	Knochenläsionen (Bone) – ≥ 1 osteolytische Läsionen
Malignitäts-Biomarker	– Klonale BMPC ≥ 60% – FLC-Quotient ≥ 100** – > 1 fokale Läsionen im MRI

Tabelle 1: Diagnosekriterien Multiples Myelom

*Klonalität anhand κ/λ-Leichtkettenrestriktion mittels Durchflusszytometrie, Immunohistochemie oder Immunofluoreszenz. **Dieser Cutoff wurde mittels Freelite Assay ermittelt (TBS, Birmingham, UK). ONW, UNW: oberer, unterer Normwert.

Risikofaktoren:		1. abnormer FLC-κ/λ-Quotient 2. Serum M-Protein > 15 g/l 3. kein IgG-Typ	
Risiko	Anzahl Risikofaktoren	Progressionsrisiko nach 20 Jahren*	Empfohlene Verlaufskontrolle
Niedrig	0	2%	nach 6 Monaten, dann alle 2–3 Jahre oder bei Progression
Niedrig – mittel	1	10%	nach 6 Monaten, dann jährlich
Mittel – hoch	2	18%	
Hoch	3	27%	

Tabelle 2: MGUS Risikoeinstufung

*unter Berücksichtigung der durchschnittlichen Lebenserwartung.