

Paraproteiny (M-proteiny)

„para-“ abnormální krevní bílkovina

Paraproteiny (M-proteiny)

„para-“ abnormální krevní bílkovina

- krevní bílkovina charakteru **imunoglobulinu** či jeho částí,
- z klonu lymfoidně-plasmatických buněk bez zřetelné protilátkové funkce
- **IgG, IgA, IgM**, vzácně jiné typy, popř. o jejich fragmenty (**lehké či těžké řetězce**)
- **myelom** a u některých dalších krevních chorob (např. Waldenströmově makroglobulinemii).
- při elektroforéze krevních bílkovin se p. jeví jako M komponenta (srov. **monoklonální gamapatie**).
- důsledkem značného zmnožení p. může být např. porucha průtoku krve tkáněmi (**hyperviskózní syndrom**) nebo poškození ledviny (**Bence-Jonesova bílkovina**)

Diagnostika

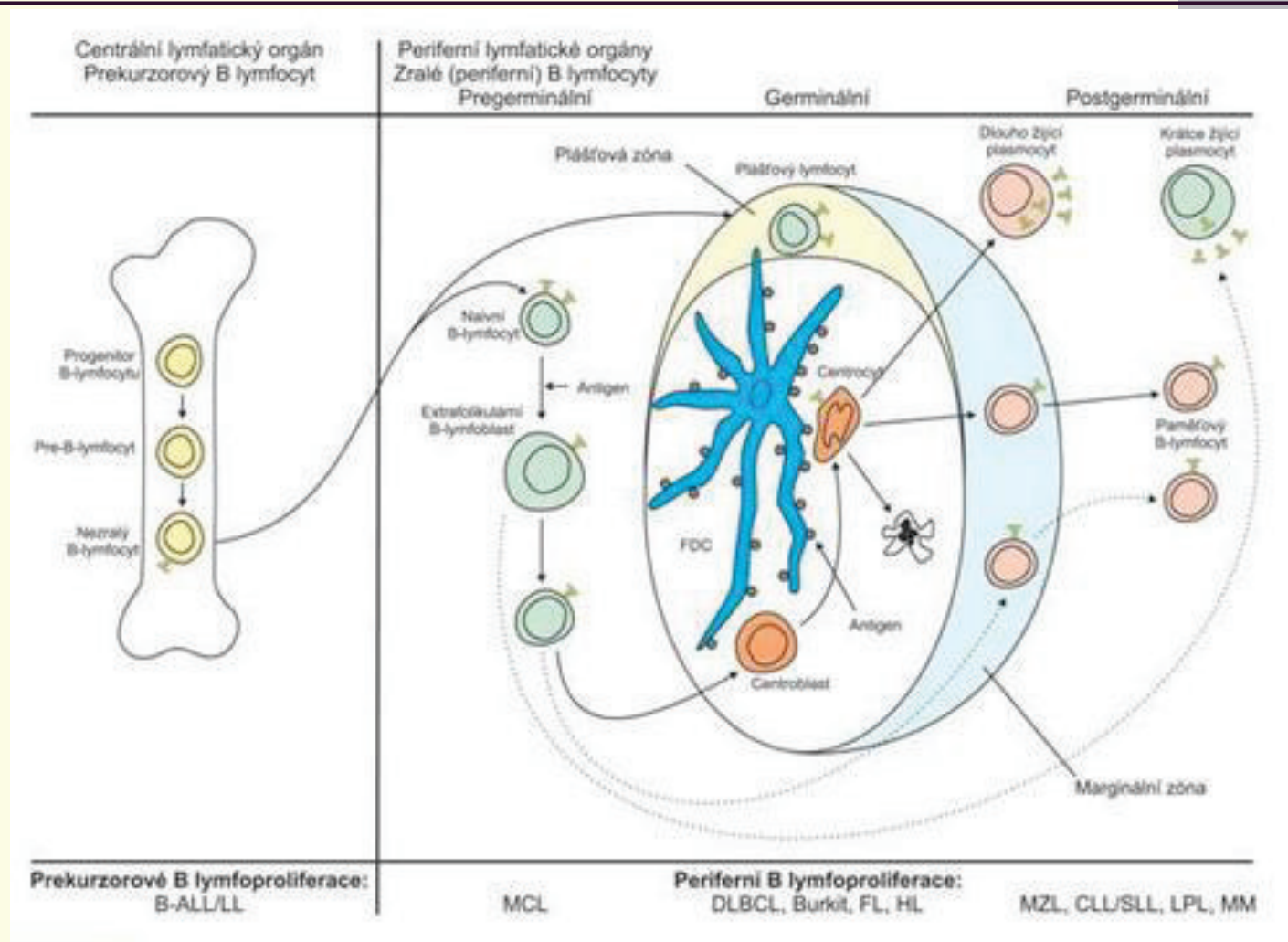
- **Monoklonální řetězce imunoglobulinů (paraproteiny)**
- **IMUNOFIXACE (Imunelektroforéza)**
- **mnohočetný myelomem,**
- **chronická lymfatická leukemie,**
- **lymfomy**

- **v séru, ale i v moči.**

Nádorová lymfoproliferativní onemocnění

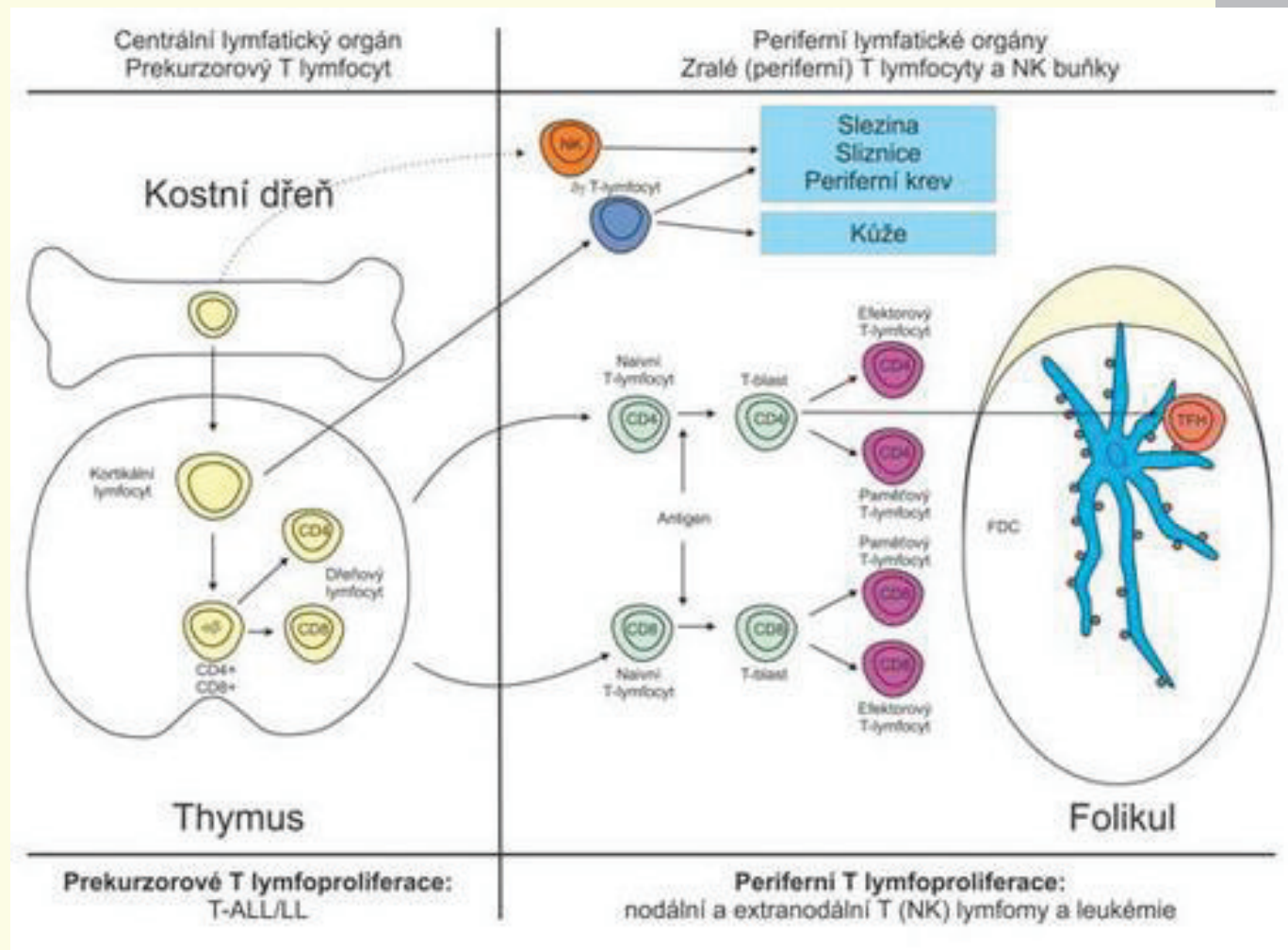
- jsou nádory vycházející z lymfocytů
- velká heterogenní skupina, která zahrnuje jak **leukemie** (akutní lymfoblastovou ALL, chronické lymfatické leukemie CLL)
- **lymfomy a mnohočetný myelom**
- Podle WHO klasifikace je dělíme na lymfoproliferace vycházející z B nebo T-lymfocytů (případně z NK buněk) a podle stupně zralosti výchozí buňky na prekurzorové a periferní.

Schéma vývoje B-lymfocyty a příslušná lymfoproliferativní onemocnění



B-ALL/LL – B akutní lymfoblastová leukemie – lymfoblastový lymfom, MCL – lymfom z plášťových buněk, DLBCL – difuzní velkobuněčný lymfom, Burkitt – Burkittův lymfom, FL – folikulární lymfom, HL – Hodgkinův lymfom, MZL – lymfomy z marginální zóny, CLL/SLL – chronická lymfatická leukemie – malobuněčný lymfom, LPL – lymfoplazmatický lymfom

Schéma vývoje T-lymfocyty a příslušná lymfoproliferativní onemocnění



T-ALL/LL – T akutní lymfoblastová leukemie/lymfoblastový lymfom, FDC folikulární dendritická buňka, TFH – T pomocný lymfocyt (Upraveno podle: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008)

Klasifikace

- je založena na morfologickém obraze, ať již **histologickém** vyšetření u lymfomů, nebo **cytologickém** v případě leukemií.
- Zásadní je **imunofenotypizace**, ve formě **imunohistochemie** při bioptickém vyšetření nebo **průtokové cytometrie** v případě vyšetření **periferní krve a buněčných suspenzí** z kostní dřeně nebo dalších tkání.
- Dalším zásadním vyšetřením jsou v řadě případů **cytogenetické** nebo **molekulárně biologické** metody.

Mnohočetný myelom

- krevní choroba - příčina není zcela jasná.
- V kostní dřeni se začínou nekontrolovaně množit a hromadit plazmatické buňky.
- **lymfocyty**, které za normální situace vytváří pro imunitu velmi potřebné protilátky. Tyto tzv. **myelomové buňky** sice také tvoří protilátku, ale ta je nefunkční a pro tělo škodlivá. Nazýváme ji monoklonální imunoglobulin nebo **paraprotein**.

Waldenströmova makroglobulinémie

- maligní mutace B-lymfocytu
- proliferace a diferenciacie na **lymfoplazmocytní buňky produkující monoklonální imunoglobulin IgM**.
- 10× méně častá než mnohočetný myelom.
- infiltrace kostní dřeně s útlakem normální krvetvorby + deficitem krvinek v oběhu
- monoklonální imunoglobulin typu IgM - zvyšuje viskozitu plazmy
- krvácení z nosu + dásní (projev hyperviskozity)
- Osteolýza
- IgM může mít vlastnost kryoglobulinu, příp. chladových aglutininů

Paraprotein a specifická vyšetření

- **Elektroforéza (ELFO)** je screeningovým vyšetřením pro monoklonálních imunoglobulinů (paraproteinů), tzv. M-komponent
- **Imunofixace** - technika zahrnuje elektroforetické dělení proteinů s následnou imunoprecipitací za použití specifických antisér, identifikace původu paraproteinů
- **Kvantitativní stanovení paraproteinu** se provádí denzitometrickým vyhodnocením elektroforézy v agarosovém gelu s výpočtem kvantity paraproteinu z hodnoty celkové bílkoviny. Hodnoty nad uvedené meze svědčí pro maligní charakter paraproteinu.
- **Celková bílkovina (CB)** slouží jako pomocné vyšetření pro výpočet kvantity paraproteinu.

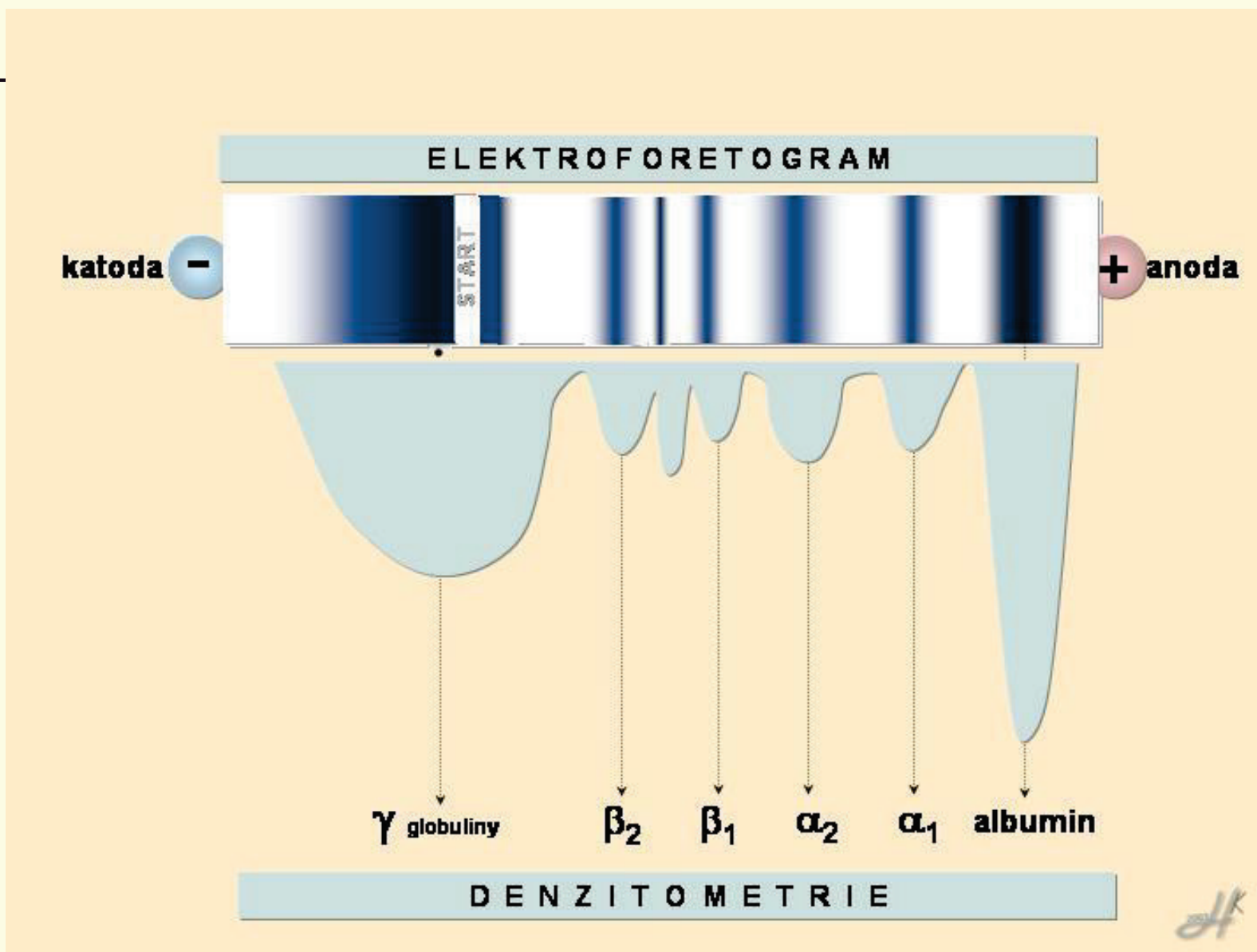
Bence-Jonesova bílkovina

- **Index lehkých řetězců** se stanovuje výpočtem z koncentrací LŘ v případě paraproteinů typu kappa jako K/L, u paraproteinů lambda jako L/K. Jedná se o pomocné kritérium pro hodnocení charakteru monoklonálních gamapatií, překročení uvedeného orientačního rozmezí svědčí pro maligní charakter nálezu.
- **Bence-Jonesova bílkovina** - průkaz v moči proteinurie přebytečných volných lehkých řetězců a svědčí spíše pro maligní charakter monoklonálních gamapatií. Pozitivní nálezy + imunoelektroforéza moče.

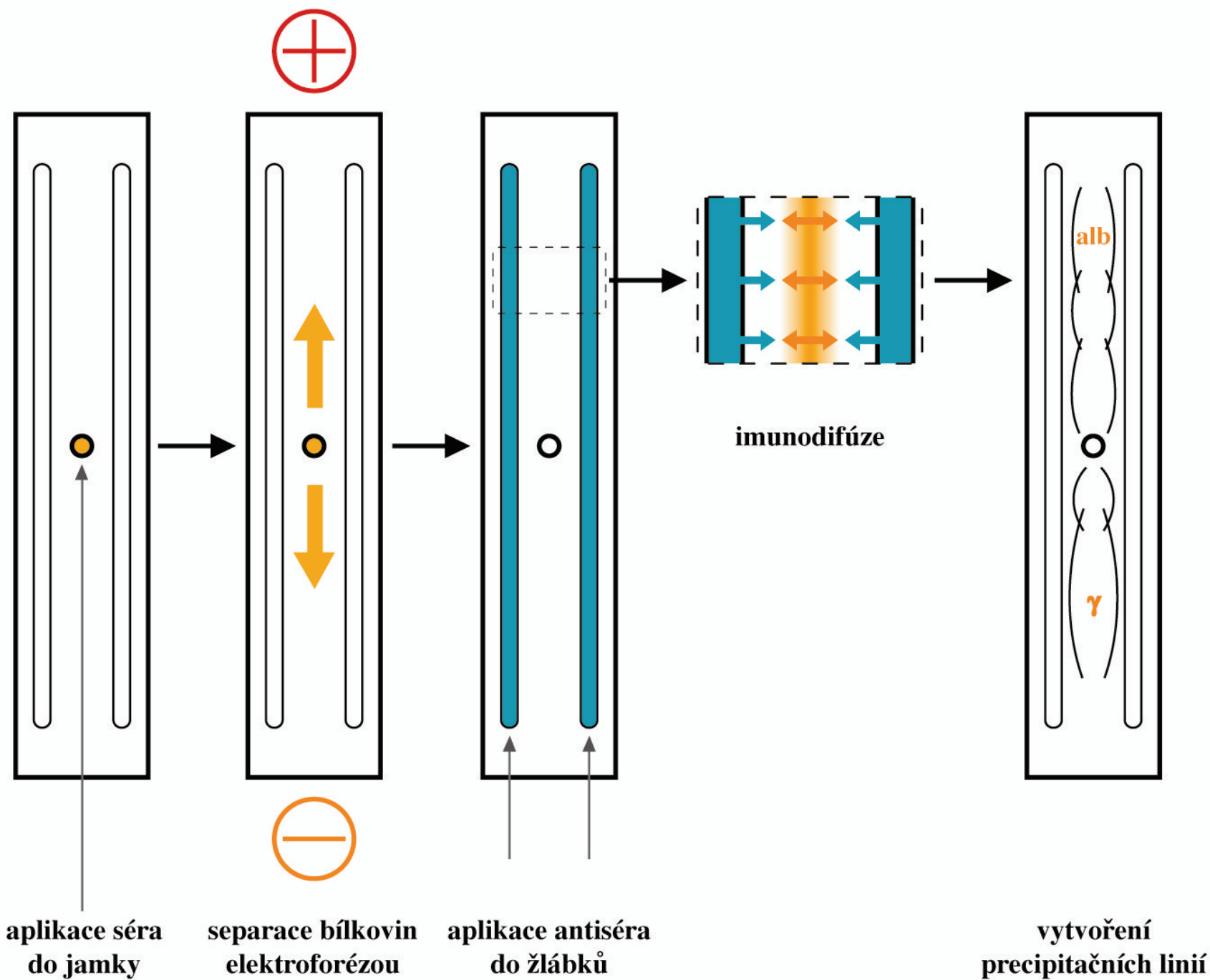
IMUNOELEKTROFORÉZA

- **proteiny mají el. náboj**
- **podle náboje se rozdělí v elektrickém poli**
(albumin, α , β , γ -frakce)
- **orientační informace o změnách**
v kvantitativním zastoupení jednotlivých frakcí
- **možnost denzitometrické kvantifikace**

ELEKTROFORÉZA

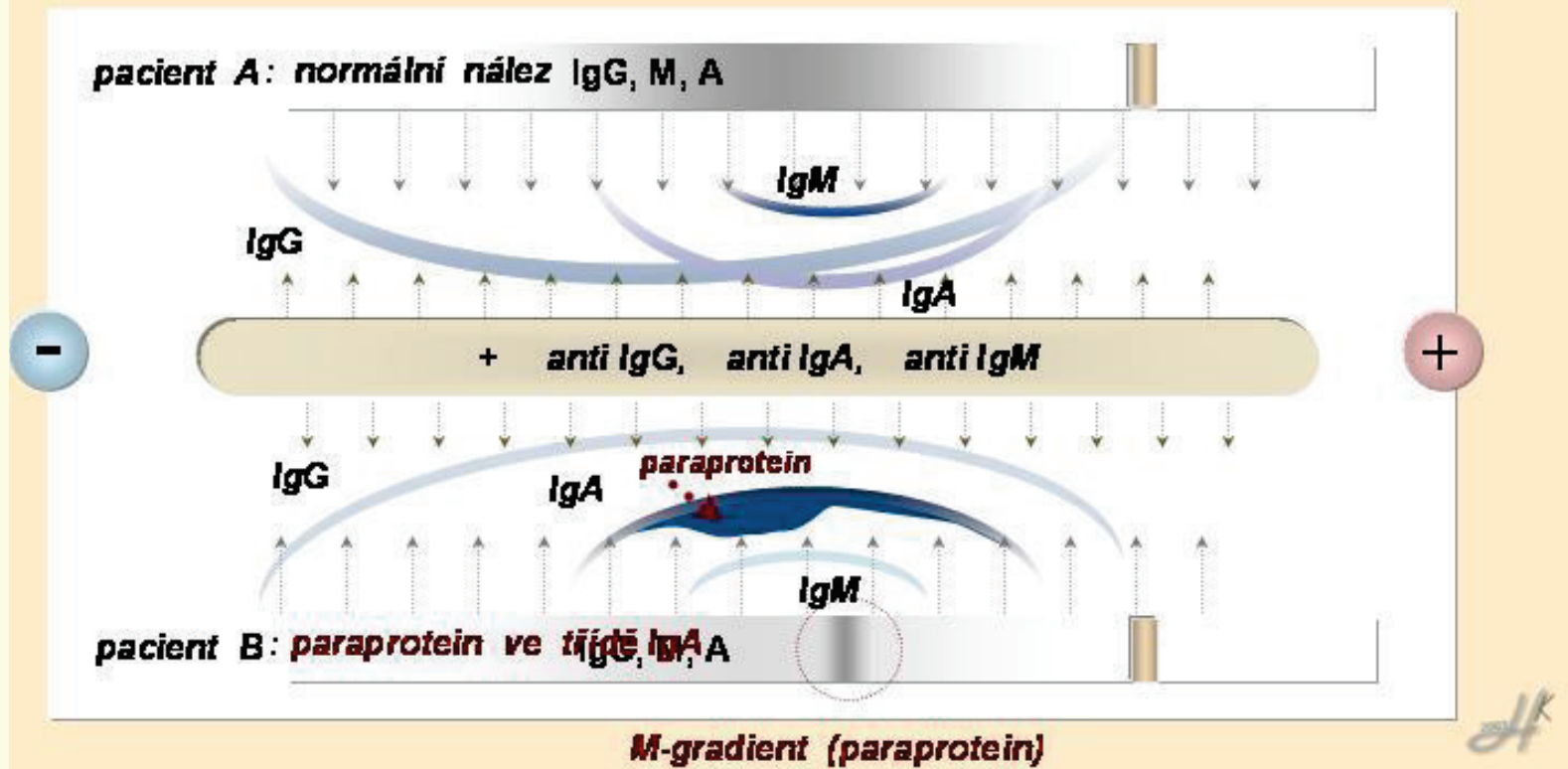


Imunoelektroforéza



IMUNOELEKTROFORÉZA

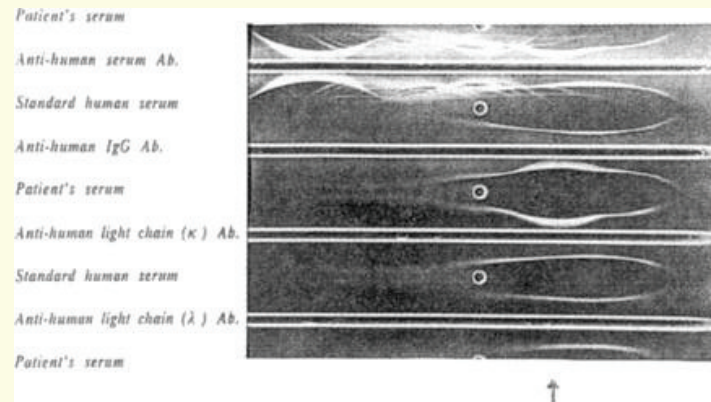
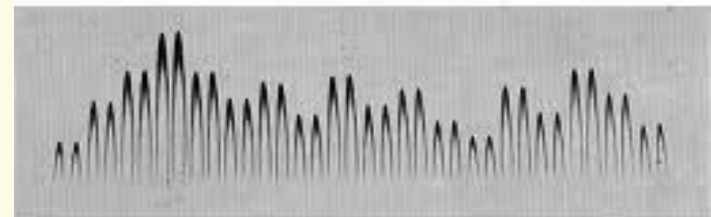
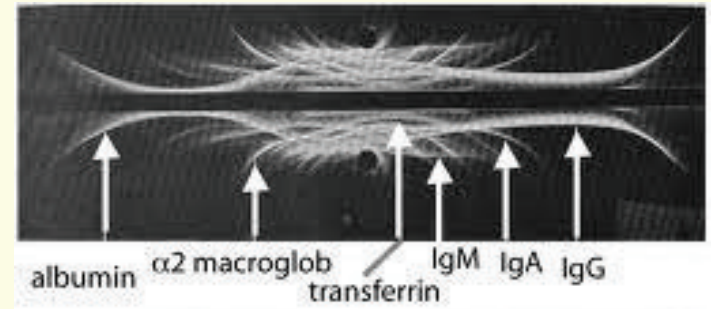
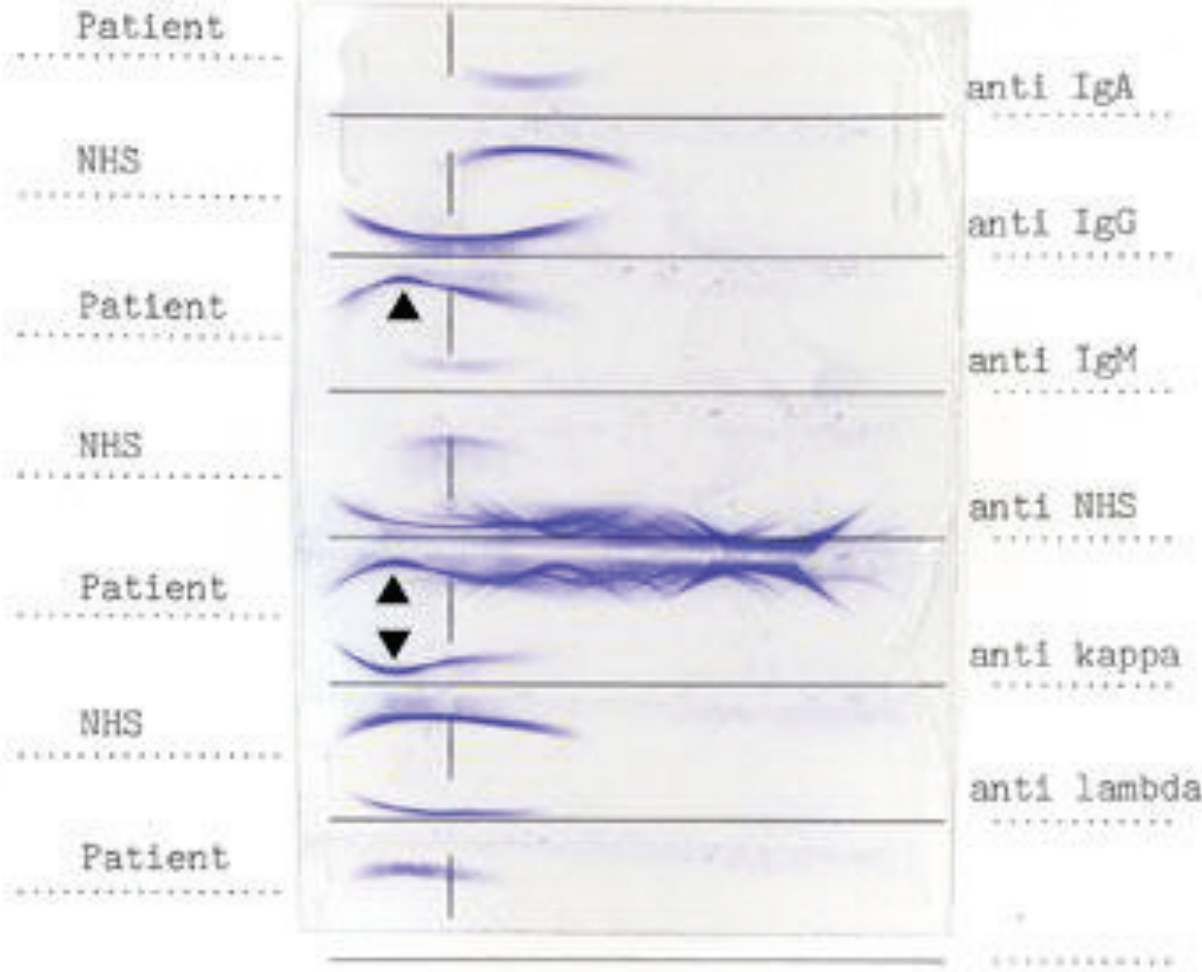
1. elektroforetické rozdělení sérových Ig
2. difuze a precipitace
3. obarvení precipitačních linií a hodnocení



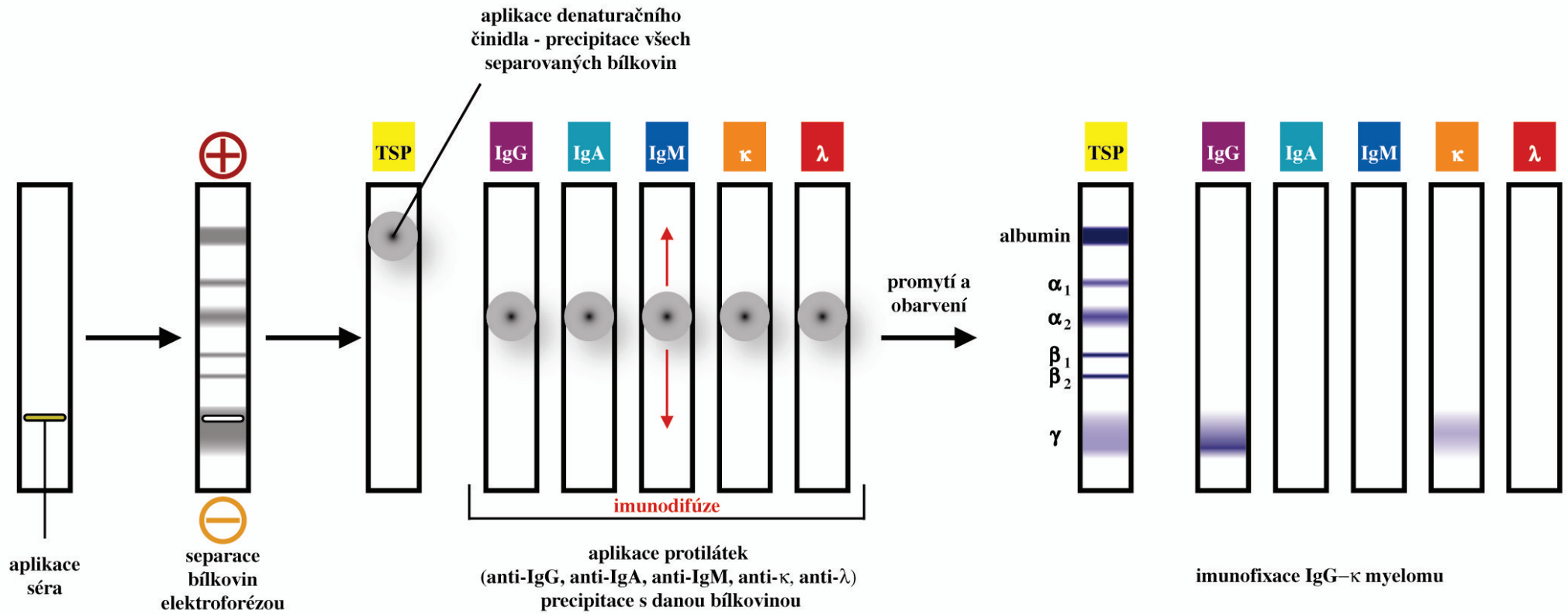
HUNTER IMMUNOLOGY UNIT

IEP INDEX 470

DATE 26.5.94

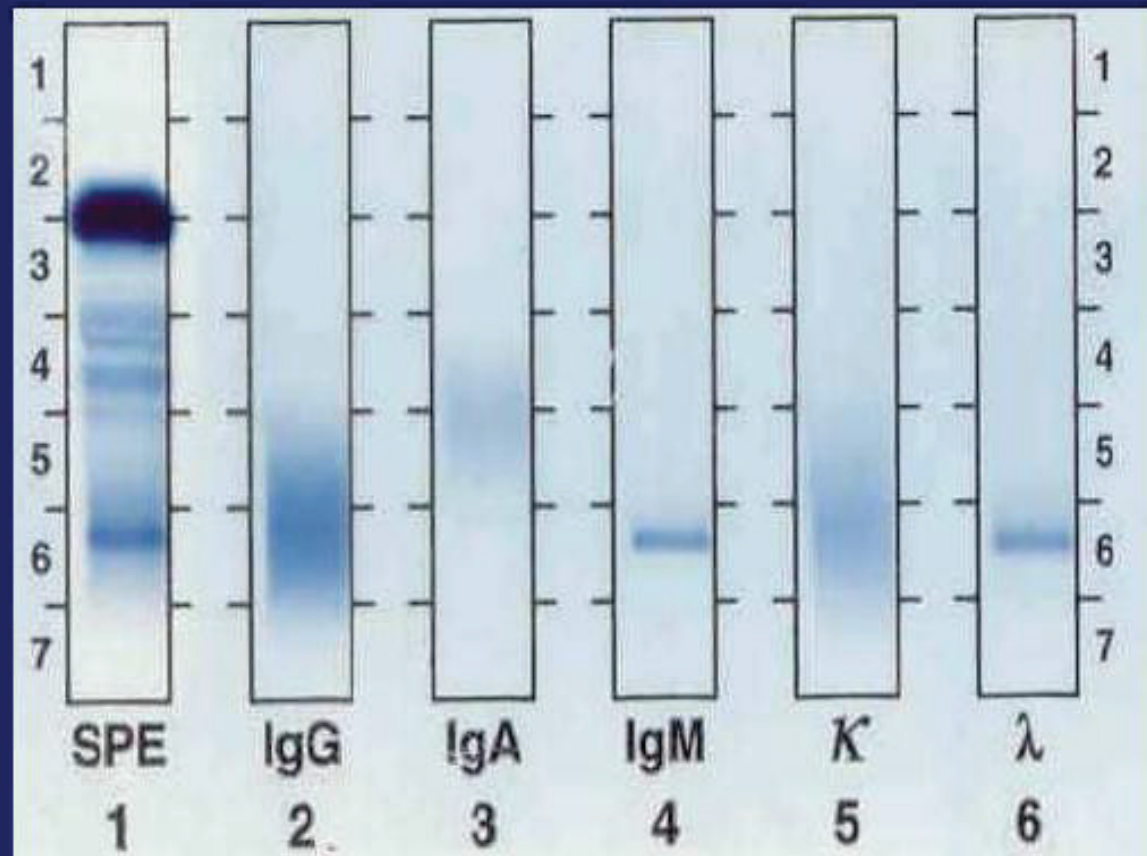


IMUNOFIXACE



Imunofixační elektroforéza

- Gamapatie
- Elektroforetická separace proteinů na gelu
- Immunoprecipitace s monospecifickými antiséry

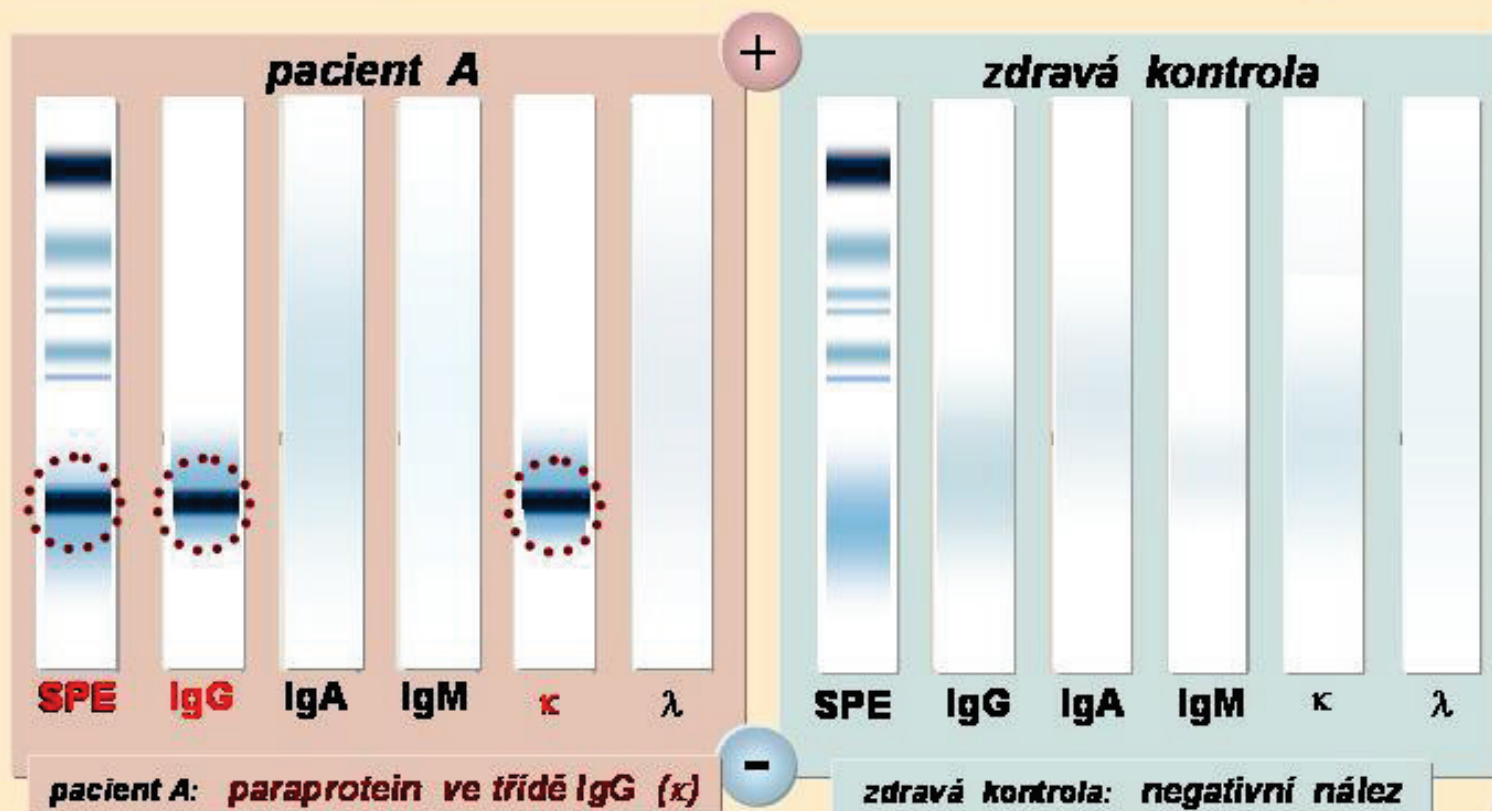


IMUNOFIXACE

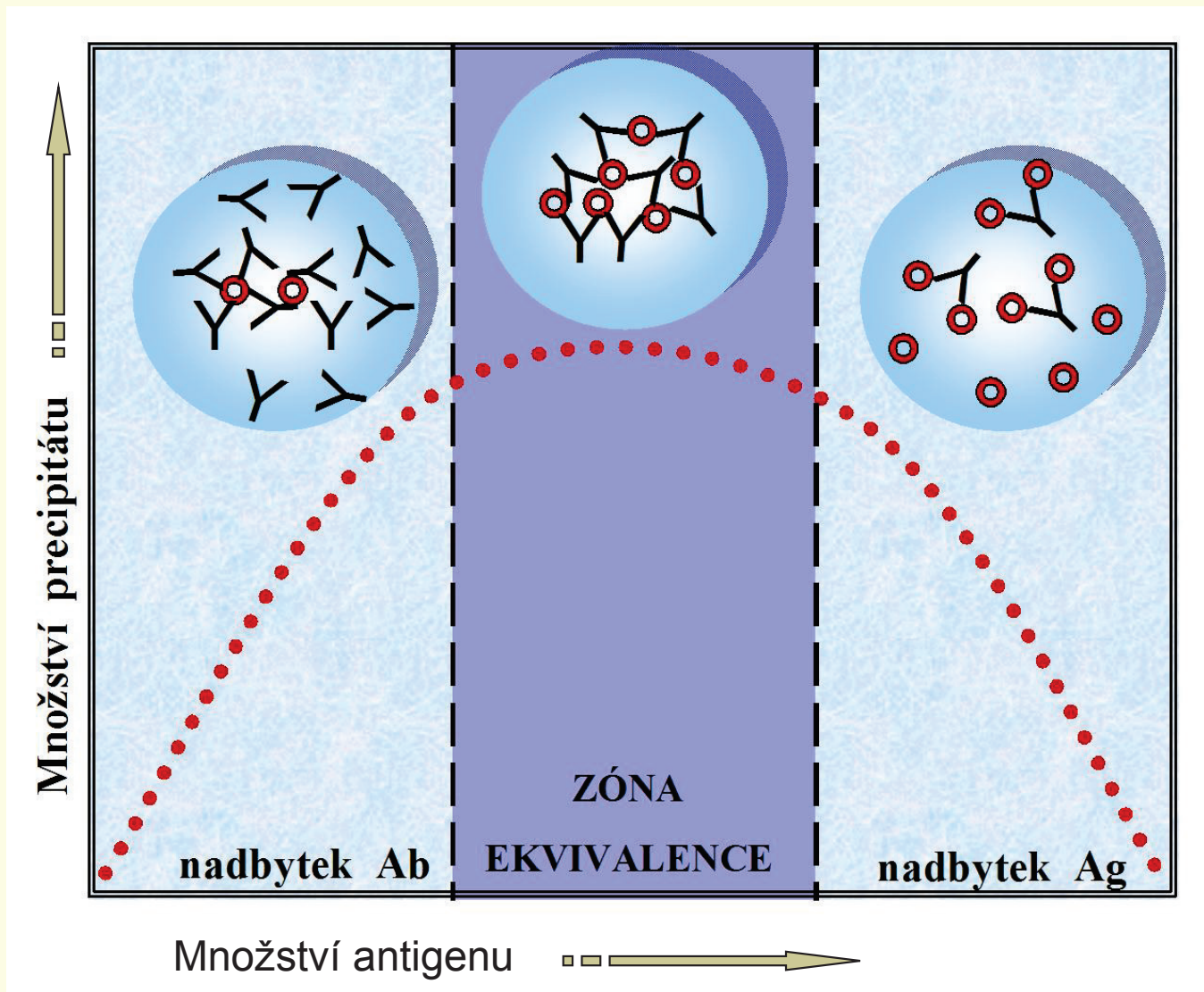
1. elektroforetické rozdělení sérových Ig

2. imunofixace - reakce sérových Ig s anti Ig

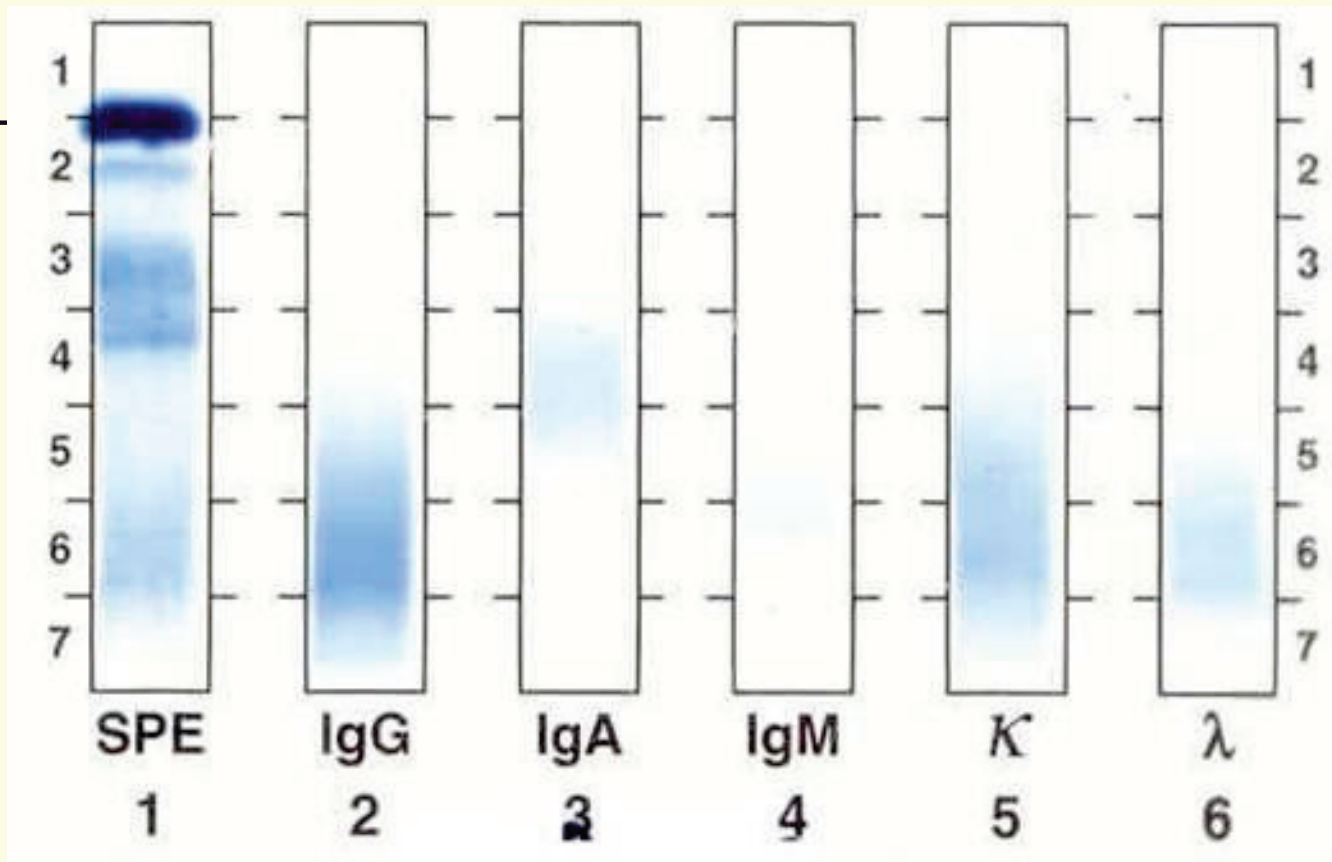
3. promytí, barvení



PRECIPITAČNÍ KŘIVKA

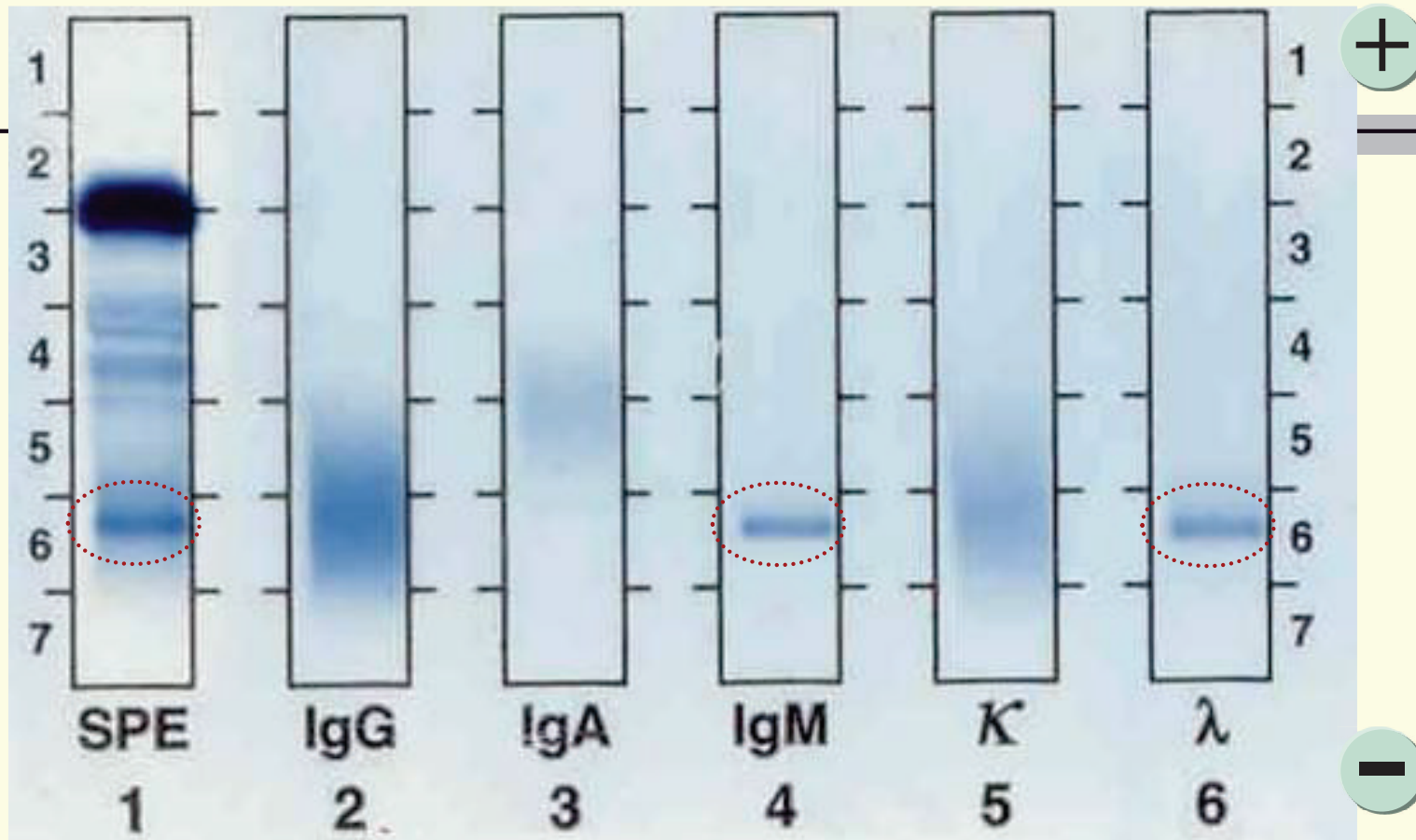


IMUNOFIXACE VZORKU SÉRA ZDRAVÉ OSOBY



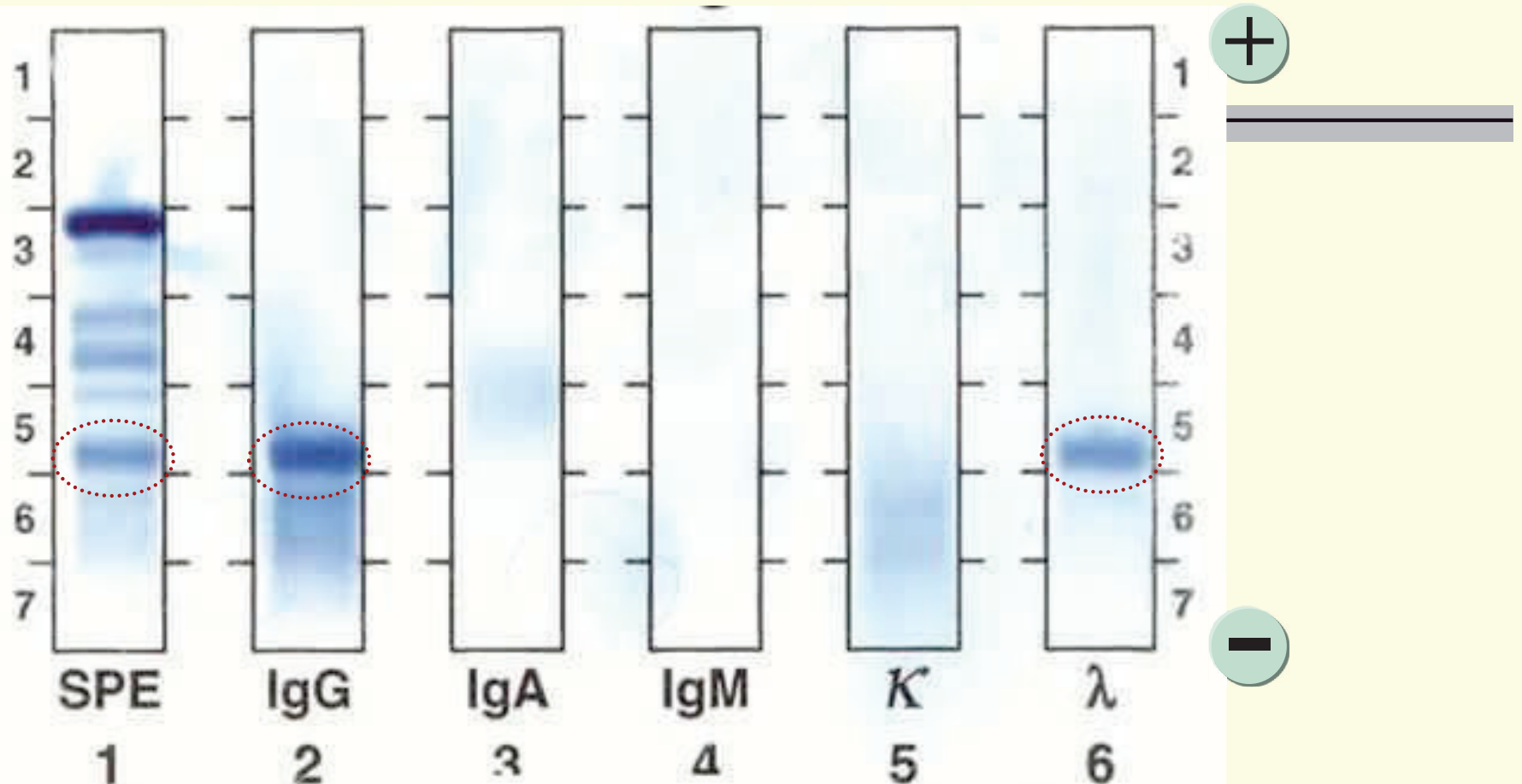
LEGENDA: sloupec č. 1: elektroforéza séra
další sloupce: imunochemický průkaz jednotlivých
těžkých a lehkých řetězců
imunoglobulinů,
je zřetelná polyklonální produkce

IMUNOFIXACE VZORKU SÉRA NEMOCNÉHO S PARAPROTEINEM IgM λ



LEGENDA: sloupec č. 1: monoklonální pruh na pozici 6
 sloupec č. 4 a 6: imunochemický důkaz
 přítomnosti paraproteinu IgM λ

IMUNOFIXACE VZORKU SÉRA NEMOCNÉHO S PARAPROTEINEM IgG λ

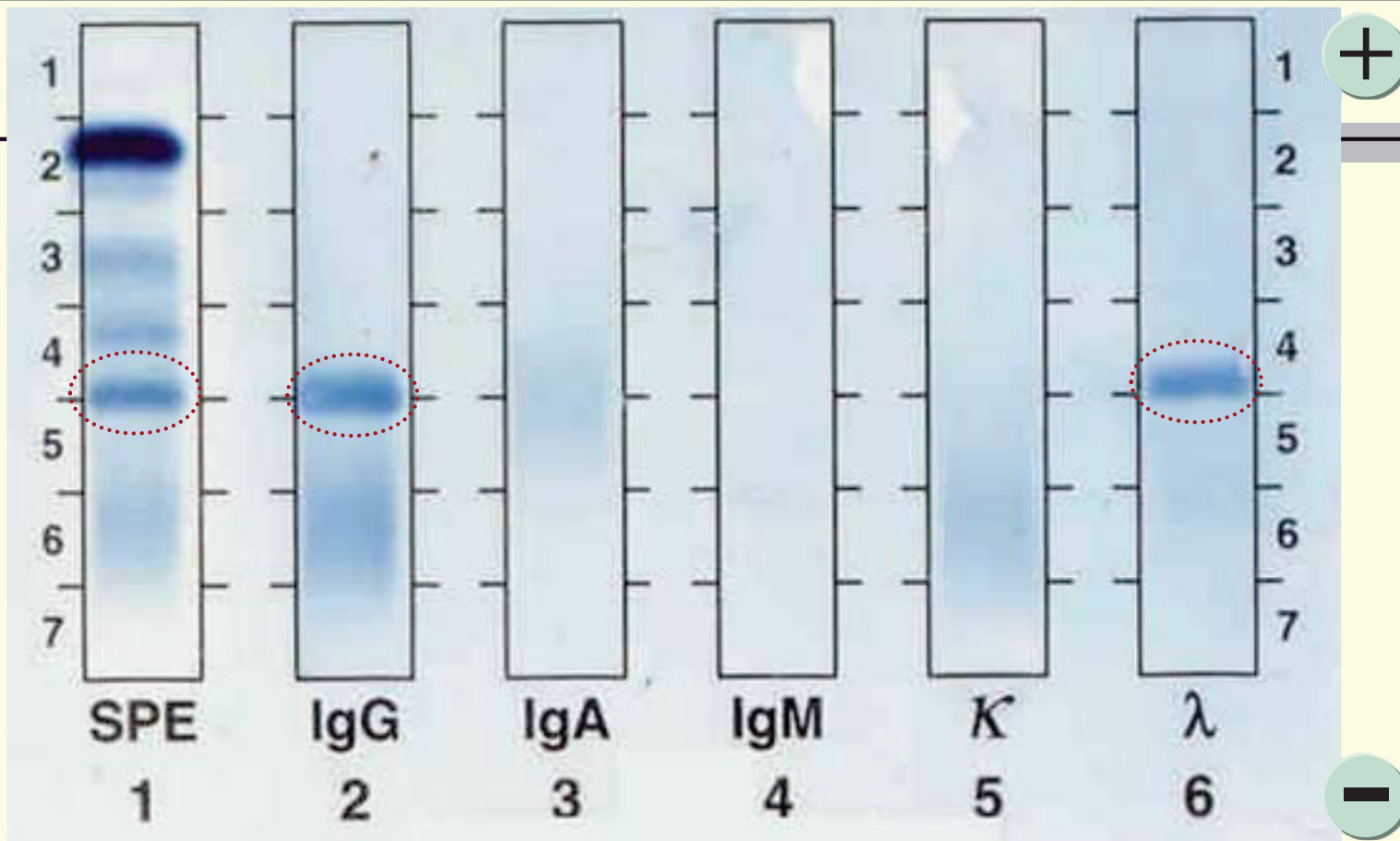


LEGENDA: sloupec č. 1: monoklonální pruh na pozici 6

sloupec č. 2 a 6: imunochemický důkaz
přítomnosti paraproteinu IgG λ

INTERPRETACE: susp. mnohočetný myelom IgG λ

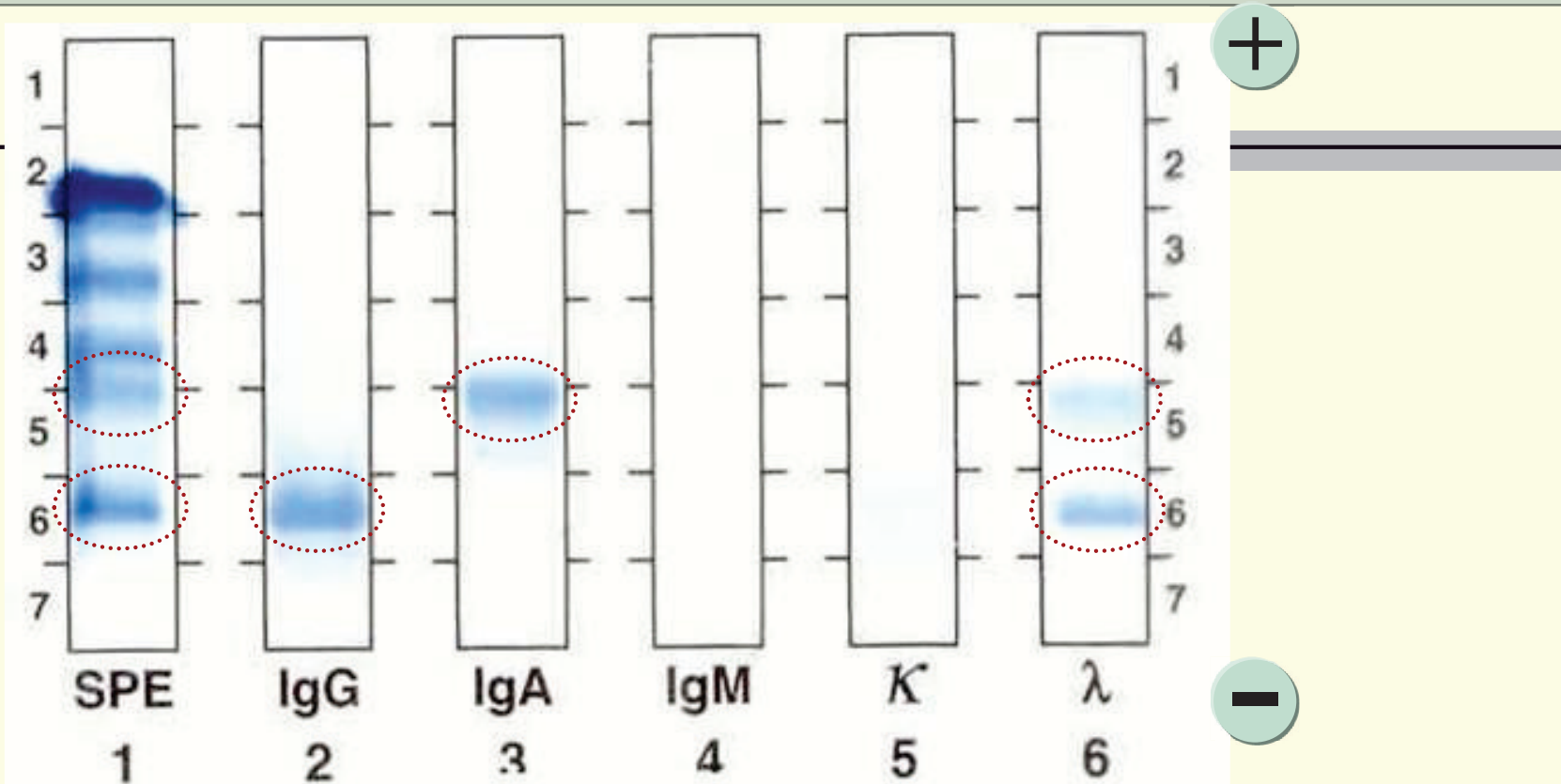
IMUNOFIXACE VZORKU SÉRA NEMOCNÉHO S PARAPROTEINEM IgG λ



LEGENDA: sloupec č. 1: monoklonální pruh na pozici 4
sloupec č. 2 a 6: imunochemický důkaz
přítomnosti paraproteinu IgG λ

INTERPRETACE: paraprotein IgG λ

IMUNOFIXACE VZORKU SÉRA NEMOCNÉHO S PARAPROTEINY IgG λ a IgA λ

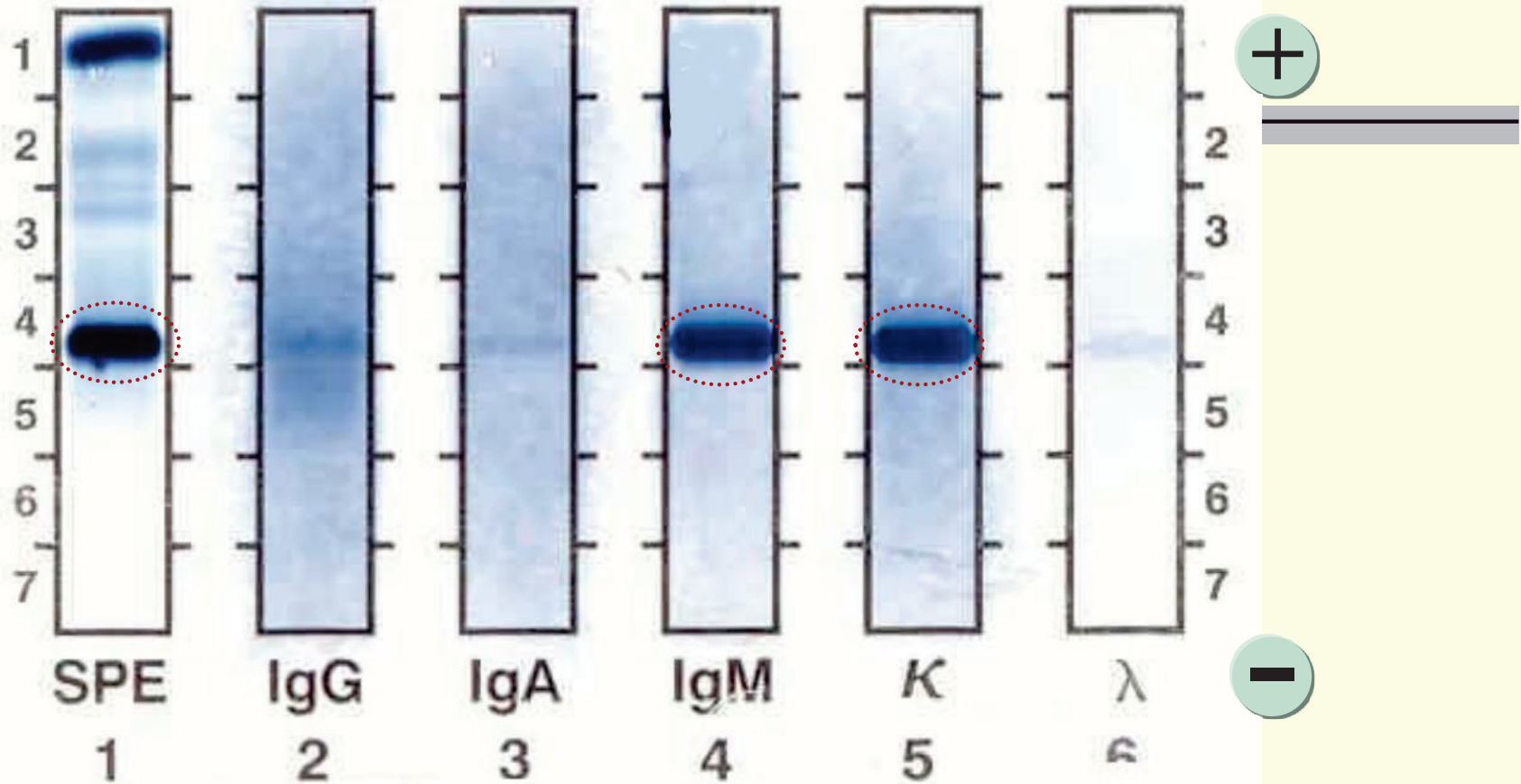


LEGENDA: sloupec č. 1: monoklonální pruhy na pozici 4 a 6
sloupec č. 2 a 6: imunochemický důkaz přítomnosti paraproteinu IgG λ
sloupec č. 3 a 6: imunochemický důkaz přítomnosti paraproteinu IgA λ

INTERPRETACE: dva paraproteiny IgG λ , IgA λ

KOMENTÁŘ: přítomnost dvou klonů myelomových buněk

IMUNOFIXACE VZORKU SÉRA NEMOCNÉHO S PARAPROTEINEM IgM κ



LEGENDA: sloupec č. 1: monoklonální pruh na pozici 4
sloupec č. 4 a 5: imunochemický důkaz
přítomnosti paraproteinu IgM κ

INTERPRETACE: susp. Waldenströмова makroglobulinemie