



FREELITE – SKÚSENOSTI S VYUŽITÍM AJ U NEFROLOGICKÝCH PACIENTOV

**Eva Ďurovcová, Ján Lazúr – Odd. laboratórnej diagnostiky
LABMED, a.s., Košice**

Adela Palfiová, Nefrologická klinika Logman, a.s., Košice

ÚVODOM....

- Kvantitatívne **stanovenie FLC** v sére je pevnou súčasťou diagnostického algoritmu monoklonových lymfoproliferatívnych ochorení
- dobre dokumentovaný a dôkazmi podložený prínos v diagnostike a monitorovaní priebehu všetkých štádií myelómu
- pribúdajú skúsenosti s používaním Freelite® u ďalších príbuzných ochorení
- využitie stanovenia u nefrologických pacientov - špecifiká

POUŽÍVANÝ ALGORITMUS VYŠETRENÍ

1. **ELFO** bielkovín v sére + **Ig GAM** kvantitatívne

- viditeľný/suspektný M-gradient na ELFO
- dysgamaglobulinémia – (hyper- / hypo-)
- 1.vyšetrovanie a klinické podozrenie



2. **Imunofixácia v sére** (Sebia, France)

Pomer FLC v sére (Image, Beckman Coulter)

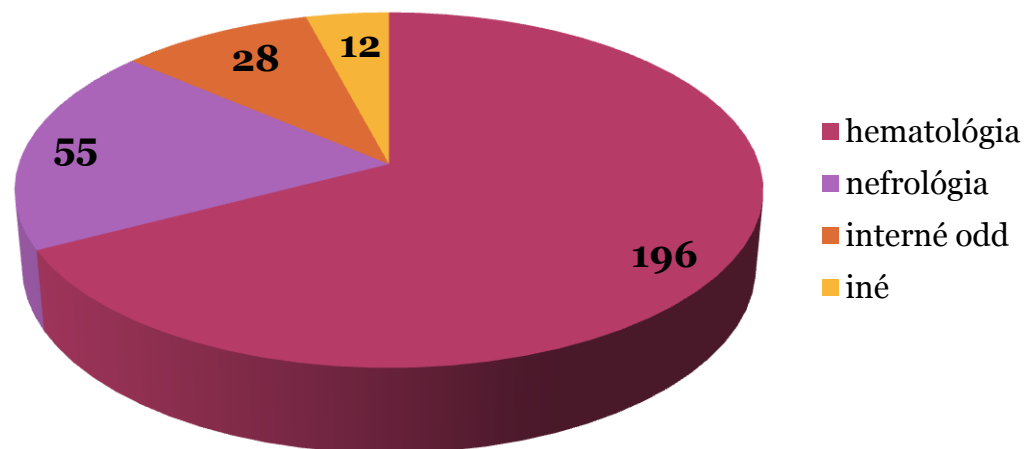
- M-gradient v sére (IFIX)
- **Patologický pomer FLC v sére**



3. **Imunofixácia v moči** (vzorka 24 hodinového moču)

ŠTATISTIKA 2007 - 2009

- Počet vyšetrení FLC – **1114** (**291** pacientov)
- Vyšetrenie v sére - 1-2 x týždenne (max.doba skladovania 7 dní pri 2-8 °C)
- Vyšetrenie indikuje :
hematológ, nefrológ, internista, klinický biochemik
(sporné/ nové prípady)



OBLIČKY V PROBLEMATIKE MG

1. 25% pacientov s MM v čase diagnózy - manifestné renálne postihnutie , u 50% v priebehu ochorenia (až 65% pacientov s LCMM)
2. ARI môže byť prvým klinickým prejavom – „cast nephropathy“
3. Tubulárne poškodenie - takmer 100% pacientov s BJ proteinúriou nad 1 g/24 hod.
4. Iné formy PCD s častým renálnym postihnutím – amyloidóza, LCD

.....krátky exkurz do fyziológie

FYZIOLÓGIA

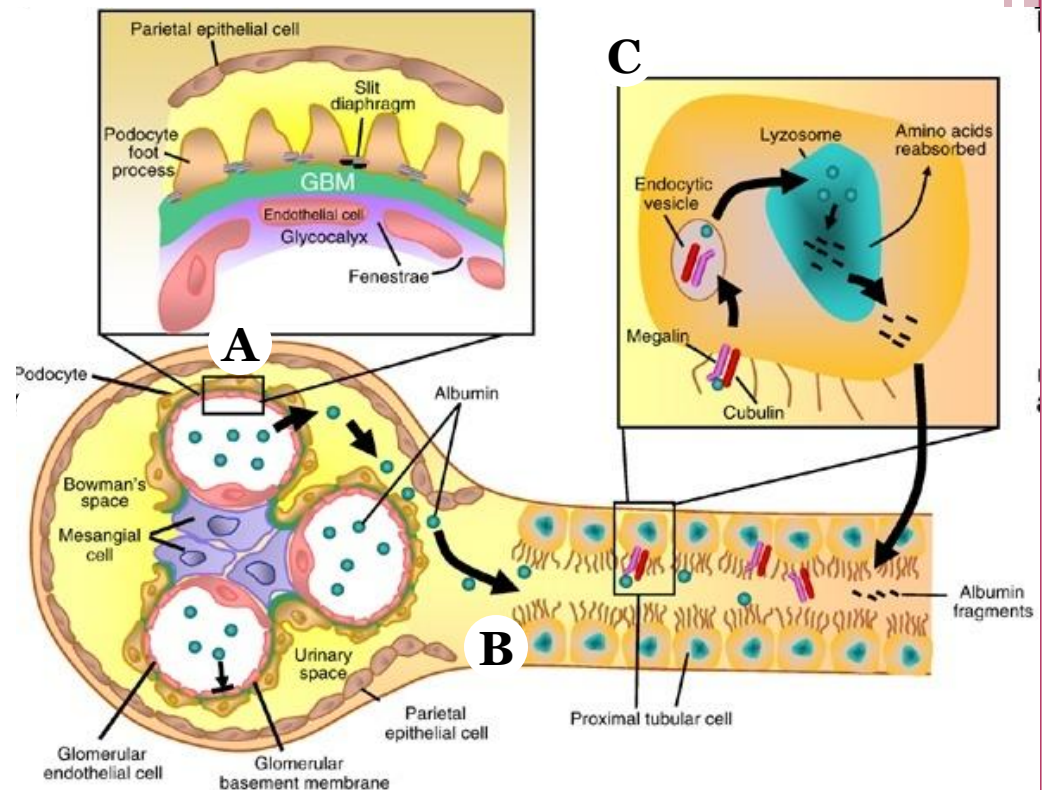
Produkcia FLC : fyziologicky produkované v ľahkom nadbytku

- **kappa** (monoméry, *diméry*), **lambda** (*diméry*) v pomere **2:1**
- multimérne formy (napr. tetraméry - 88kDa) - nefiltrovaťné – pacient má LC proteinémiu bez LC proteinúrie

Renálny

metabolizmus:

- glomerulárna filtrácia
- tubulárnu reabsorpcia
- katabolizmus (lyzozómy)



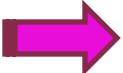
PATOFYZIOLÓGIA

- Pri MM je produkcia FLC 1000 x vyššia , pri intaktných obličkách sú príčinou prerénálnej proteinúrie
- Pri zlyhávaní obličiek sa **mení dynamika odstraňovania** FLC zo séra
 - Stráca sa preferencia klírensu kappa FLC – zvyšuje sa pomer K/L
 - Predlžuje sa T/2 z hodín na dni
- Prítomnosť FLC v moči je spojená s viacerými patologickými stavmi

- 1976 – Smithline použil 1x termín „LC nefropathia“ a popísal tubulárnu dysfunkciu aj abnormality glomerulov spôsobené depozitmi mIg (HC/LC)

NÁSLEDKY LC PROTEINÚRIE I

Toxicita mFLC - prejavy na viacerých miestach obličkových štruktúr

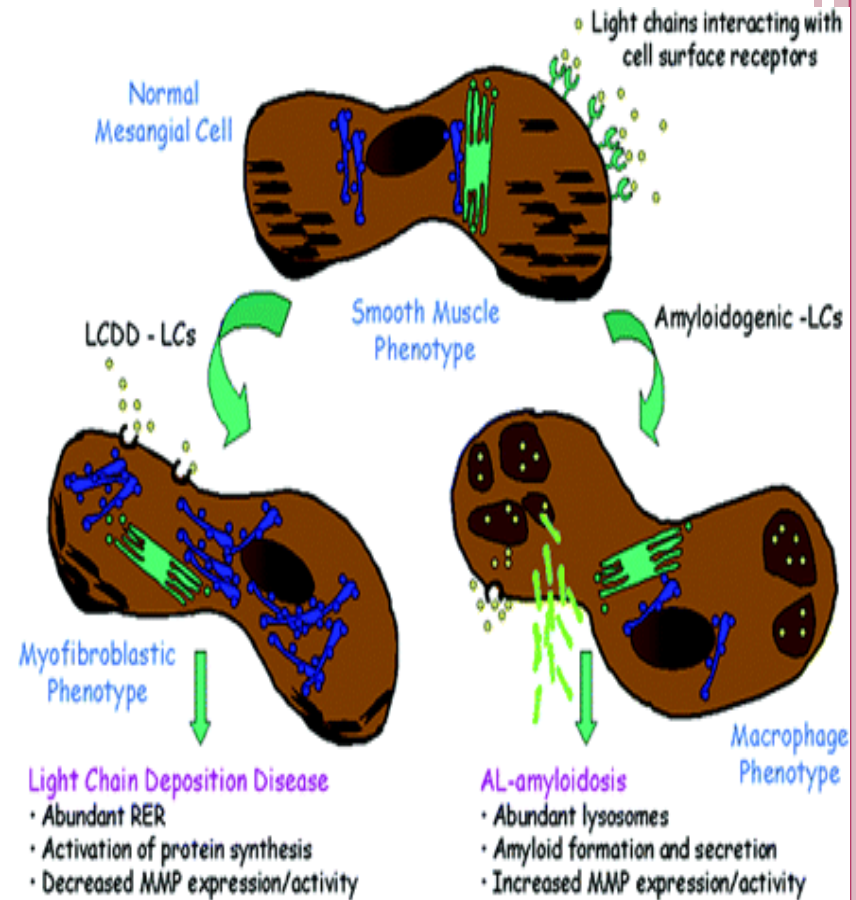
- 1. Tubulopatické LC**  tubulointersticiálne poškodenie
- **priamym toxickým vplyvom** - agregácia LC po endocytóze
 - indukciou **proinflammatorych cytokínov** (fibróza)
 - **oxidatívnym stresom** – produkcia OR – signálna kaskáda - indukcia NFκB a MCP-1
 - **Cast nephropathy** – intraluminálna tvorba valcov a obštrukcia tubulov (koprecipitáciou FLC a THM)

NÁSLEDKY LC PROTEINÚRIE II

2. Glomerulopatické LC →

interakcia s mezangiálnymi bb

- po interakcii s LC receptormi zmena fenotypu (myofibroblast/makrofág)
 - **LCDD** – cez rôzne rastové faktory stimulujú tvorbu zložiek extracelularnej matrix (kolagén IV, laminín, fibronektín, *tenascin*) + znížená aktivita MMP = zmnoženie ECM
 - **Amyloidóza** – ukladanie patologických fibrilárnych komplexov do EC mezangia+ redukcia ECM (zvýšená aktivita MMP)



KLINICKÉ MANIFESTÁCIE FLC PROTEINÚRIE

- Asymptomatická LC proteinúria
- Dysfunkcia PT - Fanconiho sy
- Myelómová oblička (cast nephropathy) - akútna tubulárna nekróza
- Amyloidóza - proteinúria nefrotického typu
- LCDD - nodulárna glomeruloskleróza

PATOLOGICKÝ POMER FLC V SÉRE

- Hematológia

Dg	počet	Pozit FLC	%
MM	44	33	75
MGUS	78	27	35
Iné	27	6	22

- Nefrológia

Dg	počet	Pozit FLC	%
s dg. MM	9	9	100
bez MG	43	14	33
Iné	3	3	100

- Ostatné odd

Dg	počet	Pozit FLC	%
Susp. MG	40	5	13

- podľa RI (0,23 – 1,65)

AKÝ JE POMER FLC U PACIENTOV S RENÁLNOU INSUFICIENCIOU ?

- Preverenie referenčného intervalu
- 37 pacientov s CHRI a neprítomnosťou MG
 - Diabetická nefropatia 12
 - Chronická glomerulonefritída 15
 - Hypertenzná nefropatia 4
 - Akútna tubulárna nekróza 2
 - Iné 4
- 19 liečených hemodialýzou, 18 konzervatívne
- 22 žien, 15 mužov
- Vek: 44 – 71 rokov, priemer 60,5 roka

The slide features a decorative left margin with vertical stripes in shades of purple and blue. Overlaid on these stripes are several circles of varying sizes, also in shades of purple and blue, arranged in a descending pattern from top to bottom.

KAZUISTIKA : AL- AMYLOIDÓZA

14

AMYLOIDÓZA

Patologické ukladanie nerozpustného fibrilárneho proteínu – **amyloidu** do extracelulárnej matrix rôznych orgánov (obličky, srdce, pečeň, steny ciev...)

➡ **porucha funkcie postihnutých orgánov**

Amyloidová hmota = amyloidový proteín + amyloidové vlákna

- **Amyloidový proteín** - glykoproteín, a – globulín, súčasť všetkých typov amyloidu, tvorí sa v pečeni, podobný CRP
- **Amyloidové vlákna** – tvoria 90-95 % hmoty amyloidu, identifikovaných > 24 rôznych proteínov podľa typu amyloidózy (**fragmenty LC, iné proteíny glykoproteínovej/ lipoproteínovej povahy**)

AL- AMYLOIDÓZA

- najčastejšia forma systémovej amyloidózy
- incidencia okolo 1-5 /100 000 – 1 000 000
- amyloidové vlákna tvoria **fragmenty LC** imunoglobulínov (mol.hm. 8000 - 30 000 Da)
- sprevádza najčastejšie MG s nadprodukciou mLC (**lambda** > kappa), ktoré sú viac „amyloidogenné“
 - Hypotéza : sklon lambda LC vytvárať v plazme polyméry, nedokonalá proteolytická degradácia - vzniká nerozpustný fibrilárny amyloid s depozíciou v EC hmote
- Sprievodná MG (MM / iná malignita B-bb) má väčšinou nízku potenciálnu malignitu, analogickú napr. s MGUS

KLINICKÉ PREJAVY

- **nešpecifické** prejavy : únava, úbytok hmotnosti
- **Špecifické prejavy** z dysfunkcie orgánov – väčšinou dominuje jeden orgán
 1. **obličky** (75 %): glomerulárne poškodenie - proteinúria až nefrotický syndróm
 2. **myokard** (90 - 60%): progresívne zlyhanie srdca (reštriktívna infiltratívna kardiomyopatia)
 3. **nervový systém**: periférna polyneuropatia
 4. **GIT**: hepatopatia, makroglosia, malabsorpcia, hnačky
 5. **Koagulopatia**: sklon ku krvácaniu (fragilita ciev v dôsledku endoteliálnej depozície amyloidu)
 6. **Iné orgány** : svaly, kĺby , pľúca, lymfadenopatia



DIAGNÓZA A LIEČBA

- **Klinický obraz** (väčšina pacientov má multiorgánové postihnutie)

– po AL pátrať vždy pri:

- proteinúrii nefrotického typu
- nedilatačnej kardiomyopatii
- hepatomegalii
- zvlášť u pacientov s MM alebo MGUS

- **Histológia:** dôkaz amyloidu v tkanivovej biopsii – pri farbení Congo red charakteristický zelený dvojlom v priečne polarizovanom svetle + imunohistochemický dôkaz
- Dôkaz **monoklonového gradientu v sére a moči** – pozitivita IFIX je 80 %
- **Stanovenie FLC v sére** – významný pokrok v diagnostike a manažovaní ochorenia – 98% senzitivita

PACIENTKA EI, 1951

A: sledovaná pre ICHS a AH , chronický polytopný VAS ,2 mesačné bolesti LS chrbtice a pelvickej oblasti

TO: hospitalizácia na NEUR , preklad na INT – s dg. ARI nejasnej etiológie a proteinúria nefrotického typu, pre podozrenie na paraneoplastický pôvod ARI kompletne vyšetrená a preložená na NEFRO do Košíc za účelom biopsie obličky

Subj: únava, bolesti chrbtice, 2 mesiace opuchy členkov, schudla 5 kg/ 2mes

Klinický nález: KP kompenzovaná, hepatomegalia , bez ikteru, prejavov hemoragickej diatézy , tuhé edémy DK

LABORATÓRNY NÁLEZ

Polyglobúlia s trombocytózou (WBC 13,5, Hb 158, Tr 703)

hypokoagulačný stav (PT 60%, INR 1,43, APTT 1,45)

ARI (urea 20,6 mmol/l, kreat 356 μ mol/l, GF 0,23 ml/s)

nefrotický sy (CB 48,1 g/l, ALB 22,4 g/l , U-CB 8,2 – 15,5 g/d)

Hepatopatia (GMT 8,3 μ kat/l, ALT 3,9 μ kat/l)

Imunológia: negatívny Ab skríning na systémové ochorenia spojiva

ELFO bielkovín: jemný M-gradient do 2,5 g/l

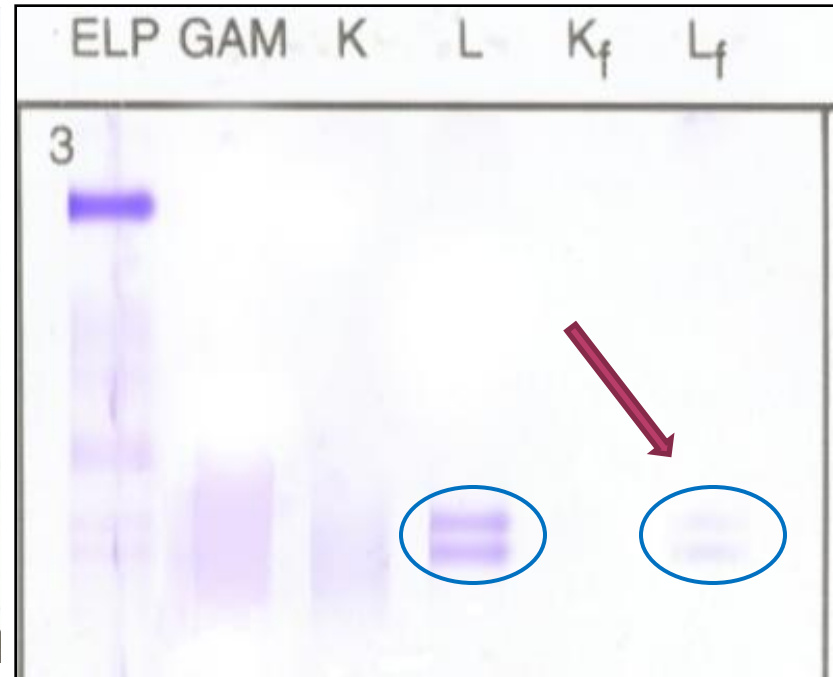
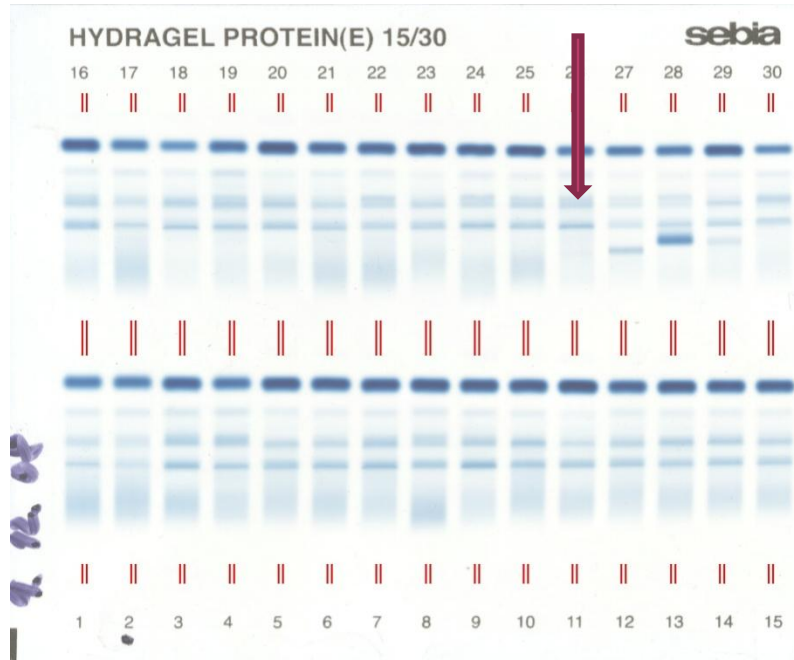
Freelite: FLC-kappa 17,1 , **FLC lambda 3850 mg/l** , **K/L 0,01**

IFIX v sére : monoklonové FLC lambda

IFIX v moči : 2 monoklonové gradienty FLC lambda

**ELFO – len naznačené 2 M -
gradienty**

**U-IFIX – 2 monoklonové
gradienty FLC lambda**



VYŠETRENIE KOSTNEJ DRENE

- Cytológia : nízka celularita , plazmocyty 8%
- Imunofenotypizácia : plazmocyty 3,6% s patologickým fenotypom
- Histológia: intersticiálne a vaskulárne depozity amorfného Congo red pozitívneho materiálu + Imunohistochemicky lambda LC pozitivita – AL amyloid
- RT-PCR: mutácia V617F JAK2 génu negatívna

Z ĎALŠÍCH VYŠETRENÍ:

Skelet: RTG susp. deštrukcia sedacej kosti vľavo

Plúca: spirometria - FVC 71%

Srdce: ECHOKG- konc. hypertrofia myokardu, EFĽK 45%

USG abdomenu: hepatomegalia, pankreatopatia

USG obličiek: obojstranne zhrubnutý parenchým



Možné poškodenia orgánov v dôsledku ukladania amyloidu?

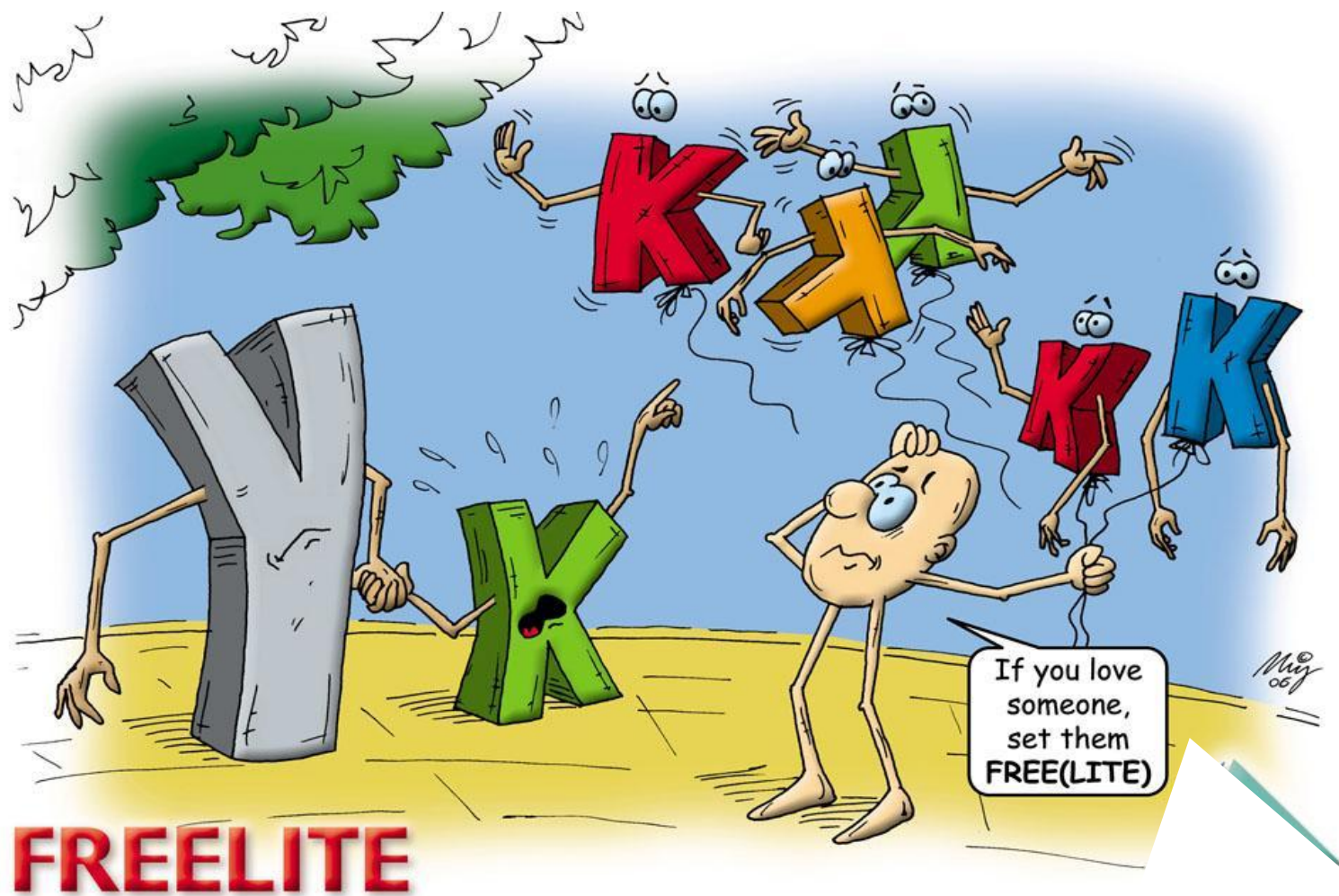
TERAPIA A ĎALŠÍ PRIEBEH

Terapia : odoslaná na kliniku onkohematológie FN L.Pasteura za účelom chemoterapie a event. autológnej transplantácie kostnej drene

Solitárny plazmocytóm v pelvickej kosti - potvrdený ďalším vyšetrením

Po 4.cykloch CHT (apríl 2009): pokles FLC lambda v sére - **117 mg/l**

ĎAKUJEM ZA POZORNOST



....A EŠTE JEDEN

