

PATOLÓGIÁS IMMUNGLOBULINOK KVALITATIV ÉRTÉKELESE

A KLINIKAI-LABORATORIUMI SZÜRŐVIZSGÁLATOK SORÁN

Készítette: E G R I P I R O S K A

Orvosbiológiai doktori értekezés

1980.

ELŐZETES VITATILAVI DOKUMENTUMOK

1947. ÉVI KÖZLEMÉNYEK

B 5040

1947. ÉVI KÖZLEMÉNYEK



E 1.947

Püspökladány

T a r t a l o m j e g y z é k

	oldal
BEVEZETÉS	1
GAMMAGLOBULINOK	5
IMMUNGLOBULINOK	7
MONOCLONÁLIS GAMMOPATHIÁK	13
Az M-PROTEINAEMIA: A PARAPROTEINEK	
1./ Az M-proteinaemia definíciója és szinonimái	19
2./ Az M-proteinaemia pathogenesise .	21
3./ Az M-proteinek jelenléte okozta változások a vérben és más test- nedvekben	
a./ Molekuláris aggregatio	26
b./ Abnormális szolubilitás . . .	27
c./ Abnormális interakciók	30
4./ Az M-proteinek osztályozása és jellemzése	
a./ A nehéz-és könnyüláncot egya- ránt tartalmazó M-proteinek .	32
b./ Csak immunglobulin lánc frag- mentet tartalmazó M-proteinek	35
Az M-PROTEINEK /PARAPROTEINEK/ KLINIKAI-LA- BORATORIUMI FELISMERÉSÉNEK ELVEI ÉS MÓDJA .	
1./ Jellemző kritériumok	40
2./ Metodikai mellékletek	45
ÖSSZEFOGLALÁS	49
IRODALOM	52
SZEMLÉLTETŐ ÁBRABETÉTEK	2/A 3/A, 3/B 8/A 19/A, 19/B 28/A 31/A 35/A 41/A 42/A 43/A

B e v e z e t é s

A dolgozat célja az egészségügy területén jelentkező feladatok jobb ellátásának egy konkrét területen való elemzése az orvostudomány legújabb kutatási eredményeinek tükrében, valamint utmutatás a feladat gyakorlati dinamikus megoldására kórházaink laboratóriumaiban a KORSZERŰ BETEGELLÁTÁS érdekében.

Egyes betegségcsoportok laboratóriumi diagnosztikai felismerését a klinikai fehérje kémia és az immunológia fejlődése tette lehetővé. A szérum fehérje vizsgálatok sok esetben prognosztikus, diagnosztikus értékkel járulnak a klinikai kórkép felállításához. Ezek közé tartoznak a patológias immunoglobulinok felismerése.

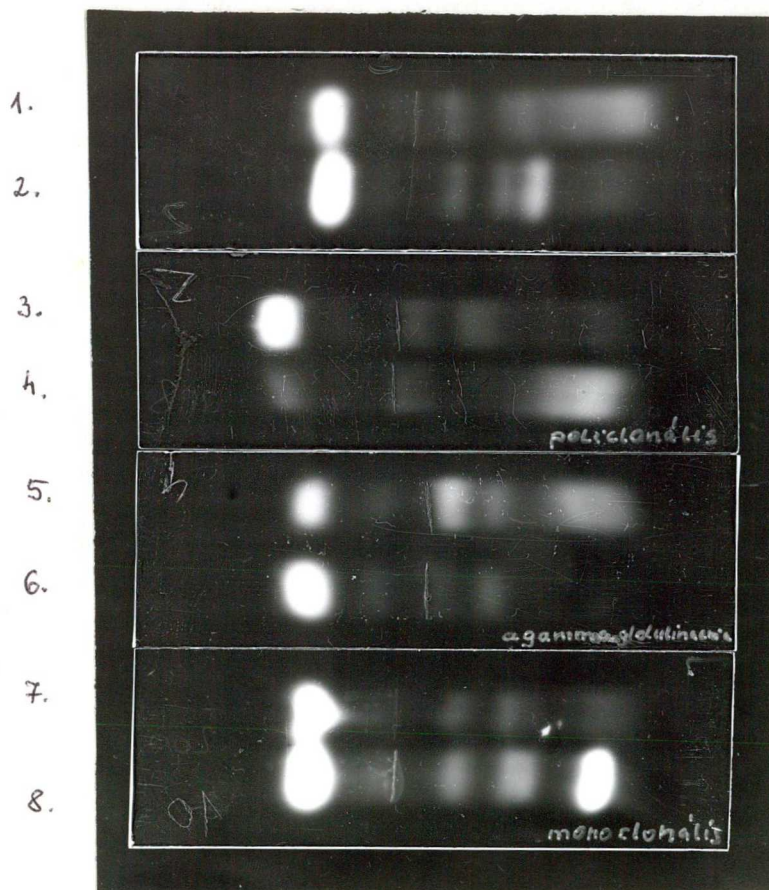
A klinikai kémiai laboratóriumokban régóta alkalmazzák rutinszerűen a szérumfehérjék és más testnedvek proteinjeinek frakcionálását, identifikálását, kvantitatív meghatározását normális és kóros esetek megítélésére szűrővizsgálatként.

A szérum fehérjék - melyeknek fiziológias körülmények között egymáshoz viszonyított százalékos megoszlása meghatározott és állandó egészségesekben -, frakcióinak vizsgálatát, mint relatív kvantitatív képet eletroforézissel végezzük agar, cellulózacetát vagy papír hordozókon az adott laboratóriumi viszonyoknak megfelelően.

Az elektroforézis során a szérum fehérjék izoelektromos pontjuktól függően öt fő frakcióra válnak szét: albumin, α_1 , α_2 -, béta- és gammaglobulinokra, melyeknek kóros megoszlását kvantitatív eltolódásuk alapján ítéljük meg az alábbi csoportokban:

- egyes fehérjék egymáshoz viszonyított aránya megváltozik: dysproteinaemiák /krónikus-, akut gyulladások, nephrosis, nephritis, cirrhosis, plasmocytoma, hepatitis stb./
- egyes fehérjék genetikai ártalmak miatt nem képződnek: defect-dysproteinaemiák /agammaglobulinaemia, α_1 - antitripsin hiány, analbuminaemia stb./
- kóros fehérjék jelennek meg a vérben: monoclonális gammopathiák, alpha-foetoprotein, /patológiás immunoglobulinok: M-proteinek/.

Az egyes elektroforetikus sávokban a legkülönbözőbb molekulanagyságu, keletkezésű és fiziológias funkcióju fehérjék vándorolnak együtt, amelyek immun-elektroforézissel vizsgálhatók, mint sokkal nagyobb felbontásu metodikával. Így az elektroforézisnek a kvantitatív eltolódás alapján történő klinikai képbe való beillesztése több variációs lehetőséggel bír, gyakorlatilag diagnosztikai jelentősége csekélyebb a dysproteinaemiák tekintetében, a defect-dysproteinaemiák eseteiben már sokkal jelentősebb.



Szérum fehérjék elektroforézise: az ábrán négy tárgylemezen agargél elektroforézissel kapott 8 beteg szérum fehérje frakcióinak a megoszlása látható:
balról jobbra: albumin, α_1 -, α_2 -, béta- és gamma zónák.

A frakciók kvantitatív megoszlása mellett kvalitatív képük is kifejező:

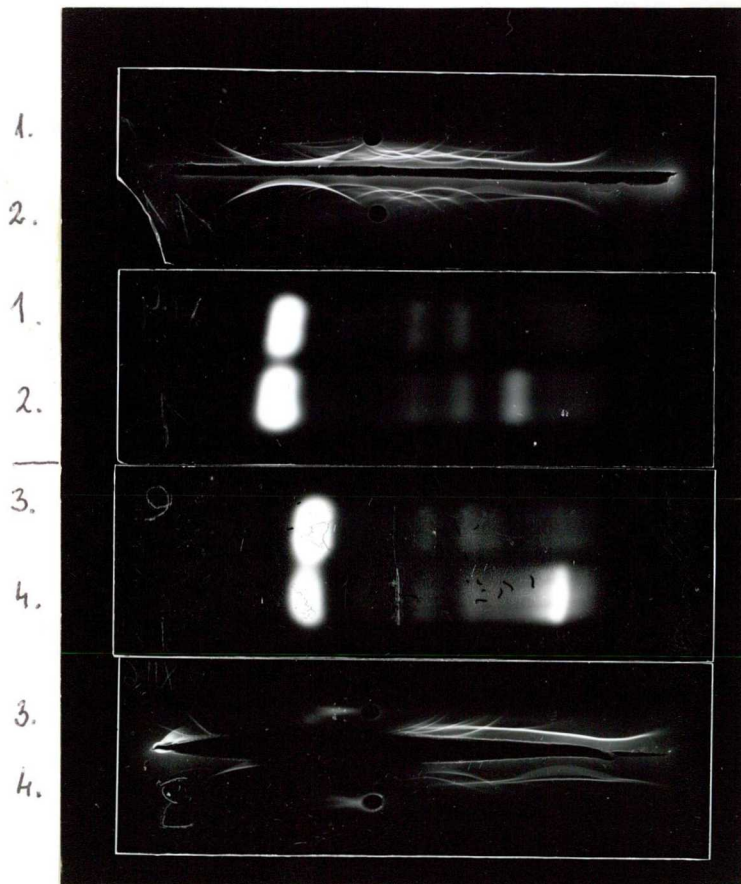
- 4. beteg: széles gamma sáv: policlonális szaporulat
- 6. beteg: hiányzó gamma sáv: agammaglobulinaemia
- 8. beteg: tömör gamma sáv: monoclonális szaporulat.

Igen fontos diagnosztikus értéke van azonban az olyan fehérjék kimutatásának, amelyek csakis kóros körülmények között találhatók meg, és különböznek a normális szérum fehérje frakciótól. Ezek a fehérjék a patológias immunoglobulinok.

A tudomány eredményeinek alkalmazása során az elektroforézis és az immunoelektroforézis egymás melletti párhuzamos kivitelezése eredményezte, hogy a szűrővizsgálatként alkalmazott elektroforézis kvantitatív értékelése mellett annak KVANTITATIV elemzésétől nem szabad eltekinteni, mert értékes információt nyújt ezeknek a kóros proteineknek a jelenléte észlelésére.

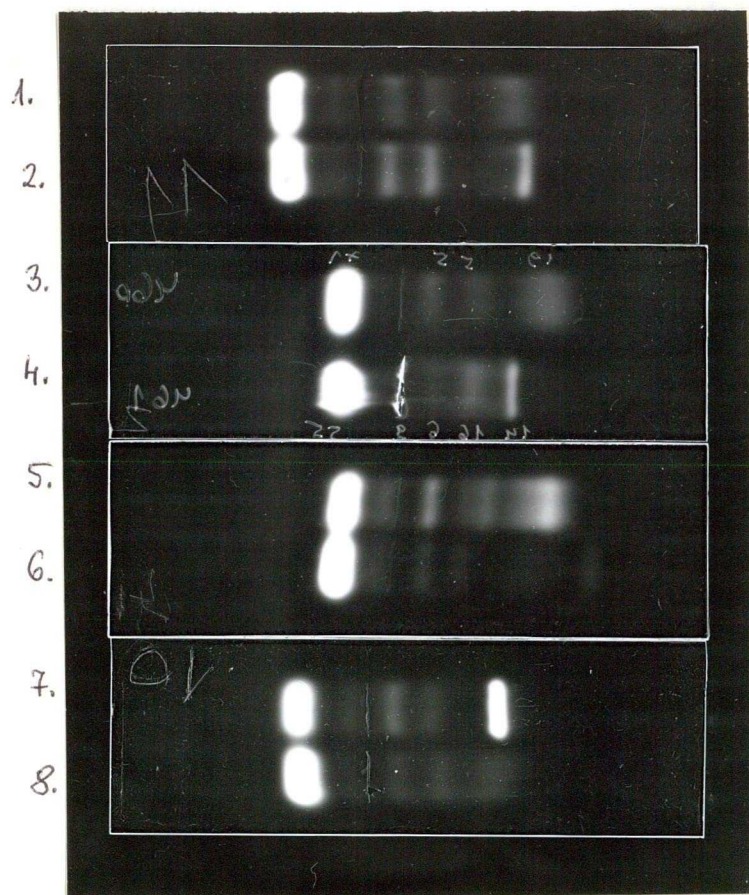
A korábbi ismeretek alapján az a megállapítás született, hogy elektroforézissel csak abban az esetben tudunk kimutatni kóros proteint, ha annak mennyisége lényegesen nagyobb, mint az azonos izoelektromos ponttal rendelkező globulinoké. Ezek az M-grádiensek, amelyek kifejezett myelomákban, makroglobulinaemiákban igen jól észlelhetők.

Azonban ezeket az M-grádienseket sokkal kisebb koncentrációkban is lehet észlelni az elektroforétikus képen, és szükséges a normális kvantitatív megoszlás mellett jelezni, mert szisztemás utat mutat a további, nagyobb felbontású vizsgálatok szükségességének megítélésére és a betegség kialakulásának korai felismerésére.



Szérum fehérjék elektroforézis és immunoelektroforézis képe párhuzamos futtatásban:

1. és 3. beteg: normál kvalitatív és kvantitatív megoszlás.
2. beteg: az elektroforézisben a gamma zóna G1 helyzetében M-gradiens, az immunoelektroforézisben az IgG precipitációs vonal anodikus végén M-törés,
4. beteg: az elektroforézis gamma zóna G3 helyzetében M-gradiens, az immunoelektroforézisben az IgG precipitációs vonal közepén M-törés jelzi a patológiás immunoglobulin jelenlétét.



Szérum fehérje elektroforézis agargélben:

A különböző mennyiségben jelenlévő patológiás immunglobulinok jelentkezése:

- 2. beteg: M-gradiens a gamma zóna G 4 fázisában,
- 4. beteg: M-gradiens a béta₂ zónában /14 %/
- 6. beteg: M-gradiens a gyors gamma zónában /2,5 %/
- 7. beteg: M-gradiens a gamma zónában nagy mennyiségben

A kvalitatív értékelés jelentőségének felbecsülése több éves megfigyelés eredménye.

Jelen dolgozat a fenti megfigyelés elemzése és összefüggésbe hozása a klinikummal, egyben munkaszervezési javaslat is helyi körülményekre vonatkoztatva a prognosztikus, diagnosztikus, therápiás hatás megítélésére is alkalmas laboratóriumi vizsgálatsorozat egyszerű, olcsó, gyors, ésszerű, a beteg szempontjából sem megterhelő kivitelezésre a gyógyító orvos és a laboratóriumi szakember együttműködésével a gyógyító-megelőző munka jegyében. /12/

G a m m a g l o b u l i n o k

A gammaglobulinokat a reticuloendotheliális systema /RES/ sejteleméi termelik, de valószínűleg a májon belül a Kupffer-sejtek és a portális terek mesenchyma sejtjei is. Akut és kronikus májbetegségekben a szérum gammaglobulin szintje nő.

A gammaglobulinok megszorodásának kimutatására még ma is alkalmazzák a labilitási próbákat /különböző módon kicsapják a kóros fehérje frakciókat/ vagy a kolloid próbákat /a kóros fehérje csapja ki a szérumhoz tett kolloid oldatot: aranyoszol próba, thymol próba stb./. /46/

Érzékenységük alapján a májbetegségek /a parenchimas és elzáródásos sárgaság elkülönítésére az előbbi pozitivitása miatt/ szűrésére használatosak főleg a kolloid próbák. Pozitivitást jeleznek bizonyos gammaglobulin szaporulatoknál /bár egyes lipoprotein frakció szaporulat esetén is/, de nemcsak adott májműködési zavarok esetén, amelyek a "máj-funkciós" próbákkal tisztázandók, hanem pozitívak lehetnek paraproteinek megjelenése esetén, autoimmunkórképekben, akut lázas betegségekben /pneumonia/ szubakut bakteriális endocarditisben, rheumatooid arthritisen és gammopathiákban egyaránt. /28/

A pozitív kolloid próbákért nem csupán a

gammaglobulinok globális megszorodása a felelős, lévén, hogy magas gammaglobulin szaporulat és negatív kolloid próba nem csak egyéb /pl.: krónikus, gyulladás, tuberculosis, plasmocytoma, carcinoma stb./, de májbetegségekben is előfordulnak: nem ritka az akut hepatitises beteg magas gammaglobulin szaporulattal és negatív kolloid próbával.

Rheumatoid arthritisben pozitív kolloid próba észlelhető 30 % körüli gyakorisággal, ahol a latex próba /Rheuma factor/ pozitívitása lehet felelős a kolloid próba pozitívitásáért.

Valószínű, hogy a gammaglobulinok olyan frakciója adja a pozitív kolloid próbát, amely normális savókban csak nyomokban található meg, májlaesiókban viszont erősen megszorodik.

Bizonyított, hogy DEAE-Sephadex kromatográfiával nyert bizonyos gammaglobulin izolátum egészségesek és májbetegек esetében is kicsapja a kolloid oldatot. Ha az így izolált gammaglobulinhoz tiszta szérumalbumint adnak, a kicsapás nem következik be. Az egészséges és májbetegек széruma között a különbség az, hogy normális szérum esetében már kétszeres mennyiségű albumin elegendő a kicsapás megakadályozására, de májbeteg esetén ehhez ötszörös mennyiség is szükséges. /46/

I m m u n g l o b u l i n o k

Az immunglobulinok ellenanyagok, amelyeket a humorális immunválasz során a plazmasejtek termelnek. Négy polipeptid láncot tartalmazó egységből épülnek fel, a polipeptid láncokból kettő nagyobb molekulasúlyu nehézlánc /H-lánc/, kettő kisebb molekulasúlyu könnyülánc /L-lánc/.

A láncokat diszulfid hidak és nem-kovalens kötések tartják össze. A diszulfid hidak száma és helye immunglobulin osztályonként, illetve alosztályonként egymástól eltérő. /45/

A nehézláncok szerkezete alapján az immunglobulinok /Ig/ öt osztálya különböztethető meg: IgG, IgA, IgM, IgD, IgE. A könnyüláncok két típusa ismert: a kappa / κ / és a lambda / λ /, melyek valamennyi nehézlánc tipussal kapcsolódhatnak, így minden Ig osztályon belül a könnyülánc tipustól függően kappa /K/ és lambda /L/ típus különböztethető meg /pl.: IgAK és IgAL/.

A láncok primer szerkezetére jellemző, hogy az L- és H-láncok C-terminális fele konstans N-terminális fele variábilis aminosav sorrendű. Egy Ig osztályon belül a konstans szekvencián belüli különbségek alapján alosztályok, a variábilis részben található homológiák alapján pedig alcsoportok különböztethetők meg, variábilis molekula

részben belül három olyan régió van, amelyek variabilitása meglehetősen nagy: ezek a hypervariábilis régiók.

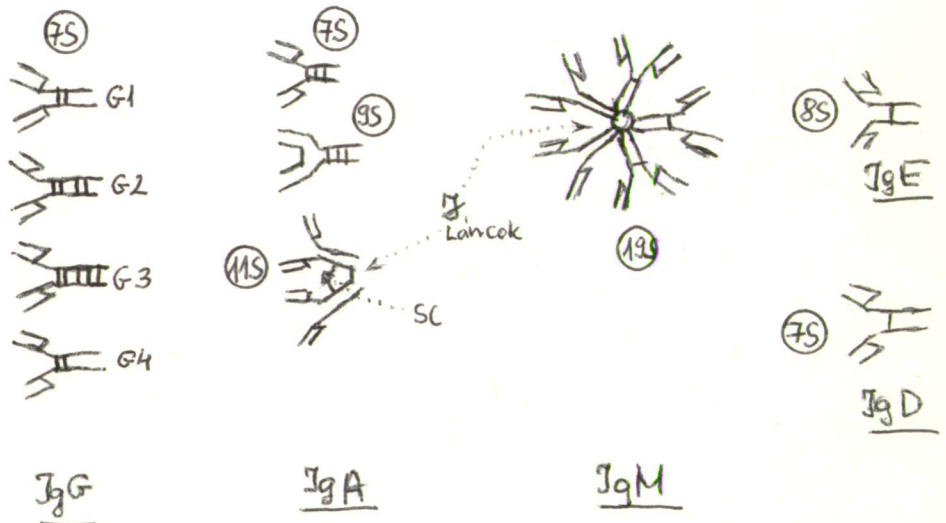
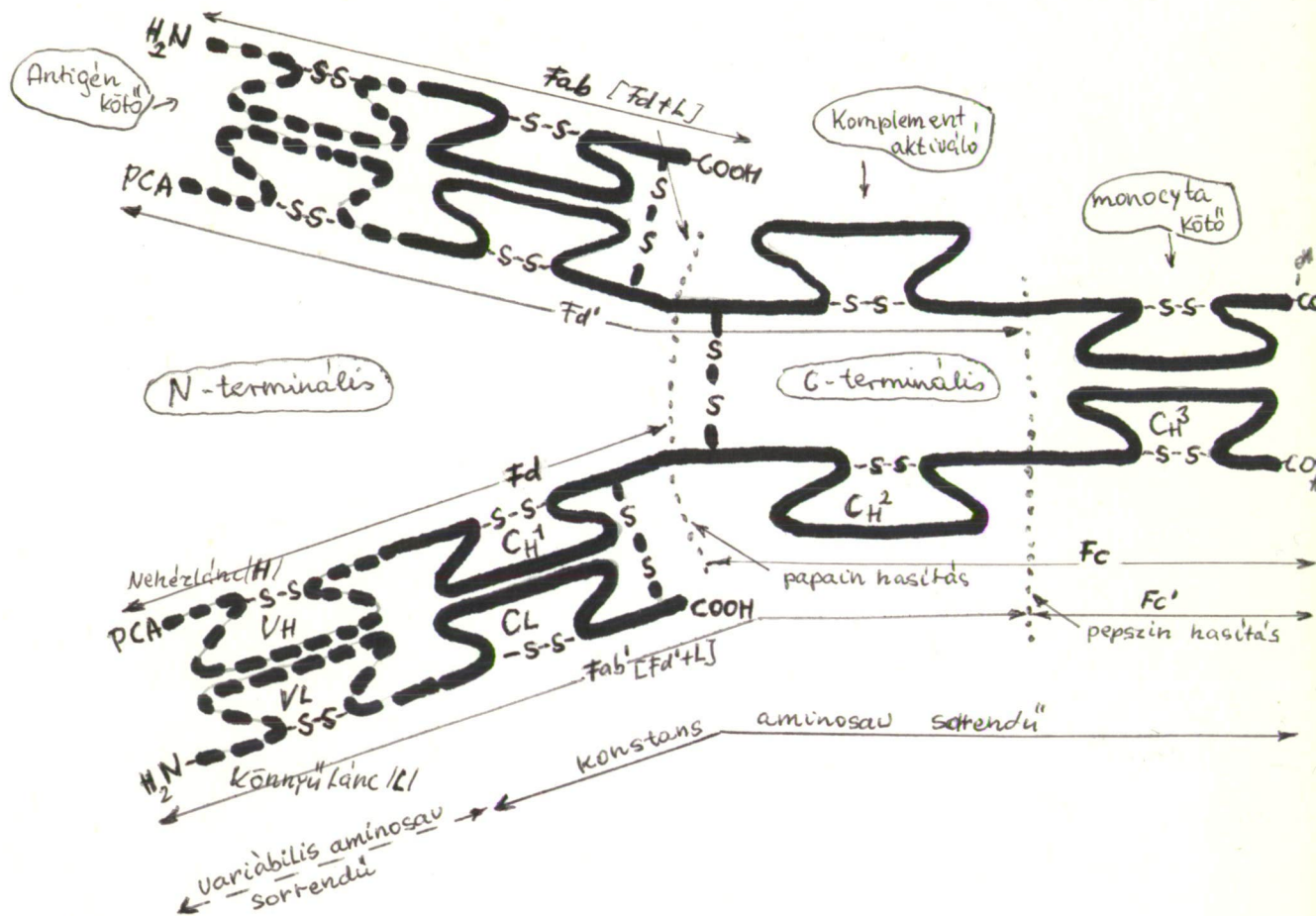
Az immunglobulin molekulák funkcionálisan az immunfolyamatok esszenciális hatói:

- specifikus kapcsolódási képességük van az antigénekkal,
- az antigén-antitest kapcsolódást /immunreakciót/ követő, az antigénre már nem-specifikus effektor folyamatok begerjesztése /pl.: a komplement rendszer aktiválása/.

A kétféle funkciót hordozó molekularészek elválaszthatók pl.: az IgG papin hidrolizise a H-láncokat összekapcsoló diszulfid hidaktól N-terminális irányba következik be, az így keletkező N-terminális fél az Fab hordozza az antigénnel reagáló antigén kötő helyet, és C-terminális felének megfelelően Fc-fragmentum a nem-specifikus folyamatokat begerjesztő csoportokat hordozza. /44/

Az elektroforézissel szétválasztott fehérje frakciók megfelelő sávjai tartalmazzák az immunglobulinokat.

- Az IgG: molekulasúlya 160000, heterogén elektroforetikus mobilitásu, az alpha és a gamma



Az immunglobulinok szerkezete sematikus ábrázolásban.

zónákban fut. Normál szérumszintje: 10-15 g/l. Idetartoznak az antibakteriális ellenanyagok egyrészé, antitoxinok, vírusos ellenanyagok, a leukocyta és a thrombocyta autoantitestek, az inkomplett haemagg-lutininek /anti-D, anti-C, anti-K/, LE faktor stb.

Az IgG nehézlánca: gamma γ /. Szerkezeti képletük $\gamma_2\kappa_2$ és $\gamma_2\lambda_2$ az IgGK 64 % és az IgGL 36 % általában. Az IgG-nek 4 nehézlánc variánsa van, melyek között a diszulfid hidak száma és helye különböző: IgG1 /2 diszulfid hid/, IgG2 /4 diszulfid hid/, IgG3 /5 diszulfid hid/ és IgG4 /2 diszulfid hid az elsőtől eltérő helyzetben/. Az IgG1, IgG3 és az IgG4 sejtaffin receptorrall rendelkezik, az IgG2 nem kötődik a sejtekhez.

- Az IgA: molekulasulya 160000, a lassu béta zónában fut. Normál szérumszintje: 1,1-3,9 g/l. Különböző szekrétumokban /nyál, könny, liquor, anyatej, duodenum stb./ lokális reakciókban résztvevők. Hasonló ellenanyagok hordozója, mint az IgG. Bakteriális agglutininek, antitoxinok, inkomplett anti-D, komplett anti-A, anti-Bnisoagglutininnek stb. Nincs cytophil receptoruk.

Az IgA-nak a nehézlánca: alpha α /. Szerkezeti képlete: monomer formában $\alpha_2\kappa_2$ és $\alpha_2\lambda_2$, valamint polimer formában $\alpha_2\kappa_2 /n$ és $\alpha_2\lambda_2 /n$. Az immun-

globulinok polimer szerkezetének kialakításában egy harmadik polipeptid lánc, a J-lánc vesz részt. /44, 30 / Két alosztálya ismert a nehézlánc molekula típus alapján: IgA1 és IgA2. Az IgA1 kb. 98 %-a az összes szérumban IgA-nak.

- IgM: molekulatömege 800000-950000, a béta és a gamma zónában fut. Normál szérumszintje: 0,7-1,6 g/l. Idetartoznak a komplett isohaemagglutininek, természetes anti-A, anti-B, bakteriális agglutininek, haemolysinek, a krónikus haemolitikus anaemiák eseteiben az anti-I specificitású, a mycoplasma fertőzésekben, a mononucleosis infectiosában átesett egyének szérumban átmenetileg kimutatható hideg haemagglutininek. Az IgG-re ható Rheumatoïd faktor is általában IgM típusú /bizonyos esetekben IgA vagy IgG is lehet/. Az IgM-ek celluláris komponensekre hatnak, így igen hatékony agglutininek, bactericidek, opszoninok, cytolisinek, haemolysinek, szemben az IgG-vel, melyek főleg oldott molekuláris antigénekre /fehérje, toxin, vírus, poliszacharid stb./ hatnak. Általában jellemző, hogy az aktívan immunizáltak azonos specificitású, de különböző osztályokba tartozó immunglobulin termeléssel reagálnak. Az IgM nehézlánca: μ . Két nehézlánc variánsa ismert. Szerkezeti képletek pentamer formában: $\mu_2\mu_2/5$ és $\mu_2\lambda_2/5$

- Az IgD:molekulasulya 175000-180000. A gyors gamma zónában fut. Normál szérumszintje: 0,015-0,03 g/l. Súlyos Sterptococcus fertőzésekben az IgD szintje a normál érték százszorosára is nőhet.

Nehézlánca a delta / δ /, szerkezeti képlete:

$\delta_2\kappa_2$ és $\delta_2\lambda_2$.

- Az IgE: molekulasulya 185000, a gamma zónában fut. Normál szérumszintje 0,0001-0,0004 g/l. A korai típusú allergiás reakciókért felelős reaginok hor-dozói. Fc molekula részével képes kötődni a szövetek-hez, N-terminális része reagál az allergénnel, mi-közben felszabadítja a mediátor anyagokat. Növekszik az IgE szint parazitás fertőzésekben.

Nehézlánca az epsilon / ϵ /, szerkezeti képlete:

$\epsilon_2\kappa_2$ és $\epsilon_2\lambda_2$.

Az immunapparat barmely pontjának rendelle-nes működése az immunválasz zavarát okozza. Az im-munválasz betegségeit két csoportra osztjuk.

I./ Bizonyos antigének hatására az egészséges immunrendszer fiziológiás módon reagál és ezek a re-akciók okoznak betegségeket /allergiás betegségek/.

II./ Maga az immunrendszer betegszik meg:

1./ Ellenanyag hiányos állapot: a humorális immunvá-lasz hiányzik.

2./ Autoimmunbetegségek: olyan humorális ellenanya-

gok szaporodnak fel, amelyek a szervezet saját sejtjeit vagy antigénjeit károsítják.

3./ Monoclonális gammopathiák /paraproteinaemiák/:
lymphoid vagy plazmasejtek kóros burjánzása, aminek következtében kóros immunglobulinok szaporodnak fel.

Monoclonális gammopathiák

Az immunszisztéma paraproteinaemiával járó elváltozása régóta ismert. A malignusan burjánzó immunocyta clonok által termelt fehérjék a paraproteinek, amelyek benignus és malignus formában jelentkezhetnek.

Általában a kóros immunglobulinok megjelenése és mennyiségének növekedése a normál immunglobulin szint csökkenésével jár. Valószínű ez a tény felhasználható arra, hogy általában megítéljük a benignus illetve malignus eseteket. Malignus esetekben a normális immunglobulin szint el is tűnhet, míg benignus esetekben a normális immunglobulin szintek az egészségesek értékszintjét tartják.

Benignus monoclonális gammopathia az az általában gyorsult süllyedéssel járó, egyébként tünetmentes állapot, ahol a szérum plazmából paraprotein mutatható ki.

Vannak esetek, amelyekben az élet folyamán nem változik, de zömében lassan kialakuló plasmocytomának, vagy más malignus betegségnek bizonyul, mint a plasmocytoma extramedulláris alakja, pl. az orr-garat, a gyomor, a bél, a vese, az ovárium, a here, a pajzsmirigy vagy a kemény agyburok izolált, nem infiltráló, sokáig nem változó plasmocytomája, mely később

a plasmocytoma tipusos képét öltheti, vagy mint a solitaer intramedulláris plasmocytoma, amely évtizedekig intramedulláris gócos elváltozás maradhat küros immunglobulin fokozott szaporulata nélkül./28/

A malignus gammopathia típusa a plasmocytoma, amely progresszív csont-destructio, a plasma-sejtek daganatos proliferációja következtében. Monoclonális, ritkábban biclonális gammopathia.

Gyengeséggel, általános panaszokkal, néha rheumás fájdalokkal vagy csont fájdalokkal kezdődő betegség: fogyás, fáradtság, övszerű fájdalom, láz, lumbago, dyspnoe, neuralgia, a csontokra lokalizálódó formákban spontán fraktura, gyomor-bél panaszok, reuma, nyugtalanság, izzadás, meghűlés, szomjuság, vérzések /bőr, nyálkahártya/, ischiás, csontduzzanat, paraesthesia, szédülés, bőrkiütés, fejfájás, végtagfájdalom fordulnak elő a panaszok gyakorisága sorrendjében.

Tünetei: a diagnosis felállításakor: sápadtság, osteoporosis, csontérzékenység, hepatomegalia, koponya-, csigolya-, medence-, borda- és más csontok osteolysise /jellemzően a proximaltól a distal felé halad a csontelváltozás/, ritkábban osteoclerosist is leírtak, tüdő elváltozás, pleuritis, lymphadenopathia, kreol bőr, a bőr enyhe pigmentációja, epipharingx tumor, bőrelváltozások, anaemia, vesebántalom.

A plasmocytoma időben történő diagnózis akadályai: panaszaikkal indilensek, rheumásként kezelik, öregek, nem jár alarmizáló panaszokkal, észrevétlen alakul ki, orvos ritkán gondol plasmocytomára, a klinikum tünetszegény, megtévesztő tünetei vannak, melyeket sok más betegség csoport magába foglalhat. /16/

Ezek alapján épp a klinikai laboratorium, a szűrővizsgálatok felelősségteljes feladata észrevételezni azt a prognosztikus jelet, amely egy egyszerű laboratoriumi szűrővizsgálat elvégzése mellett, annak minőségi értelmezését követeli az elektroforézis vizsgálatában /13,14/, amelyben kialakult plasmocytoma esetén M-gradiens észlelhető a nagy mennyiségben jelenlévő paraprotein megnyilvánulásaként. Ez okozza a hyperproteinaemiát, így extrémén fokozott vérsejtsüllyedést. A süllyedés akkor is fokozott lehet, ha mérsékelt a paraproteinszint emelkedése.

Általában gyakori a Bence Jones proteinuria. A laboratoriumi eredmények között a perifériás vérkenet nem mindig jellemző, de lehet kifejező: fvs: 4000 körüli /normális lehet, de a csontvelő infiltrációja miatt gyakori a granulocytopaenia/, pseudoagglutináció, a plasmasejtek megjelenése a perifériás kenetben diagnosztikus értékű.

A csontvelő vizsgálat alapján 20-25 % relatív méretű plasmocytosis /40 %/, de megtévesztően normál eredményt is adhat a csontvelő gócos infiltrációja miatt. Lehet tipusos plasmasejt felszaporodás 60 %-ban is. Jellemző a plasmoblastok, praeplas-mocyták, többmagvu plasmasejtek.

Előforduló gyakori associációk:

1./ A monoclonális és multiclónális gammopathiák tumor lefolyása is ismeretes: a reticulumsejtek tumoros burjánzása alakul ki és reticulosarcoma ke-letkezik.

2./ A monoclonális gammopathiák számos beteg-séggel szövődhetnek: rheumatoid arthritissel, prima-er polycythaemiával, Kaposi sarcomával, myeloblastos leukémiával stb.

A benignus monoclonális gammopathia és a primer hy-perparathyreosis együttes előfordulása is ismert, épp ezért feltétlenül indokolt minden hypercalcaemi-ás beteg szérum elektroforézise. /53/

Vannak esetek, melyekben domináló jelenség a sóvesztés, máskor a gyomor-bél tractus megbetegedése.

Capnal-tunnel syndroma myeloma által okozott esetei is ismeretesek.

3./ A plasmocytoma igen gyakran jár amyloido-sissal. Az amyloid immunglobulin eredete nem kétsé-ges. /18,4/

A monoclonális gammopáthiákat gyakran kísérő

amyloid fehérje homogén könnyű lánc, /37/ vagy annak variábilis szakasza /VL/. A legkülönbözőbb szervekben paramyloid formában rakódik le /38,41/. A lerakódott protein és poliszacharid tartalmu anyag fénymikroszkóppal amorf, eosinophil, keményítő-szerű depositum, elektronmikroszkóppal jellemző fibrillumok. A szervek megbetegedését okozzák. Tünetei az oedemán kívül a nyelvben a macroglosia, a szív amyloidosisának megfelelő digitálisszal nem befolyásolható keringési elégtelenség, hasmenés, maladsorpciós syndroma, perifériás és központi idegrendszeri zavar, lymphadenopathia, lépnyagobbodás. A diffus amyloidosis a bőrön papullákat, az ízületekben polyarthritises panaszokat, a gégében rekedtséget, a nyelvcsőben nyelési nehézséget, a vesében nephrosist okoz.

Az amyloidosisra jellemző a Bence Jones protein a szérumban, az urinában, gyakran essentiális M-proteinaemia asszociációval.

4./ Az IgM-nek megfelelő M-grádiens esete:

Waldenström-féle macroglobulinaemia, a vérben lymphocytosissal, lymphoid burjánzással a nyirokcsomókban, csontvelőben, májban, lépben.

A kórképet a nyirokcsomó nagyobbodások, hepatosplenomegália és a jellemző elektroforésis lelet diagnosztizálja. Általában ötven éves életkor körül jelentkezik, súlyossága a gammopáthia súlyosságától függ.

Vannak évtizedekig tartó jóindulatu esetek, melyekben csak lymphoid reticulosus található és kevés macroglobulin /paraprotein/.

A súlyos esetek nagyfoku macroglobulinaemiával járnak és sarcomába mehetnek át.

A macroglobulinaemia tüneti jelenség is lehet, egészséges egyén vére tartalmazza igen kis mennyiségben, de jóval több található tumorokban, autoimmunbetegségben, májcirrhosisban, amyloidosisban, krónikus infectiókban.

A z M - p r o t e i n a e m i a :
a p a r a p r o t e i n e k

1./ Az M-proteinaemia definíciója és szinonimái:

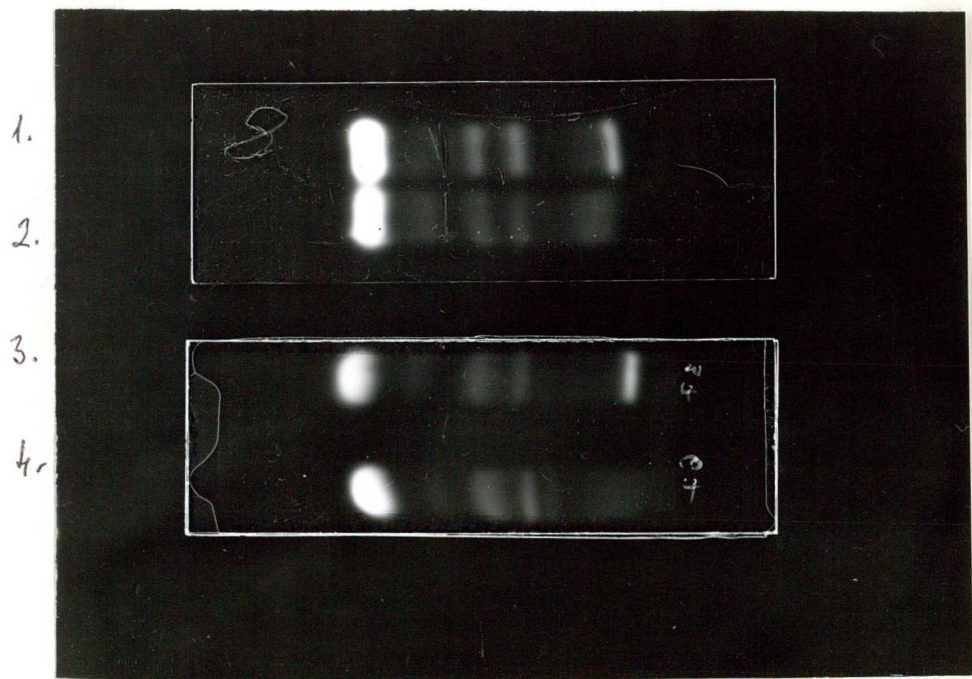
A normál immunglobulinok mindegyik osztálya a molekuláris variabilitás meglehetősen folytonos spektrumát mutatja, amelyet a jellemző elektroforetikus heterogenitás tükröz.

Az immunglobulin-termelő sejtek egy klonja a nehéz- és a könnyüláncoknak csak egy variánsát produkálja, ezeket nevezzük általánosan "monoclonális immunglobulinoknak". Egyfajta monoclonális immunglobulin kellő szaporulata elektroforetikusan egy homogén tömör sávban /fókuszált sáv, M-gradiens/ vagy egy különálló csucsban jelentkezik.

A monoclonális immunglobulinok neve: M-protein, M-frakció, M-komponens, paraprotein, M-gradiens.

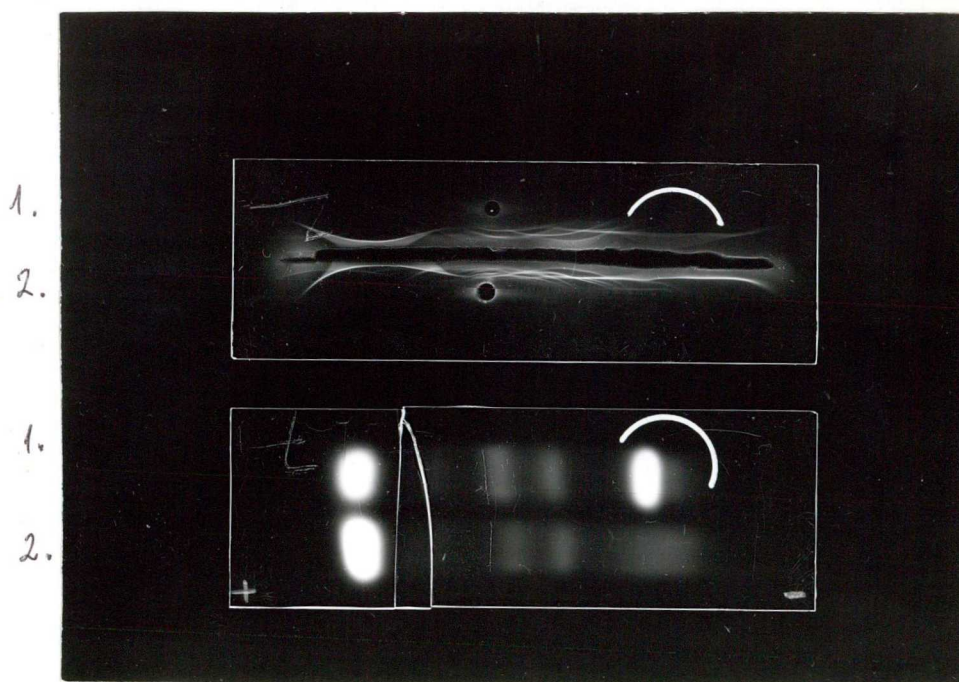
Az M jelentése a myeloma vagy makroglobulinaemia kezdő betűjéből ered, jelölve azt a kóros proteint, amely ezekben a betegségekben igen nagy mennyiségben felszaporodik és agar, papír, cellulózacetát elektroforézisben jellemző M-gradienst, az immunoelektroforézis képen pedig M-törést ad.

A WHO /1964/ az M-proteineket patológiás immunglobulinoknak /P.Ig/ nevezi /45/, melyek abnormálisan burjánzó immunocyta klónok homogén populációi és mind a nehéz-, mind a könnyüláncok tekintetében egyetlen immunokémiai populációba sorolhatók. Ez az oka fizikai-kémiai,



Szérum fehérje elektroforézis

- a felső tárgylemezen: agar gélben,
 - az alsó két tárgylemez között paraffin olajjal átlátszóvá tett cellulózacetát membrán hordozón.
- A frakciókban az M-grádiens /1. és 3-as beteg/ mind a két hordozón igen jól észlelhető: jellemző homogén tömör "fókuszált" sávként a gamma zónában.



Szérum elektroforézis és immunoeléktroforézis párhuzamos futtatásban:

2. beteg: normál szérum fehérje frakció megoszlás

1. beteg: az elektroforézis képen: nagy mennyiségben lévő patológiás immunglobulin M-grádiense, amely az immunoeléktroforézis képen az IgG precipitációs vonal monoclonális szaporulata szimmetrikusan bemosódó szakaszban M-törést ad.

immunokémiai homogenitásuknak. Hazai vonatkozásban az M-proteinek paraprotein néven váltak ismertté./36/

Az M-proteineket az immunglobulinok kóros variánsainak tartják, mert a megfelelő immunokémiai populáció egyes antigén-determináns csoportjait nem tartalmazza, ugyanakkor individuális antigéneket is mutat ki bennük./4/

Általában ellenanyag-aktivitással nem rendelkeznek.

Vannak olyan M-proteineket tartalmazó esetek, ahol az erősen csökkent ellenanyagszint mellett valamely ellenanyag titer kiugróan magas érték. Bizonyított, hogy ezek az extrémén magas ellenanyag titerek felelősek az M-proteinekért.

Extrémén magas Salm. Typhi O agglutinin titerű paraproteinaemiás szérumban a beteg IgAL típusu paraproteinje azonosnak bizonyult a Salm. Typhi O agglutinin titerért felelős fehérjével.

A magas Staphylococcus alpha-antitoxin tartalmu IgGK paraproteinaemiás szérumban a Staphylococcus alpha-antitoxin ellenes ellenanyag hordozója maga az IgGK paraprotein. Ezek az ellenanyag hatásu paraproteinek bizonyítják, hogy az M-proteinek a fiziológiásan kis mennyiségben meglévő immunglobulinok homogén extrém szaporulatai. /26/

Az M-proteineamia definíciója: azok a patológiás állapotok, ahol M-protein van jelen a vérben vagy más testnedvekben.

Waldenström óta /51/ monoclonális gammopáthiák elnevezés alatt terjedt el. A monoclonális gammopáthiák alatt gyakran monoclonális hyper-gammaglobulinaemiát értenek a klinikusok, ezért exaktabb az M-proteínaemia elnevezés, mert széles körben foglalja magában az immunglobulin-szintek különféle változásaival együtt az M-proteinek jelenlétét.

2./ Az M-proteinek pathogenesisise

Egyetlen sejtvonal ellenanyag molekulái egy antigénnel szemben termelődnek. Egy monospecifikus természetű normál ellenanyag a megfelelő M-proteinhez nagyon hasonló. Bár az M-proteinek pathologikusak, ez nem bizonyítja az M-proteinek teljes abnormalitását.

Egyetlen antigén stimuláció számos esetben policlonális immunglobulint termel. A myeloma multiplex immunglobulin-termelő sejtjei egyetlen klónja ismeretlen etiológiájú tumoros proliferációt mutat.

Más állapotokat kísérő M-proteínaemia is ismeretlen pathogenesisű.

A kórosan burjánzó immunocyta klónok által termelt M-proteinek KIALAKULÁSÁRA többféle csoportok megfigyelését írták le /52/ a következő klinikai körülményekkel:

a./ A polyclonális proliferációból egy monoclonális proliferációba való átalakulás.

Egy Hodgkin-kór kapcsán írták le: a polyclonális hyper-

immunglobulinaemiát hypogammaglobulinaemia követte, amely a halál előtt M-proteinaemiába fejlődött át. A polyclonális abnormalitás változásai monoclonálisba teljesen különböző patológiák lehetnek. Az immunglobulin-termelő szövetek, amelyek normál reaktivitásuk a polyclonális proliferáció alatt, kontroll mechanizmusukat elvesztve egy ponton átfejlődnek a monoclonális proliferációba.

Hasonló patológiás történések figyelhetők meg a kísérletes késleltetett szenzitizálás kimerülési fejlődési szakaszában és kísérletes myelomákban egerekben.

b./ Az L-típusú IgG globulin-túlsúlya

Rákos betegekben, ahol szabad könnyűlánc komponens nem mutatható ki, nagyfokú IgG szaporulat észlelhető az L típusú túlsúlyával, amely az immunoelektroforetikus képen az IgG precipitációs vonal katodikus végén kötődött. Ez egy átmeneti állapot a polyclonális és a monoclonális rendellenesség között. Bizonyítható, hogy az ellenanyag termelés targetje itt a tumoros sejt antigének.

c./ Az M-proteinaemia visszafejlődése.

Bizonyos esetekben kezelés hatására a primer betegség gyógyulása során a jelenlévő M-proteinek eltűnnek. Itt a polyclonális és a monoclonális abnormalitásoknak hasonló pathogenesise lehet. Ezt a benyomást keltheti az essentiális M-proteinaemia és a hyperimmunglobulinaemia együttes előfordulása.

Essentiális M-proteinaemiával járó betegség csoportok:

I./ csoport: Primer reticuláris abnormalitásokban:

- lymphoproliferatív rendellenességekben /reticulosarcoma, Hodgkin-betegség stb./
- myeloproliferatív rendellenesség /myelogén leukémia, myelofibrosis stb./
- immundeficienciák /Gitlin syndroma/

II./ csoport: Rendszerint polyclonális hyper-immunoglobulinaemiás betegségek:

- carcinomák /rectum, esophagus, stomachus stb./
- autoimmun betegségek /rheumatoid arthritis, Hashimoto betegség stb./
- légzési tractus infectiói /tuberculosis, gangraena pulmonis stb./
- hepato-biliáris betegségek /májcirrhosis, hepatitis stb./
- vese-betegségek /kronikus nephritis, pyelonephritis stb./
- systemás amyloidosis
- Weil-syndroma

III./ csoport: Betegségek, amelyek rendszerint nem függenek össze a reticuláris abnormalitásokkal:

- cardiovasculáris betegségek /hypertensio, apoplexia, myocardiális infarctus stb./
- diabetes mellitus
- emésztő tractus betegségei /gyomorfekély, gastritis/
- vér-betegségek /Vas-deficiencia, thrombocytopaenia/
- hangszál-polip
- prostata hypertrophia
- osteomalacia

d./ Az életkor előrehaladásával az M-proteinaemia gyakorisága nő.

Valamilyen úton a reticuláris szövet instabilitása fokozódik az öregedéssel.

e./ Az M-proteinaemia familiáris előfordulása.

Több esetben familiáris előfordulást irtak le normál hematológiai lelettel és essentiális M-proteinaemia diagnosissal, polyclonális hyperimmunglobulinaemia nélkül.

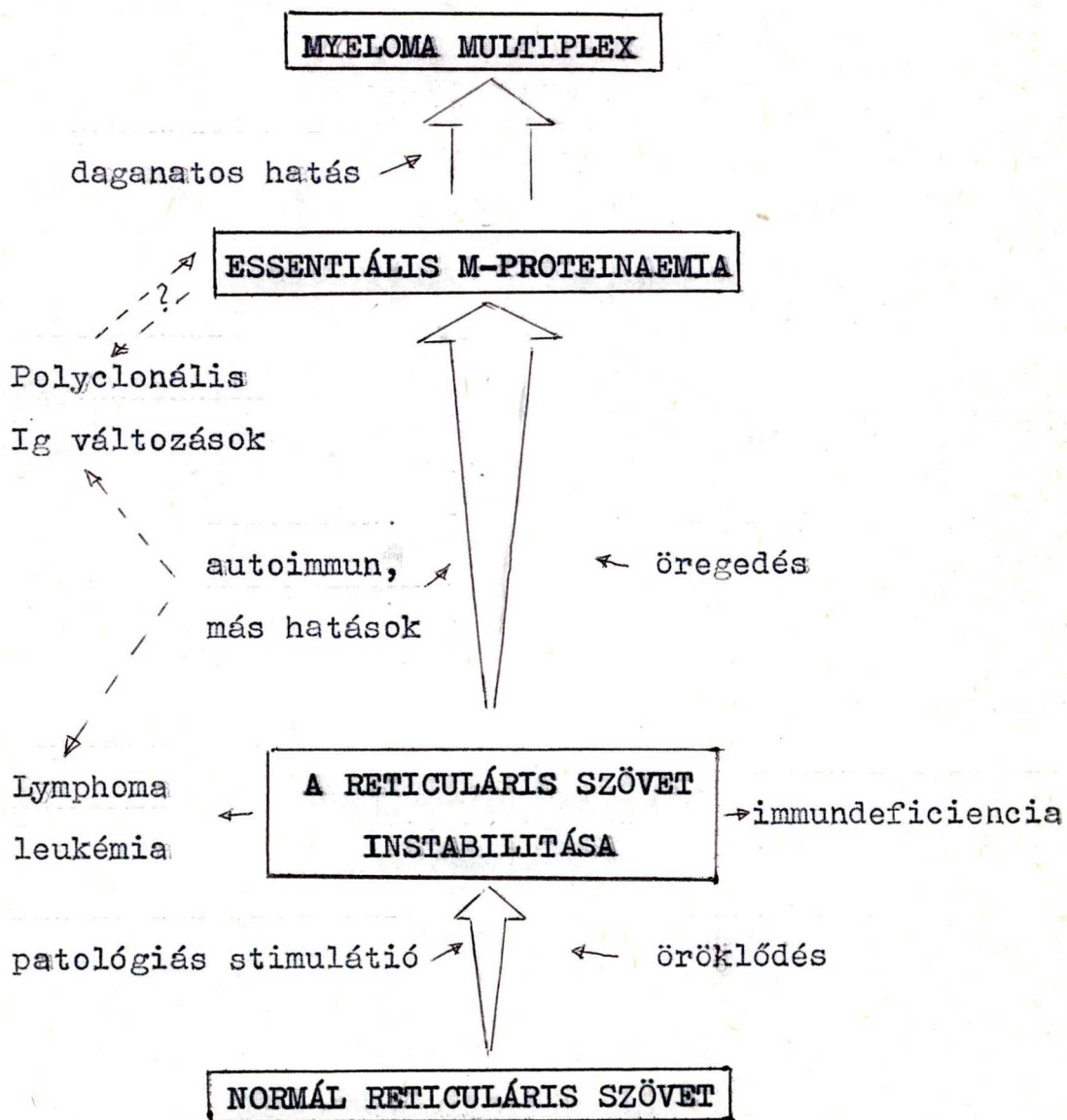
Pl.: apa: plasma-sejtes leukémia IgM-típusu M-proteinaemia
fia: IgM típusu M-proteinaemia

f./ Legalább két fajta M-protein jelenléte.

Gyakran autoimmun betegségekből, malignus lymphomákban agaróz gél elektroforézissel a gamma zónában több, kisebb M-gradienst mutattak ki. Az immunglobulin-termelő sejtek instabilitásának eredménye lehet. Egyszerre vagy egymást követően több immunocyta malignizálódik, a malignus sejtek több fajta paraprotein képzésre képesek. Ezek a multiclonális vagy oligoclonális paraproteinek elektroforetikus mobilitás, antigenitás, molekula nagyság tekintetében több populációban különülnek el.

g./ Essentiális formából a tumoros formába való átalakulás.

Számos essentiális M-proteinaemiát irtak le, amely hosszú idő /több mint 10 év/ alatt myeloma multiplex-be fejlődött át.



Az M-proteinaemia pathogenesisének hipotetikus diagramja
Tadashi Kawai nyomán.

3./ Az M-proteinek jelenléte okozta változások a vérben és más testnedvekben.

Az M-proteinek bizonyos, a normál immunglobulinoktól eltérő tulajdonságokkal /abnormális aggregáció, abnormális szolubilitás, az M-proteinek és más plasma-proteinek közötti abnormális interakciók/ rendelkeznek, amelyek jellemző elváltozásokat okoznak az M-proteinaemiás páciensek vérében és testnedveiben.

a./ Molekuláris aggregáció

Számos M-protein rendelkezik molekuláris aggregációval. Ez tipusos változásokat okoz a vérben:

- az erythrocyták pénztekercsképződését, amely különbözik az immunológiai haemagglutinációtól, és mindig asszociál a vérsejtsüllyedés gyorsulásával,
- a vérsejtsüllyedés növekedését, amely szignifikans M-proteinaemiában igen jelentősen gyorsul,
- a szérum viszkozitásának növekedését, amely az M-protein koncentrációjával exponenciálisan növekszik. Ez eredményezi a "hyperviszkozitási szindrómát" jellemző klinikai tünetekkel: thrombocytopaemia nélküli orr- és nyálkahártya vérzések, retinális változások: a viszerek kolbász-szerű kitágulása haemorrhagiával és papilloedemiával; neurológiai jelek: abnormál EEG, szédülés, görcsroham, rángatózás, szemtekezés, abnormál testtartás; cardiális jelek: pangásos szív elégtelenség; étvágytalanság és fáradékonyság.

Rendkívüli esetekben "coma paraproteinemicum"-ot okoz.

- az elektroforézis képen hullámos /fodros/_sávot okoz,

Ez főleg az IgG típusu M-proteinaemiában jellemző cellulózacetát elektroforézisben.

- a plazmasejteken az endoplasmás reticulum durva felszíni cystáinak a kitágulását.

b./ Abnormális szolubilitás

Az M-proteinek abnormális szolubilitása eredményezi az

- abnormális kollóid reakciókat, bár ez gyakran pozitív polyclonális hyperimmunglobulinaemiánál is.

- az abnormális szérum gél reakciókat, amely során abnormális szolubilitás észlelhető a különböző organikus és anorganikus oldószerekben.

- a pozitív víz higitási tesztet, a Sia teszt pozitivitását, melynek alapja az a tény, hogy a szérum euglobulinok nem oldódnak a vízben: kb. 5 ml CO₂ mentes vízben néhány csepp szérumot cseppentve durva flokuláció áll elő. Bár ez sem specifikus reakció az M-proteinekre.

- a cryoprecipitációt.

A normál szérum makroszkópikus változást nem mutat széles hőmérsékletű intervallumban sem. Az M-proteinek sok esetében 0-4°C-on cryoprecipitáció, cryogelatio

áll elő, amely újra feloldódik 37 °C-on.

Ismerünk cryofibrinogént, de a többi cryoprotein abnormális immunglobulin. Az immunglobulin-fragmentek közül csak cryo-Bence Jonest irtak le.

Főleg monoclonális IgG és IgM, ritkábban monoclonális IgA típusúak. A kevert cryoglobulinok esete sem ritka, amelyek főleg multiclónális eredetűek:

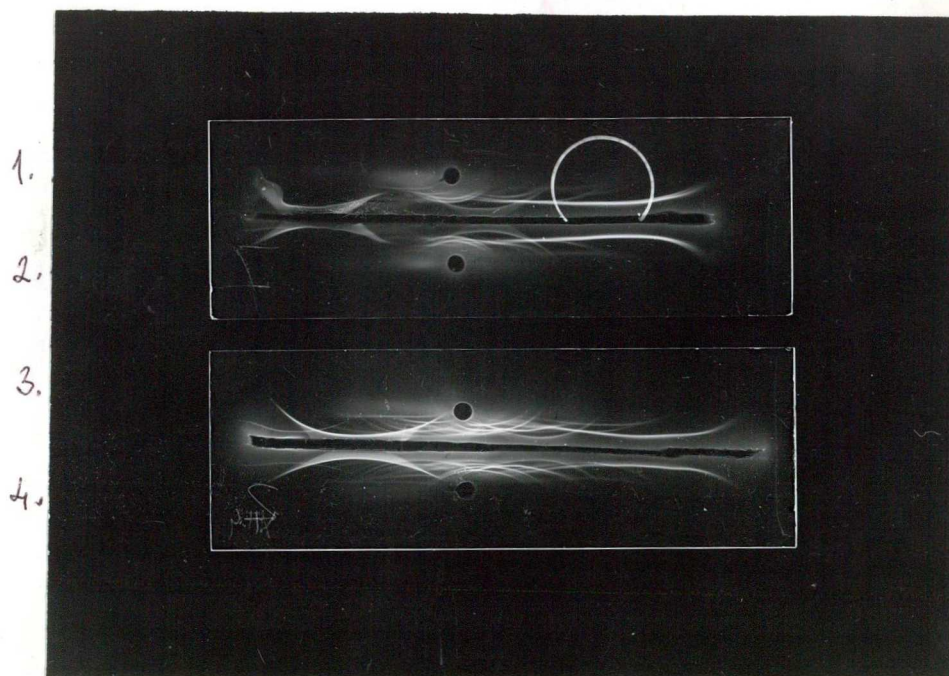
pl.: IgG + IgM; IgG + IgA; IgG + IgA + IgM;
IgG + IgM + complement; IgG IgM_{alpha} 2 M ; Ig + lipoproteinek.

A kevert cryoglobulinaemiákban egy immunglobulin M-protein jellegű, a többi nem szükségszerűen monoclonális, de cryoprecipitálhatóság csak akkor áll elő, ha minden komponens jelen van.

A cryoprecipitálhatóság függ a protein koncentrációjától és befolyásolható a pH /2, /, az ionerősség, az urea koncentráció variálásával.

A cryo-Bence Jones protein hőmérséklet és viszkozitás közötti összefüggéséből, mely alapján növekvő viszkozitással és csökkenő hőmérséklettel fokozódik a molekuláris aggregáció, a felületi potenciál, konformáció és a hydrophil karakter megváltozása következik.

A cryoglobulinaemia lehet essentiális, de legtöbb M-proteinaemiás esetben fennáll a tüneti cryoglobulinaemia: plasmocytoma, primer macroglobulinaemia, malignus lymphomák, reticulosis, periarteritis nodosa,



Szérum fehérje immunelektroforézis:

Az 1. beteg immunelektroforézis képében az IgG-IgA-IgM precipitációs vonalak által leírt mezőben az IgA és IgM vonalakat metszi egy járulékos szimmetrikus precipitációs ív, amely felelős a kevert típusu cryoglobulinért.

systemás lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, Sjögren syndroma, májcirrhosis, sarcoidosis, ankylosis spondilitis, haemolytikus anaemia, subacute bacteriális endocarditis, lepra syphilis, mononucleosis infectiosa, acute glomerulonephritis, kala azar, purpura.

A cryoglobulinaemia a Raynaud-syndromához hasonló perifériás vértelenséggel járhat, melyet a kisartériák eltömeszelődése okoz a hideg hatására kicsapódó cryoglobulin következményeként. Az orrhegy és az ujjak elfehérednek és cyanotikussá válnak. /28 /

- Hő koaguláció és pyroglobulinok

A normál szérum 60 °C-on 30 perc alatt nem mutat fehérje kicsapódást. Vannak patológiás immunglobulinok, amelyek hőkezelés /56 °C, 30 perc/ hatására könnyen kicsapódnak. Ezek a pyroglobulinok. A pyroglobulinokat tartalmazó szérumok inaktiváció során irreverzibilis, fehér kocsonyaszerű koagulációt produkálnak.

A pyroglobulin az a patológiás globulin, amely irreverzibilisen koagulál 37 °C és 60 °C közötti hőmérsékleten.

A pyroglobulinok rendszerint a gamma mezőben vándorolnak, gyakran a lassu gamma zónában, és jellemző fodros sávot okoznak a cellulózacetát elektroforézisben. Legtöbbször IgG típusuak, de IgA és IgM típusu is ismert.

A pyroglobulinaemia gyakori myeloma multiplexben, de igen ritka essentiális M-proteinaemiában vagy M-proteinaemia nélküli esetekben.

A pyroglobulinaemia számos esetében fokozott a viszkozitás.

A Bence Jones protein hő hatására koagulálódik ugyan 56 - 60 °C körül, de reverzibilisen feloldódik, ha 60 °C fölé emeljük a hőmérsékletet, egészen forrásig, és lehűtve is szolubilissá válik.

c./ Az M-proteinek más plasma-proteinekkal és plasma-komponensekkel abnormális interakcióba lépnek.

Számos esetben az M-proteinek speciálisan az IgA és IgM típusúak kötődnek a normál szérum protein komponensekkel pl.: albumin, haptoglobin, alacsony denzitású lipoproteinek és α_1 -glycoproteinek.

A véralvadási faktorok is egyesülnek az M-proteinekkal, pl.: fibrinogén, prothombin, faktor V, faktor VIII. stb. Ez gyakran okoz alvadási zavart.

A komplement faktorok szintén kötődnek az M-proteinekhez és ez okozhat antikomplementer hatást.

Nem protein természetű véralkotók is kötődhetnek az M-proteinekhez pl.: heparin, calcium ion, réz ion stb. Ha a keringő vérben a heparin kötődik az M-proteinekhez, a post-heparin lypolyticus aktivitás /PHLA/ alacsonnyá válik és hyperlipidemia áll elő.

Ha kötődik a Calciummal vagy a rézionnal, hypercalcaemia vagy hypercupremia áll elő.

A Bence Jones protein számos szérumbelval kö-
tődik és így a különböző szövetekhez.

A Bence Jones protein precipitálódik a vese tubulusok-
ban, epitheliális degenerációt okozva.

Az M-protein és alacsony denzitású lipoprotein is
precipitálódik a glomeruláris basális membránhoz ti-
pusos nephroticus szindrómát okozva.

A szöveti glycoproteinek és az M-proteinek kö-
zötti interakció által amyloid képződhet.

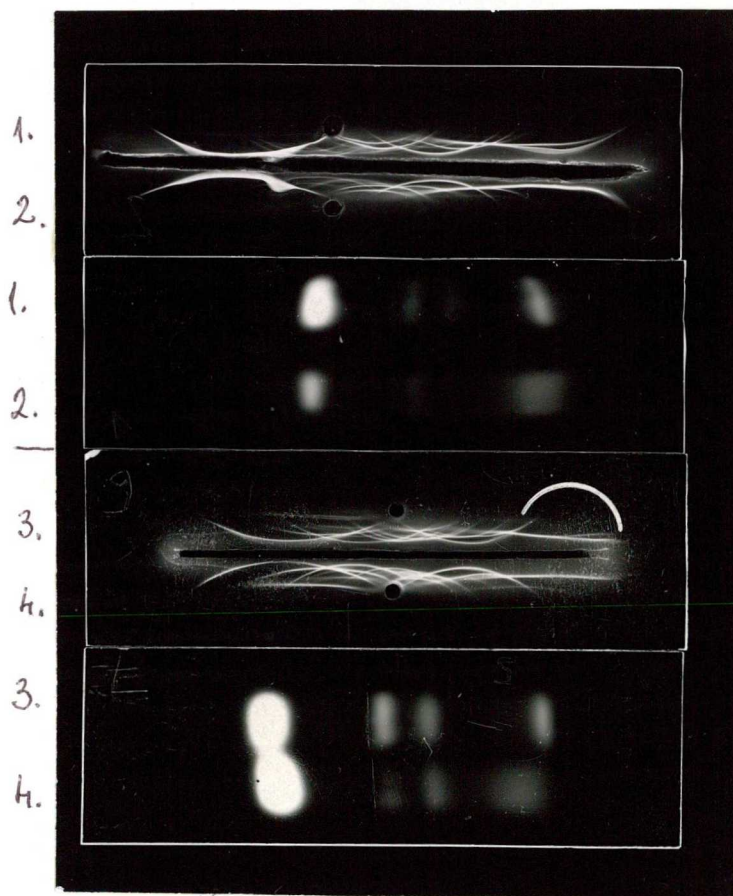
Az amyloid kb. 42 % insolubilis proteint tartalmaz,
és solubilis protein komponensként komplement és plas-
ma protein komponenseket pl.: Immunglobulinokat, lipo-
proteint, fibrinogént stb. eredményezve az amyloid de-
positumokat a különböző szervekben. [37]

4./ Az M-proteinek osztályozása és jellemzése

Szerkezeti felépítésük alapján az immunglobuli-
nokhoz hasonlóan két nehéz- és két könnyűláncból épül-
nek fel.

Fizikai-kémiai és immunokémiai homogenitásuk abból
erred, hogy a két könnyűlánc azonosítható vagy a
kappa vagy a lambda könnyűláncsal és a nehézláncok is
megfelelnek valamely Ig alosztálynak.

Így ismerünk immunglobulin osztályokba besorolható
M-proteineket, de csak immunglobulin-lánc fragmente-
kettartalmazókat is.



Szérum fehérje elektroforézis és immunelektroforézis párhuzamos futtatásban.

Az elektroforetikus képen az M-gradiens /1. és 3. beteg/
az immunelektroforetikus képen a megfelelő M-törést,
kettőzött precipitációs ívet adja /1. és 3. beteg/

Felosztásuk a következő:

a./ Nehéz- és könnyüláncot egyaránt tartalmazó

M-proteinek:

IgG	tipusu	M-protein	
IgA	- " -	- " -	
IgM	- " -	- " -	/vagy 19 S IgM típus/
IgD	- " -	- " -	
IgE	- " -	- " -	
7S IgM	- " -	- " -	
félmolekula IgG	- " -	- " -	/egy H-lánc és egy L-lánc

b./ Immunglobulin fragmentekből álló M-proteinek

Csak nehéz-láncot tartalmazók: gamma típusu M-proteinek

alpha "

mu "

Csak könnyüláncot tartalmazók: Bence Jones protein.

a./ A nehéz- és könnyüláncot egyaránt tartalmazó

M-proteinek

Ezek az immunglobulin osztályoknak megfelelő paraproteinek.

Az immunglobulin osztályoknak, illetve alosztályoknak megfelelően létező paraprotein variánsok:

IgG-nek 8 variánsa, IgA-nak 4 variánsa, IgM-nek 4 variánsa, IgD-nek 2 variánsa, IgE-nek 2 variánsa létezik.

Az osztályok lehetséges paraprotein variánsai szerkezeti képletük alapján:

IgG osztály:	$\gamma_1/2\kappa_2$	$\gamma_1/2\lambda_2$
	$\gamma_2/2\kappa_2$	$\gamma_2/2\lambda_2$
	$\gamma_3/2\kappa_2$	$\gamma_3/2\lambda_2$
	$\gamma_4/2\kappa_2$	$\gamma_4/2\lambda_2$
IgA osztály:	$\alpha_1/2\kappa_2$	$\alpha_1/2\lambda_2$
	$\alpha_2/2\kappa_2$	$\alpha_2/2\lambda_2$
IgM osztály:	$\mu_1/2\kappa_2$	$\mu_1/2\lambda_2$
	$\mu_2/2\kappa_2$	$\mu_2/2\lambda_2$
IgD osztály:	$\delta_2\kappa_2$	$\delta_2\lambda_2$
IgE osztály:	$\epsilon_2\kappa_2$	$\epsilon_2\lambda_2$

Az IgG típusu M-proteinek:

Az elektroforézis során igen éles sávban jelentkeznek az α_2 és gamma zónákban.

Az IgG paraproteinek nehézlánc alosztály típusa meghatározható papain és tripszin érzékenyséjük alapján.

IgG1 és IgG3 papain érzékenyek, IgG2 és IgG4 papain rezisztensek. Tripszin hatására IgG1 hasítási termékei: Fab, Fc és Fd, az IgG2 csak kismértékben emészthető.

Az IgG típusu paraproteinek főleg IgG1 típusúak /70-80 %-ban/, az IgG2 típusu 15 %.

Legtöbb IgG paraprotein ellenanyag aktivitással nem rendelkezik. Azonban leírtak IgG típusu M-proteineket, amelyek rendelkeznek bizonyos ellenanyag aktivitással:

Anti-béta-lipoprotein aktivitással, **anti-albumin** aktivitással, sőt előfordult 2,4 - dinitrophenyl-haptén ellenes aktivitással rendelkező is stb.

Bizonyított, hogy ez a specifikus ellenanyag aktivitás az Fab fragmenthez tartozik.

Az IgA típusu M-proteinek:

Elektroforézissel az α_2 és a gamma zónában vándorol, de leggyakoribb a γ_1 és a béta zóna IgA paraproteinje. Az IgA típusu M-protein gyakran kötődik az albuminhoz a vérben, és az immunoelektroforetikus képből az albumin katodikus végét asszimetrikusan megnyújtja.

Hazai vonatkozásban az IgG és az IgA paraproteinaemiák döntő többsége myeloma multiplex vagy soliter myeloma, néhány esetben azonban paraproteinaemia plasmasejtes leukémiával vagy extramedulláris plasmocytomával volt kapcsolatban.

Az IgM típusu paraprotein, a 19 S szedimentációs konstansu makroglobulin analóg antigenitásu. Az IgM paraproteinek főleg primer makroglobulinaemiában, továbbá myeloma multiplexben voltak kimutathatók, néhány esetben az alapbetegség lymphosarcoma vagy krónikus lymphoid leukémia volt, előfordult Hodgkin-betegségben is.

A 7S IgM típusu M-protein, amely a β_2 zónában fut a 19S IgM monomer formája. A 7S IgM paraproteint tartalmazó szérumból nem volt kimutatható az 5 IgM monomer egységből álló 19S IgM makroglobulin.

A 7S IgM típusu paraprotein primer makroglobulinaemiában, ataxia teleangiectasiában, SLE-ben és ritkán májcirrrosisban fordult elő.

Az IgD típusu M-protein a β_2 és a gyors gamma zónában fut. Az M-protein alacsonyabb koncentrációja miatt későbbi stádiumban észrevételezhető. Immunelektroforetikus képen az IgG vonalat keresztezi vagy ahhoz járulékos precipitációs ívként kapcsolódik. β_2 /

Az IgE típusu M-protein a gyors gamma zónában fut. 8S szedimentációs konstansu, igen ritka.

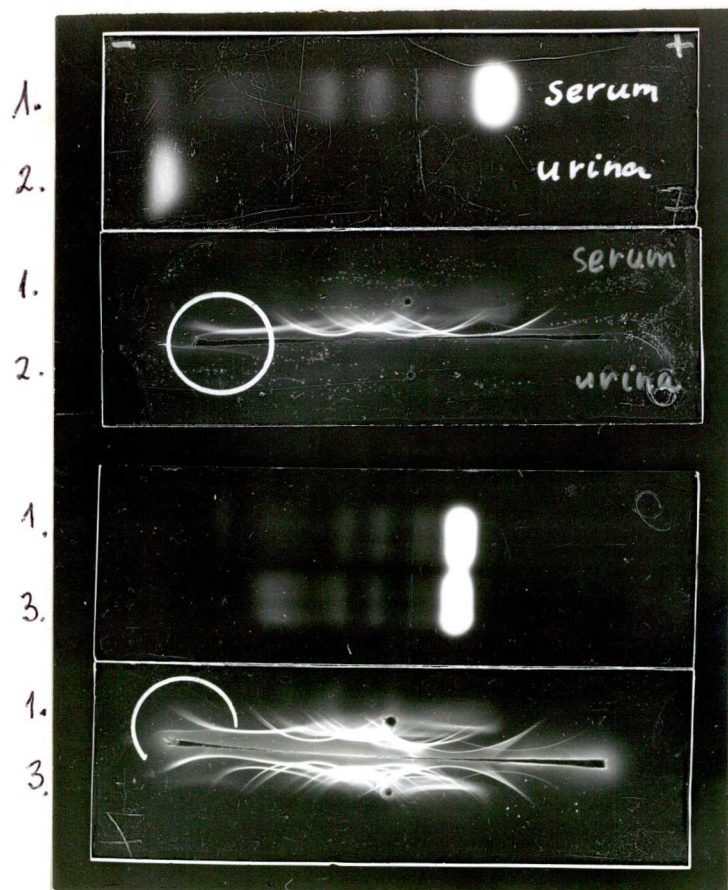
b. / Csak immunglobulin-lánc fragmentet tartalmazó M-proteinek

1. Csak könnyűláncot tartalmazó M-proteinek: Bence Jones protein

A Bence Jones protein jelen van az urinában a legtöbb myeloma multiplex betegségben, de hasonlóan az IgG és IgA paraproteinekhez a Bence Jones protein kapcsolatos plasmasejtes leukémiával vagy extra medulláris plasmacytomával.

Az urinában kimutatható a jellemző reverzibilis hőprecipitálhatósága alapján.

A vízeletet melegítve 56-60 °C körül koagulálódik a protein, amely 100 °C körül újra feloldódik.



Szérum és urina fehérje elektroforézis és immunoelektroforézis párhuzamos futtatásban:

A szérum fehérje frakcióhoz járulékos sávként /1. beteg/ a gyors gamma zónában kapcsolódik az M-protein, amely az urinában /2. minta/ nagy mennyiségben ürülő Bence Jones protein.

Az immunoelektroforézisben az IgG precipitációs vonal katódikus végéhez kapcsolódik járulékos ívként.

Elektroforézissel az α_2 és a gamma zónákban fut, széles M-protein sávot ad.

A Bence Jones protein monomer formájában molekulásúlya 20000-25000, szedimentációs konstansa 1,8 S, a dimer formában 40000-45000 molekulásúlyal szedimentációs konstansa 3,6 S, és a tetramer formában 90000 molekulásúlyal szedimentációs konstansa 5,5 S fordul elő.

A dimer és monomer forma adja a jellemző hőprecipitációs próbát, de csak a dimer és polimer forma cryoprecipitálható.

Szekvencia analizissel igazolták, hogy a Bence Jones proteinek strukturája a normális immunglobulinok kappa vagy lambda könnyüláncával azonosak.

Az aminosav analizisek alapján a kappa típusu Bence Jones protein variábilis szakaszát 107 és konstans szakaszát 107 aminosav alkotja.

A lambda típusu variábilis szakasza 108, konstans szakasza 107-213 aminosavból áll.

Az immunelektroforézis képen a Bence Jones protein főleg az IgG és a transferrin precipitációs íve között van. Monospecifikus anti-kappa és anti-lambda savóval nemcsak a vizeletből, de a szérumból is kimutatható.

2. Csak_nehézláncot_tartalmazó

M-proteinek.

Nehézláncbetegségben egyfajta nehézlánc vagy annak

fragmentje van jelen a szérumban és /vagy az urinában.

Az immunglobulin-termelő sejtekben a nagy polysomák a nehézláncokat, a kis polysomák pedig a könnyüláncokat produkálják.

A két polypeptidlánc különböző genetikus kontroll alatt termelődik. A kitermelt szabad könnyülánc készletet a H-polysoma veszi fel és összekapcsolja a nehézláncokkal immunglobulin molekulákká, amelyeket a durva felszíni endoplasmás reticulumba bocsát.

A nehézlánc Fc-fragmentje függetlenül szintetizálódik a H-polysomákban és az Fd fragment csak a megfelelő könnyülánc jelenlétében szintetizálódik.

Normál állapotokban egyensúly van a könnyü- és nehézláncok termelődésében: az immunglobulin-termelő sejtekben a komplett immunglobulin molekulák és kis feleslegben szabad könnyüláncok vannak jelen. A könnyüláncok nem szekretálódnak a felszínre, de a sejtdegenerációja és destructiója lehet az oka a szabad könnyüláncok felszínre törésének, amely igen kis mennyiségben ugyan, de a normál urinában detektálható.

Az abnormális sejtekben nincs szinkronban a könnyü- és nehézlánc szintézis, így felszaporodnak a szérumban vagy az urinában az immunglobulin-fragmentek, a vese-szövetekben a többlet destructió miatt. Az immunglobulin-fragmenturia alapvetően különbözik a nehézlánc-betegségtől, amely egy monoclonális gammopathia.

Gamma-lánc típusu M-protein

1964-ben Franklin írta le először 40 év körüli páciensről. Nyirokmirigy duzzanattal, hepatosplenomegáliával, rendszerint lázzal járó betegség, jellemző a szájpadlás és az uvuola erythemás duzzanata. Ellenanyag hiányos syndroma, anaemia, leukopaemia, trombo-
paemia, relativ lymphocytosis, a sternum punktatumban atipusos plasmasejtek, reticulum-sejtek találhatók, csont destructió nélkül.

A gamma típusu M-protein relativ szélességű sáv az elektroforézisben, a béta₂ zónában vándorol, immun-elektroforézissel az anti-IgG hatására a gamma₂ zónában ad egy szimmetrikus precipitációs ívet.

A gamma nehézlánc négy alosztályának valamelyikébe besorolható: immunológiailag és fizikokémiailag a gamma nehézlánc Fc-fragmentjéhez hasonló. Jellemző, hogy nincs Fab fragmentje.

Az urinában is megtalálható, a könnyüláncok viszont nem detektálhatók. Molekulasúlya 52000-55000, szedimentációs konstans: 36-3,8S.

Alpha-lánc típusu M-protein

Az alpha-lánc típusu M-protein antigenitás tekintetében az alpha nehézlánc két alosztálya egyikébe besorolható, az alpha nehézlánc Fc-fragmentjéhez hasonló.

Elektroforézis során a béta zónában relativ széles mezőben vándorol, a vérből és az urinából detektálható.

Jellemző a klinikai állapotra: abdominális lymphoma, malabsorptió, a vékonybél lymphocytás, plasmasejtes infiltrációja, nagyfoku hasmenés, steatorrhoea, hypocalcaemia.

Könnyülánc nem mutatható ki.

Mű-lánc típusu M-protein

A mű-lánc típusu M-protein az IgM mű nehézláncával rokon antigenitás tekintetében.

Elektroforézis során az α_2 és béta zónákban vándorol, cellulózacetát elektroforézissel nem ismerhető fel az M-gradiens.

Immunelektroforézis során az anti-mű savóval ad precipitációs ívet. Könnyülánca nincs.

Molekulasulya: 55000, urinából nem mutatható ki.

Jellemzően, szemben az előző nehézláncbetegségekkel, az urinában nagy mennyiségű Bence Jones protein ürül. A mű-típusu M-protein cysztein tartalmu Fd fragmentje hiányzik, így a könnyüláncokkal nem képes összekapcsolódni.

Jellemző a klinikai állapotra: csontfájdalom, lymphoproliferativ rendellenesség, amyloidosis, carpal-tunnel syndroma, Bence Jones proteinuria, plasmasejtes és lymphocytás csontvelő infiltráció.

A z M - p r o t e i n e k / p a r a p r o t e -
i n e k / k l i n i k a i - l a b o r a t o r i -
u m i f e l i s m e r é s é n e k e l v e i
é s m ó d j a

1./ A jellemző kritériumok.

M-proteinaemiás vagy paraproteinaemiás szérumoknak tekintjük azokat, amelyek megfelelnek az alább felsorolt kritériumokban és amelyeket a klinikai adatok is megerősítenek:

1. Antigenitásuk alapján az Ig valamelyik osztályába mindig besorolhatók.
2. Normális immunglobulinoknál deficiensebb antigenitásuk az IgA, az IgG, az IgM paraproteinek.
3. A paraproteinek általában vagy csak kappa, vagy csak lambda típusúak.
4. Az IgA, IgG és valószínűleg az IgD és az IgM paraproteinek is rendszerint antigenitásuk alapján az immunglobulin osztálynak megfelelő nehézlánc alosztályba sorolhatók.
5. Biclonális és oligoclonális paraproteinek két vagy több paraprotein variáns jellemzi, amelyek azonos vagy különböző immunglobulin osztályba tartoznak.
6. A paraprotein felszaporodása általában a szérum fehérje tartalmának emelkedéséhez vezet /hyperproteinaemia/, így a vérsejtsüllyedés is megemelkedik. Bence Jones proteinnél általában gyakori a normális

fehérje szint és frakció elosztás.

7. Papir, agar és cellulózacetát-membrán elektroforézis során a normális immunglobulinoknál sokkal homogénebb elektroforézises mobilitásuak a paraproteinek.

A monoclonális szaporulat "fókuszált" sávja /M-protein, M-grádiense/ jól látható és felismerhető a polyclonális szaporulattól.

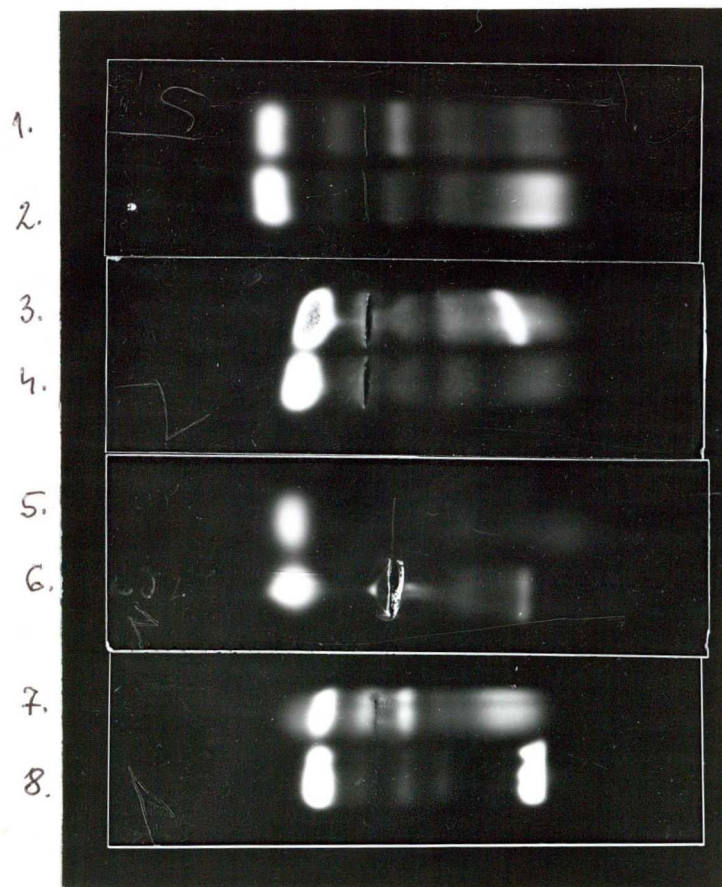
Ez a fókuszált sáv alacsonyabb koncentrációban is jól észlelhető. /2-3 %/ Ezért szükséges az elektroforézises kép KVALITATIV értékelésével a kóros immunglobulinok megjelenését észrevételezni.

A leletezés módja:

a./ Ha a béta vagy gamma zónában csak éles sáv /M-gradiens/ van és a heterogén zóna hiányzik, akkor még normál kvantitativ frakció eloszlásnál is jelölni kell a minőségi képet: pl.: albumin 58 %, α_1 3 %, α_2 10 %, béta 8 %, gamma 21 %: monoclonális szaporulat.

Vagy: albumin 55 %, α_1 3 %, α_2 8 %, béta 20 %: M-gradienssel, gamma 16 %.

b./ Ha az adott frakciónak csak bizonyos %-át teszi ki a monoclonális immunglobulin szaporulat és jelen vannak a normális immunglobulinok is: albumin 58 %, α_1 3 %, α_2 10 %, béta 8 %, gamma 21 %: a gamma zónában fókuszált sáv /vagy M-gradiens/.



Szérum fehérje elektroforézis képek

A különböző mennyiségben jelenlévő patológiás immunoglobulinok /3., 6. és 8. beteg/ jellemző "fókuszált" sávban M-grádiensként jelentkeznek, amelyeket szükséges a leletezés során KVALITATIVE értékelni.

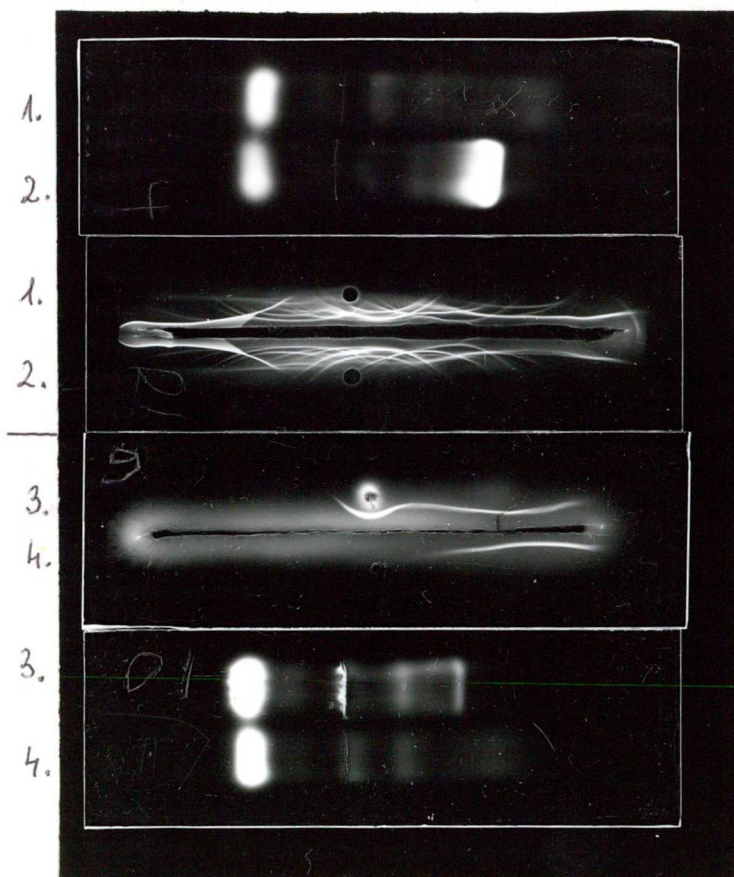
c./ Természetes, ha extrémén megszaporodott a gammaglobulin a minőségi értékelése egyértelmű:
a széles gamma sáv: policlonális szaporulat /pl. máj-cirrhosis!/
a keskeny alapu gammasáv: monoclonális szaporulat /plasmocytoma!/.

Az elektroforetikus képben a minőségi értékeléssel történt monoclonális jelleg megállapítás csak az első, szükséges lépés /szűrővizsgálat jellegű/ a kóros immunglobulinok észrevételezésére.

8./ Ezt kell, hogy kövesse a immuëlektroforetikus vizsgálatsorozat, amellyel egyértelművé tesszük a monoclonális jelleg megállapítását és a kóros immunglobulin tipizálását osztály, alosztály, könnyülánc tekintetében.

Az immuelektroforetikus kép alapján a paraprotein felismerésének szempontjai:

- a./ Az Ig precipitációs íve hiányzik: a normális Ig szintjének hiánya miatt, és a kóros Ig deficiensebb antigenitása miatt.
- b./ Az Ig percipitációs ívből hiányzik egy szakasz,
- c./ elmosódott az ív,
- d./ kettőzött a precipitációs ív,
- e./ deformált az ív,
- f./ megvastagodott az ív,



Szérum fehérje elektroforézis és immunelektroforézis párhuzamos futtatásban.

Az elektroforézisben jellemző M-grádiens /2. és 3. beteg/

Az Immunelektroforézisben megfelelő M-törést ad:

almosódott, megvastagodott, kettőzött, szimmetrikus precipitációs ív /2. beteg/.

Deformált precipitációs ív /3. beteg/

g./ Az Ig precipitációs ivének maximuma közelebb esik az immunsavó-tartályhoz, homogénebb, iveltebb, mint a normális precipitációs iv.

h./ Jellemző M-törés.

Napjainkban csak magasabb szintű laboratóriumok végeznek immun-elektroforetikus vizsgálatokat, amelyek meglehetősen munkaigényesek és drágák a nehezen beszerezhető immunszérumok miatt.

Ha a szűrővizsgálat jellegű elektroforézissel ezt a prognosztikus, diagnosztikus jelet észrevételezzük, akkor célzottabbá tudjuk tenni az immun-elektroforetikus vizsgálatok végeztetését.

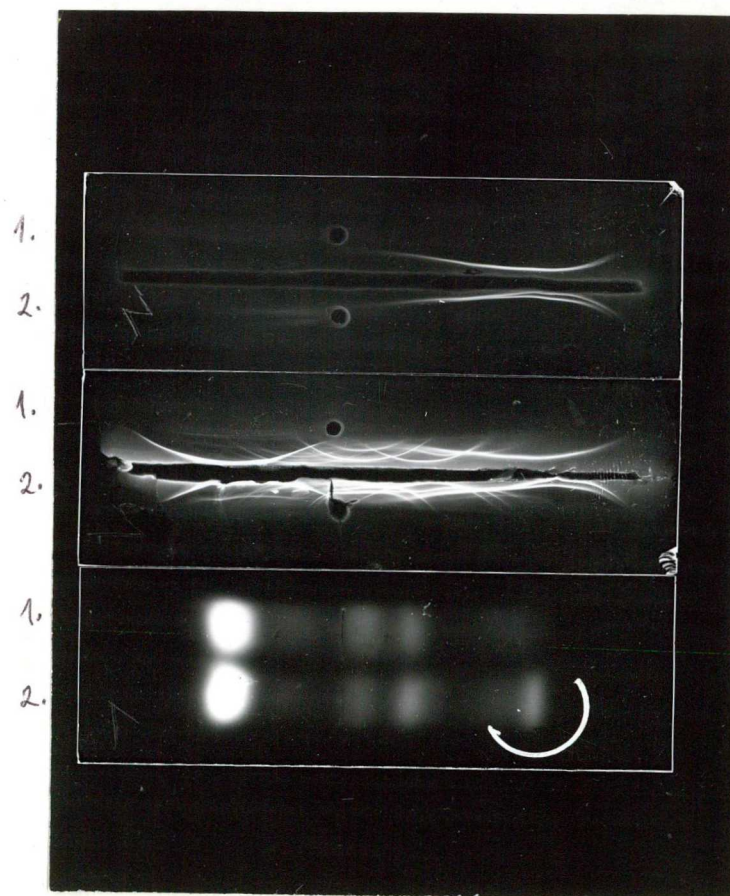
Sokkal hatékonyabb és gazdaságosabb lesz az immun-elektroforézis vizsgálatsorozat, mert

a./ a szükséges esetek biztosan feldolgozásra kerülnek /fontos ez a kezdődő paraproteinaemiáknál, amelyek még a klinikai kép alapján nem bizonyítottak./

b./ A fölösleges immun-elektroforetikus vizsgálatok végzését ezáltal elkerülhetjük.

9./ Ultracentrifugás vizsgálatok során a szedimentációs csucs: IgG, IgA, IgD és IgE paraproteinek esetén a 7S csucs emelkedését okozzák. Az IgM 19S vagy nagyobb S konstansu.

10./ Sephadex G200-on végzett kromatográfiával:



Szérum fehérje elektroforézis és immunelektroforézis:

Kis mennyiségben jelenlévő patológiás immunglobulin M-grádiense az immunelektroforézisben az IgG katodikus részén kettőzött precipitációs ívet ad.

- a Bence Jones protein és nehézlánc típusuak az albumin csucsát követik,
- az IgG, IgA, IgD, IgE a 150000 molekulasúlyú immunglobulin csucsban jelentkeznek,
- az IgM és IgA polimer paraproteinek kizáródnak a gélből.

11./ Pórusgradiens akrilamidgél elektroforézissel:

- az IgG /7S/ paraproteinek az α_2 -makroglobulin feletti és közvetlen alatti zónákban,
- az IgA /9S és 7S/ a transferrin és az α_2 -makroglobulin közötti területen,
- az IgM /19S/ paraproteinek két jellemző sávban a béta-lipoprotein alatti zónában jelentkeznek kóros frakcióként.

2./ Metodikai mellékletek

Szűrővizsgálatok:

A./ Papirelektroforézis:

papirhordozón lugos pH-ju közegben a negatív töltésű fehérje molekulák a pozitív pólus felé vándorolnak.

Papirhordozó: Whatman 1 vagy Schleicher Schüll 2043 B.

Futtató puffer:

1./	TRIS	60,5	g/l	/0,5 mol/
	EDTA	6,0	g/l	/0,021 mol/
	borsav	4,6	g/l	/0,075 mol/

pH: 8,9

Futtatás: 16 óra, 6,5 V/cm

2./	Nátrium-veronal	17,64	g
	Nátrium-acetát	11,64	g
	Kálium-oxalát	4,14	g
	normál HCl	6	ml

ad 3000 ml desztillált víz

pH: 8,6

Futtatás: 4 óra, 150 V.

Fixálás: hővel 100 °C-on

Festés: 7,5 g azokarmin B 500 ml methanol
 100 ml jégcet
 400 ml desztviz

elegyében 10 percig

differenciálás: 10 %-os ecetsavban.

Eluálás: 0,1 N NaOH oldattal /30 percig/

Értékelés: 530 nm-en spektrofotométeren.

Irodalom: 10.

B./ Cellulózacetát membránfólia elektroforézis:

<u>Futtató puffer:</u> Veronal-Natrium	3,92g
Nátrium-acetát	2,59 g
0,1 n HCl	24 ml

ad 1000 ml desztillált viz

PH.: 8,6, 0,04 ionerősség

Futtatás: 7 cm hosszú, 2,5 cm széles csik
esetén 1,8mA/db, 150 V, 45-60 perc. /Anyagfelvitel: kato-
dikusan/

Fixálás, festés: 1 %-os amidoschwarz 10 B
5 %-os ecetsavban oldva: 2'-ig.

Differenciálás: 5 %-os ecetsavban.

a./ Eluálás: 10 %-os trietanolamin-oldatban.

Értékelés 620 nm-en

b./ vagy paraffinolajjal transzparensé tétel:

Értékelés: denzitométerrel.

C./ Agargél elektroforézis:

Futtató puffer:

Veronal-Natrium	29,34 g
Natrium-acetát 3 H ₂ O	19,42 g
0,1 N HCl	180 ml

ad 3000 ml desztillált viz
pH.: 8,6 0,1 ionerősség

Futtató közeg: 1 %-os agar Noble
a futtató pufferban oldva.

Futtatás: a tárgylemezre kiöntött
gélrétegbe középre visszük fel a mintát. 6 V/cm feszültségesés 90 perc.

Fixálás: 10 %-os ecetsav, szárítás.

Festés: amidoschwarz 10 B 1 g

50 ml metanol

40 ml deszt. viz

10 ml jégecet

elegyben 10 percig

Differenciálás: 10 %-os ecetsav

Értékelés: denzitométerben.

Differenciáló vizsgálatok:

D./ Immunelektroforézis: /10/

Futtató puffer: Michaelis puffer

pH.: 8,6, ionerősség 0,1

Futtató közeg: 1 %-os agar Noble a futtató pufferban oldva.

Futtatás: 3-5 mA /lemezenként, 100-150 V
2 óra

Fixálás: anti-humán szérummal 24 óra

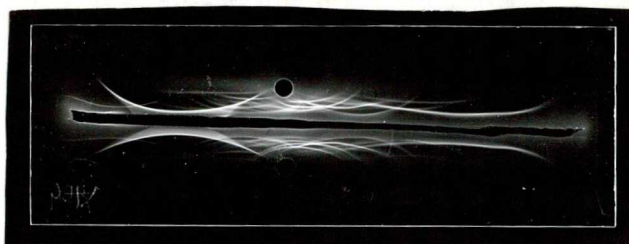
Mosás: fiziológiás oldattal [NaCl] 24 óra

Száritás:

Festés: 1 %-os amidoschwarz 10 B

Differenciálás: 10 %-os ecetsav.

Értékelés: szemikvantitativ
monoclonális jelleg megállapítás /42. o./ anti-humán
monovalens szérumokkal tipizálva /a Humán Oltóanyag-
termelő és Kutató Intézet immunokémiai diagnosztiku-
maival./



Az immunelektroforetikus kép megörökítése: normál foto-
papíron, kontakt másolással, extra kemény hívóban. /22/

E./ Pórusgradiens akrilamid gél elektroforézis /21;24;47/

Az immunelektroforézissel diagnosztizált M-protein frak-
ciók helyének megállapítására.

F./ Sephadex G 200 vékonyréteg gél szűrés /26/

G./ Ultracentrifugás vizsgálat

Ö s s z e f o g l a l á s

Az irodalmi adatok alapján az M-proteinaemiák gyakorisága 100000 lakosra vonatkoztatva 3-6 körüli. /regionális eltéréseket okozhat az a tény, hogy a malignus lymphomák öröklődő jellegűek lehetnek/. [5]
A középkorú és az idősebb korosztályban a leggyakoribb. Ezek a betegek többnyire már kifejlett stádiumban kerülnek klinikai gondozásba. A szérumból pedig az M-proteinaemia kezdeti szakasza már kimutatható.

Az elmúlt négy év alatt közel 8000 agargélelektroforézist, kb 1000 papir- és 1000 cellulózacetát membrán elektroforézist végeztem el, ezen túlmenően a szükséges immunoelektroforézis vizsgálatokat, melyeket egyrészt a kezelőorvosok kértek a klinikai kép alapján, másrészt az elektroforézisből általam minőségileg kórosnak ítélteteket.

Gyakorlati tapasztalataim és irodalmi ismereteim alapján szándékoztam összegezni a dolgozatban az elektroforézis KVALITATIV értékelésének szükségességét, amely normál frakció elosztás mellett is értékes információt nyújt prognosztikus, diagnosztikus szempontból.

Az M-proteinaemiák klinikai képe sokrétűségének elemzése tükrében a szérum fehérje spektrumban megjelenő patológiás immunglobulinok diagnosztikus jelentőségét elemzem a klinikus és a laboratoriumi

szakember együttes szemszögéből azért, hogy

a klinikus a laboratoriumi eredményt az adott esetben kellő sullyal értékelhesse:

- egyrészt a még sokáig tünetmentes állapotban a patológiás immunglobulin jelenléte a páciens állapotának folyamatos ellenőrzését igényli /a kezelés műhiba lehet! a sternum punctió veszélyes infectiós kapu/, a benignus illetve malignus lefolyás megítélését,

- másrészt a nagyobb mennyiségben jelenlévő patológiás immunglobulin felszaporodása a természetes ellenanyag szint lecsökkenése a malignitás kifejlődésének a jele,

a laboratoriumi szakember értékelni tudja kellő felelősséggel azt, amit a klinikus még nem láthat a tünetszegény állapot alapján,

de az elektroforézis képen már észrevételezhető a jellemző M-protein, normál frakció eloszlás mellett is, így már a szűrővizsgálat során prognosztikus jelként, malignizálódás során az előrehaladott stádiumban diagnosztikus értékkel /25. oldal/ informál.

A szűrővizsgálattal észrevételezett M-proteint célzottan további feldolgozásra immunoelektroforézisre a laboratoriumi szakember kell, hogy indikálja, ezáltal a szükséges esetek feldolgo-

zásra kerülnek, amelyek egyébként csak a sokkal későbbi, tünetekben is gazdagabb stádiumban a klinikus kérésére kerülnének további elemzésre.

Igy a beteg anamnesisébe időben belekerül a prognosztikus jel.

Ezáltal lehetővé válik:

- egyrészt mai legjobb tudásunk szerint a kialakuló betegség megfelelő preventív és a már kialakult kel-
lő gondozása,
- másrészt az észlelt specificitásokból és longitudi-
nális megfigyelésekből /a beteg anamnesise, a beteg-
ség lefolyása, időtartama stb./ újabb következtetések
levonása, melyekből hatékonyabb utakat tudunk kidol-
gozni a még meg nem oldott defectusok megfelelő ke-
zelésére.

I r o d a l o m

- 1./ G.N. Abraham et al.: Immunological and structural properties of human monoclonal IgG cryoglobulins. Clin. Exper. Immunol. 36: 63, 1979.
- 2./ Y.Aizawa et al.: Monoclonal IgG1 immunoglobulinaemia with stricthy pH dependent cryoprecipitability. Clin. Exper. Immunol. 37: 267, 1979.
- 3./ John P. Atkinson et al.: Systemic capillary leak syndrome and monoclonal IgG gammopathy. Studies in a sixth patient and a review of the literature. Medicine 56 /3/: 225, 1977.
- 4./ Backhausz, R.: A normális és kóros gammaglobulinok összehasonlító immunológiai és immunokémiai vizsgálata. Doktori értekezés. 1968.
- 5./ Backhausz, R. Lajos, J.: A paraproteinek könnyűlánc típusának meghatározása és a nehézlánc betegség felismerése comparativ immunoelektroforézis módszerrel. A paraprotein típusok gyakorisága Magyarországon. Kisérletes Orvostudomány 23: 566, 1971.
- 6./ Béládi - Kétyi - Nász - Váczi: Orvosi mikrobiológia, immunitás, parazitológia, Medicina Könyvkiadó, Budapest 1978.
- 7./ A.C. Bushell et al.: The progressive appearance of multiple urinary Bence Jones proteins and serum paraproteins in a child with immune deficiency. Clin. Exper. Immunol. 38: 64, 1979.

- 8./ Burnet, F. M.: Immunological aspects of malignant disease. Lancet 1 : 1171, 1967.
- 9./ Ralph A. Defronzo et al.: Renal function in patients with multiple myeloma. Medicine 57 /2/: 151, 1978.
- 10./ Dr. Dévényi Tibor, Dr. Gergely János : Aminosavak, peptidek, fehérjék, Medicina Könyvkiadó, Budapest 1971.
- 11./ W.F. Doe et al.: Immunodiagnosis of alpha chain disease. Clin. Exper. Immunol. 36: 189, 1979.
- 12./ Egri Piroska: Kóros immunglobulinok kvalitatív értékelése a laboratoriumi szűrővizsgálatok során. "Alkotó Ifjúsági Pályázat" 1980.
- 13./ Egri Piroska: M-proteinek kvalitatív értékelése az elektroforézis során. Közlés alatt.
- 14./ Ethel S. Siris et al.: Effects of Dichloromethylene Diphosphonate on Skeletal Mobilization of Calcium in Multiple Myeloma. The New England Journal of Medicine. 302 /6/: 310, 1980.
- 15./ Gergely János ; Hans H. Ott: Az elméleti és klinikai immunológia alapjai. Medicina Könyvkiadó, Budapest 1974.
- 16./ István Lajos: Plasmocytomas betegek gondozása. Klinikopath. konf. Szombathely 1975.
- 17./ Jákó János: Szűrővizsgálatok kérdése monoclonális gammopathiákban szenvedő betegek felismerésében. MIT metod. konf.: 1979. nov. 9-10.

- 18./ Jákó János: Immunglobulinok múltja, jelene, jövője. Magyar Klin. Lab. Diagn. Társaság. Symposium 1980. márc. 21.
- 19./ Káli András: II. Raynaud-syndroma. Az Orvostudomány Aktuális Problémái 30 1978.
- 20./ Paul E. Mc Keever et al.: Murine plasma Cells secreting more than one class of immunglobulin. The Journal of Immunology. 124 /2/ 1980.
- 21./ Kerese István: Fehérjevizsgálati módszerek. Műszaki Könyvkiadó Budapest 1975.
- 22./ Kardos Tamás, Egri Piroska: "Szemléletes fénykép készítése elektroforetikus lemezekről szupergyors módszerrel." "Alkotó Ifjúsági Pályázat" 1980.
- 23./ Korngold, L. et al.: Sub-groups of G-myeloma globulins of type Kappa and type lambda. Immunochemistry, u: 353, 1967.
- 24./ G. Kopperschläger, et al.: Einsatz der Porengradienten - Polyakrylamidgelelektrophorese zur Diagnostik von Paraproteinämien. Z. med. Labor.-Diagn. 18 1977.
- 25./ Lajos Judit, Backhausz, R.: Acrylamide-immunosorbent Ann. Immunol. Hung. 1974.
- 26./ Lajos Judit: Paraproteinek immunokémiai analízise különös tekintettel az antigén strukturára. 1975. Kandidátusi értekezés.
- 27./ T. Lehner et al.: Cryoglobulins in Behcet' S syndrome and recurrent oral ulceration: assay by Laser nephelometry. Clin. Exper. Immunol. 38:436, 1979.

- 28./ Magyar Imre: Belbetegségek elkülönítő diagnosise
II.: 900, Medicina Könyvkiadó, Budapest 1977.
- 29./ O. I. Mellbye et al.: Oligoclonal immunglobulins
and smooth muscle antibodies in arthritic Jointh.
Clin. Exper. Immunol. 40: 103, 1980.
- 30./ J. Mestecky et al.: Present of J chain in human
lymphoid cells. Clin. Exper. Immunol. 39: 371,
1980.
- 31./ G. Merlini et al.: An IgM monoclonal protein With
multiple serological specificities. Clin. Exper.
Immunol. 37: 276, 1979.
- 32./ Natvig, J. B. et al.: Human immunglobulins, Classes,
subclasses, genetic variants and idiotypes.
Adv. Immunol. 16 : 1973.
- 33./ Petrow, Z. D.: Zur Plasmocytosarkomatose. Folia
Haematol. 82, 163, 1964.
- 34./ Pringle, R. et. al.: Blood viscosity and Raynaud'
S disease Lancet 1 : 1086, 1965.
- 35./ Pálóczi, K., Erdei, A., Egri, P., Gergely, J., Sze-
gédi, Gy.: Receptor vizsgálatok SLE-ben. MIM VIII.
Vándorgyűlés. Szeged, 1977.
- 36./ Patakfalvi Albert: Paraproteinek, paraproteinaemiák.
Az Orvostudomány Aktuális Problémái 3 1973.
- 37./ M. B. Pepys et al.: Binding of serum amyloid P.com-
ponent /SAP/ by amyloid fibrils. Clin. Exper. Immu-
nol. 38 : 284, 1979.

- 38./ Potter, M.: Myeloma proteins /M-components/ with antibody like activity. New Engl. J. Med. 284: 831, 1971.
- 39./ Porter, R. R.: Structural studies of immunoglobulins. Science 180: 713, 1973.
- 40./ J. L. Preud Homme et al.: Cellular immunoglobulins in human gamma-and alpha - heavy chain diseases. Clin. Exper. Immunol. 37: 283, 1979.
- 41./ Robert A. Kyle et al.: Amyloidosis: review of 236 cases. Medicine, 54 /4/: 271, 1975.
- 42./ P. J. Roberts-Thomson et al.: A nephelometric study of the reaction of monoclonal rheumatoid factor with heat aggregated gammaglobulin and sera from patients with immune complex diseases. Clin. Exper. Immunol. 37, 408, 1979.
- 43./ P.J. Roberts-Thomson et al.: IgA and temperature dependent IgG complex formation in a patient with Waldenström's hypergammaglobulinaemic purpura. Clin. Exper. Immunol. 39 /1/: 164, 1980.
- 44./ Roitt I.: Essential Immunology. Blackwell Scientific Publications. 1977.
- 45./ Seligman, M. et al.: XII. Cong. Internat. Soc. Hemat. New York, 1968.
- 46./ Soós József: Laboratoriumi diagnosztika, Medicina Könyvkiadó, Budapest 1974.
- 47./ Than Károly et al.: Kísérletes Orvostudomány 1975./4/
- 48./ Szőőr, I. et al.: Klinikai megfigyelések myelomás beteganyagon. Orvosképzés 48: 178, 1973.

- 49./ Szücs J.: Plasmocytoma paraprotein nélkül. Orvosi Hetilap. 110: 1505, 1969.
- 50./ Tadashy Kawai, MD Clinical Aspects of The Plasma Proteins. 1973. Tokyo.
- 51./ M. L. Tiku et al.: Immunological aspects of α_2 -precipitates from the sera of chronic HBs Ag carriers. Clin. Exper. Immunol. 36; 54 1979.
- 52./ Waldenström, J. G.: Monoclonal and polyclonal hyper-gammaglobulinaemia, Cambridge Univ. Press, 1968.
- 53./ Zséli János, Kertész Frigyes, Alán Oszkár:
Benignus monoclonális gammopathia és primer hyperparathyreosis. Orvosi Hetilap. 8 : 461, 1980.

