

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD

Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu

Laboratory diagnostics of multiple myeloma

Bakalářská práce



Školitel: **MUDr. Natalija Rytikova**
Garant č. 1.: MUDr. Jiří Hochmann, CSc.
Garant č. 2.: Mgr. Miroslav Kovařík

Hradec Králové 2011

Blanka Hubálková

Poděkování:

Děkuji školitelce MUDr. Natalii Rytikové a garantovi MUDr. Jiřímu Hochmannovi, CSc. za všestrannou pomoc při vzniku této práce.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové dne 30.6.2011

podpis.....

Obsah

	SOUHRN	2
	SUMMARY	3
I	Úvod	5
	ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE - CÍL PRÁCE	5
II	Teoretická část	6
1	Monoklonální gamapatie.....	6
2	Mnohočetný myelom – historie onemocnění	6
3	Epidemiologie onemocnění.....	7
4	Etiologie onemocnění	7
5	Patofyziologie onemocnění	7
5.1	Klinické příznaky a projevy	8
5.2	Stanovení diagnózy.....	9
5.3	Podskupiny mnohočetného myelomu	12
5.4	Laboratorní diagnostika	13
5.4.1	Elektroforéza bílkovin následovaná provedením imunofixace.....	13
5.4.2	Stanovení volných lehkých řetězců.....	14
5.4.3	Stanovení β 2-mikroglobulinu.....	14
5.4.4	Kvantitativní stanovení polyklonálních Ig	15
5.4.5	Hevylite – stanovení intaktních molekul Ig v séru.....	15
5.4.6	Morfologické hodnocení punktátu kostní dřeně.	15
5.4.7	Histologické vyšetření	16
5.4.8	Zobrazovací vyšetření.....	17
5.4.9	Cytogenetické vyšetření	17
5.4.10	Imunofenotypizace	18
5.4.11	Průkaz kryoglobulinů.....	18
5.4.12	Vyšetření viskozity séra	18
5.4.13	Vyšetření krevního obrazu	18
5.4.14	Hodnocení nátěru periferní krve.....	19
5.5	Léčba a prognóza.....	19
5.6	Hodnocení nové aktivity onemocnění (IMWG 2006).....	20
5.7	Česká myelomová skupina.....	20
III	Praktická část	22
6	Materiál a metody.....	22
6.1	Charakteristika použitých metod	22
6.1.1	ELFO a imunofixace.....	22
6.1.2	Vyšetření volných lehkých řetězců.....	22
6.2	Charakteristika souborů srovnávacích a posuzovaného	23
6.2.1	Charakteristika srovnávacích souborů	23
6.2.1.1	Soubor 1.....	23
6.2.1.2	Soubor 2.....	24
6.2.1.3	Soubor 3.....	24
6.2.2	Charakteristika Posuzovaného souboru.....	24
7	Výsledky.....	25
7.1	Přehled námi naměřených hodnot Posuzovaného souboru.....	25
7.2	Porovnání souborů	26
7.2.1	Srovnávací soubory (1, 2, 3).....	30
7.3	Vybrané kazuistiky	31
8	Diskuse	32
9	Závěr.....	33
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	34
	PŘÍLOHA	37
I	Metody.....	37
II	Porovnávací publikovaná data.....	38
III	Naše nové výsledky	41
IV	Kazuistiky	43
	KAZUISTIKA Č. 1	43
	KAZUISTIKA Č. 2	43
	KAZUISTIKA Č. 3	44

SOUHRN

Hlavním představitelem monoklonálních gamapatií je mnohočetný myelom. Mnohočetný myelom je zhoubné onemocnění způsobené maligní transformací B lymfocytů, jejich klonální proliferací a akumulací terminálních vývojových stádií plazmocytů.

Diagnóza je stanovena na základě přítomnosti monoklonálního imunoglobulinu v séru nebo moči, průkazu infiltrace kostní dřeně myelomovými buňkami a osteolytického postižení. Z laboratorních metod, které nám pomáhají určit paraprotein, patří stanovení a identifikace monoklonálního imunoglobulinu pomocí elektroforézy a imunofixace, stanovení volných lehkých řetězců, cytologické vyšetření punktátu kostní dřeně. Průkaz osteolytického postižení je prováděn makroskopickými zobrazovacími technikami jako RTG.

Možnosti léčby se v posledních letech výrazně zlepšily. Mezi léčebné programy zahrnující vysokodávkovou chemoterapii s autologní transplantací přibýly léky, kterými jsou thalidomid, lenalidomid a bortezomib.

V praktické části práce jsme se zabývali srovnáním metod ELFO, IFE a VLŘ (Elektroforéza, imunofixace, volné lehké řetězce) z hlediska citlivosti záchytu paraproteinu. Ze závěrů sledování vyplynulo, že vyšetření sérových hladin VLŘ se jeví méně citlivou metodou než stanovení patologických hodnot indexu k/I. V našem Souboru pacientů byla kromě toho potvrzena vyšší citlivost metody IFE ve srovnání s ELFO a vyšší citlivost indexu k/I ve srovnání s vyšetřením sérových hladin VLŘ.

SUMMARY

Multiple myeloma is one of the main representatives of monoclonal gammopathy diseases. It is caused by malignant transformation of B-lymphocytes, its clonal proliferation and accumulation of terminal stages of plasmocyte maturation.

Clinical diagnosis is based on presence of this monoclonal immunoglobulin in serum or urine, myeloma cells infiltration into bone marrow and finding osteolytic lesions in bones. The electrophoresis and immunofixation of monoclonal immunoglobulins, free light chains assay, cytology of bone marrow aspirate are the most important laboratory tests helping in the statement of this immunoglobuline. The proof of the osteolytic damage is made using imaging technologies, such as RTG.

Treatment of multiple myeloma had significantly improved during last years. The main options of therapy include high-dose chemotherapy and autological transplantations, together with immune modulating drugs, such as thalidomide, lenalidomide and bortezomib.

Experimental part was focused on the comparison of sensitivity of paraprotein assessment by electrophoresis, immunofixation and free light chains assay. We can assume on the base of the results of the work that the free light chain assay is less sensitive method compared to k/l index.

In addition – the higher sensitivity of IFO in comparison with electrophoresis and the higher sensitivity of k/l in comparison with the serum levels free light chains was found in our set of patients.

SEZNAM ZKRATEK

AL	amyloidóza z lehkých řetězců
B-J	Bence - Jones
CB	celková bílkovina
CD	cluster of differentiation
CL	Centrální laboratoř
CT	počítačová tomografie
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELFO	elektroforéza
FISH	fluorescenční hybridizace in situ
FCH	průtoková cytometrie
FLC	free light chain
FW	Fahreus Westergren
HLA	histokompatibilní systém
HLC	heavy/light chain
IFE	imunofixační elektroforéza
Ig	imunoglobulin
IMWG	International Myeloma Working Group
K	kappa
KD	kostní dřev
k/l	poměr kappa/lambda
KO	krvní obraz
L	lambda
MB	myelomová buňka
MG	monoklonální gamapatie
MGUS	monoklonální gamapatie nejistého významu
MIBI	radionuklidové vyšetření technecia sestamibi
Mlg	monoklonální imunoglobulin
MM	mnohočetný myelom
MR	magnetická resonance
N/C	nukleocytoplazmatický poměr
SPE	serum protein elektroforesis
VLŘ	volné lehké řetězce
WHO	World health organisation

I ÚVOD

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE - CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce je shromáždit informace a poznatky o mnohočetném myelomu, vypracovat přehled o prováděné laboratorní diagnostice tohoto onemocnění. Dalším cílem je srovnání diagnostických přístupů na našem pracovišti s doporučením České myelomové skupiny pro vyšetření mnohočetného myelomu.

Hlavními zdroji pro tuto práci byly knižní odborné publikace pro hematologii a hematonekologii, biochemii a imunochemii, další potřebné informace byly doplněny z odborných časopisů a internetových zdrojů.

Přednostně jsem informace hledala v české a slovenské literatuře. Dále jsou zde zmíněny výsledky českých studií, zabývajících se touto problematikou a srovnání s výsledky získanými na našem pracovišti.

II TEORETICKÁ ČÁST

1 Monoklonální gamapatie

Monoklonální gamapatie (MG) jsou stavy vyznačující se maligní monoklonální proliferací B lymfocytů a jsou charakterizovány produkcí homogenního monoklonálního proteinu (označuje se jako M-protein, Mlg, M-komponenta, paraprotein) nebo jeho strukturálních komponent (tj. lehkých řetězců, vzácně i těžkých řetězců) molekuly imunoglobulinu (Špička, 2008).

Těžké řetězce patří k jedné z pěti imunoglobulinových tříd G, A, M, D nebo E, lehké řetězce jsou antigenního typu kappa nebo lambda.

Monoklonální imunoglobulin náleží vždy k jedné imunoglobulinové třídě (Ig), k jedné podtřídě Ig a má jen jeden typ lehkých řetězců. Rozdíl od normálních Ig je především v homogenitě. Protilátková aktivita u většiny paraproteinů není známa, ale jednou z teorií původu monoklonálních Ig je imunitní odpověď, která se vymkla kontrolním mechanismům (Tichý, 2006).

Maligní klon buněk produkuje patologický imunoglobulin – paraprotein. Kromě paraproteinu dochází k uvolňování další molekuly tzv. syndecanu-1. Tato molekula nese označení CD138. Bylo prokázáno, že jde o nový prognostický ukazatel MM (Pecka, 2006).

Hlavním a nejzávažnějším představitelem monoklonálních gamapatií je mnohočetný myelom.

2 Mnohočetný myelom – historie onemocnění

Mnohočetný myelom je původní popisný nález, který patologové v devatenáctém století přiřadili pitevnickému nálezu kostí postižených četnými osteolytickými ložisky. Zjistili, že se nejedná o metastázy nějakého karcinomu, ale o nádory vyrůstající z buněk kostní dřene (Adam, 2007).

Mnohem známější jsou však zprávy Henry Bence Jonese (1847) a Williama Macintyre (1850), kteří v moči londýnského obchodníka našli protein o velmi specifických vlastnostech, podle dnešní terminologie paraproteinurii či Bence-Jonesovu (B-J) proteinurii.

Termín „mnohočetný myelom“ použil v roce 1873 von Rustizky, který popsal i typický vzhled myelomových buněk (Špička, 2006).

Teprve později byly popsány jednotlivé typy buněk kostní dřene a zjistilo se, že tyto nádory jsou tvořeny buňkami, které jsou podobné normálním

plazmatickým buňkám tzv. plazmocytům (Adam, 2007). Název plazmatická buňka zavedl roku 1875 Hartz Heinrich Waldeyer.

Charakteristický obraz nemoci popsal profesor Otto Kahler v roce 1889. I když je morfologická charakteristika známa již od začátku dvacátého století, podrobnější informace o cytologických, morfologických a imunologických vlastnostech plazmocytů byly získány až v posledních desetiletích (Špička, 2006).

3 Epidemiologie onemocnění

V současnosti je MM druhou nejčastěji se vyskytující hematologickou malignitou. Jeho relativní zastoupení v této skupině onemocnění tvoří asi 10 %.

Onemocnění postihuje především starší věkové skupiny (medián 60-65 let). Méně než 2 % všech pacientů je ve věku do 40 let.

Roční incidence nemoci je přibližně 4 nově zjištěná onemocnění na 100 tisíc obyvatel. Vyšší incidence je v afro-karibské populaci než u populace kavkazské (Hájek, 2009). Incidence MM v posledních letech stoupá. Je to dáno především zlepšením diagnostiky tohoto onemocnění (Sakalová, 2010).

4 Etiologie onemocnění

Stejně jako u většiny hematologických malignit je prvotní příčina MM neznámá. Na zvýšeném riziku choroby se podílí zřejmě jak genetická dispozice, tak i vlivy prostředí. Pro vliv endogenních faktorů svědčí zvýšený výskyt MM v některých rodinách. U příbuzných prvního stupně pacientů s MM bylo popsáno 3-6 krát vyšší riziko choroby (Špička, 2006).

Je prokázáno, že všem případům MM předchází monoklonální gamapatie nejasného významu (Sakalová, 2010).

Na vzniku onemocnění se mohou dále podílet ionizující záření, chemické kancerogeny a virové infekce .

5 Patofyziologie onemocnění

MM je zhoubné hematologické onemocnění charakterizované maligní mutací B lymfocytu ve folikulu lymfatické tkáně. Dochází k nekontrolované proliferaci a diferenciaci této mutované formy na patologicky změněné plazmocyty (Pecka, 2006).

Konečným stadiem je zralá myelomová buňka (MB). Myelomové buňky jsou téměř nesmrtelné, a proto se hromadí v kostní dřeni. Vylučují do svého

okolí mnoho cytokinů a ty způsobují pestré klinické projevy choroby. Cytokiny stimulují osteoklasty k odbourávání kosti (osteoporóza) a brzdí krvetvorbu (pancytopenie). Porucha ve vyžívání plazmocytů je zodpovědná za sníženou syntézu vlastních protilátek což vede k poruše protilátkové imunity (Adam, 1997).

5.1 Klinické příznaky a projevy

Klinické zkušenosti dosvědčují, že v typických případech MM probíhá v určitých vývojových fázích. Růstová aktivita nádorové populace je ve většině případů v počátečních fázích onemocnění nízká. Z toho vyplývá, že symptomatickou chorobu předchází bezpříznakové období, jehož délka kolísá od několika měsíců po mnoho let. Během této doby je diagnostikován MM asi u 15-20 % pacientů na základě laboratorního vyšetření (ať již „náhodně“ provedenou elektroforézou bílkovin, či pátráním po příčině vysoké hladiny celkové bílkoviny či hodnoty sedimentace). V dalších fázích již nemoc postihuje mnohé orgány a systémy, proto bývají symptomy MM dosti různorodé (Špička, 2006).

Nejčastější klinické projevy

1. Příznaky destrukce kostí:

- déle trvající nevysvětlené bolesti páteře, spojené se zmenšováním tělesné výšky, bolestí jiných kostí
- osteoporóza, obzvláště u mužů a premenopauzálních žen
- symptomy odpovídající kompresi míchy, nebo kompresi kořenů míšních nervů

2. Projevy oslabené imunity a (nebo) zhoršené funkce KD:

- opakované, dlouhodobé infekce
- anémie, typicky normochromní, případně spojené s leukopenií a trombocytopenií

3. Trvale vysoká hodnota sedimentace erytrocytů (FW) nejasné etiologie, zvýšená viskozita plazmy, zvýšená koncentrace celkové bílkoviny v plazmě

4. Zhoršená funkce ledvin

5. Hyperkalcemie

U pacienta může být přítomen jeden, ale i více příznaků současně (Hájek, 2009).

5.2 Stanovení diagnózy

Diagnostika MM je založena na současně přítomných projevech onemocnění, kterými jsou:

- přítomnost monoklonálního Ig v séru nebo v moči
- cytologický či histologický průkaz infiltrace kostní dřeně myelomovými elementy
- osteolytické postižení skeletu

Diagnózu nemoci stanovuje lékař na základě porovnání biochemických, rentgenologických a cytologických nebo histologických nálezů s přijatými diagnostickými kritérii pro toto onemocnění (Adam, 2001).

Základní charakteristikou MM je přítomnost monoklonálního imunoglobulinu v séru, který však může být přítomen i u relativně benigní jednotky tzv. monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS), ale také u dalších maligních chorob (AL amyloidózy, Waldenströmovy makroglobulinémie) a jiných chronických zánětlivých stavů (Hájek, 2009).

MGUS je považována za benigní onemocnění, ale může se transformovat do MM. U více než jedné třetiny pacientů dochází k rozvoji MM z MGUS (Balcárková, 2007).

Diagnózu MM nelze stanovit pouze z jednoho vyšetření. Vzhledem ke kontinuálnímu přechodu mezi monoklonální gamapatí nejistého významu a MM bylo nutné vytvořit klinická kritéria, jejíž cílem je odlišit MM od MGUS (Hájek, 2009).

Nejširšího přijetí dosáhla kritéria dle Durieho a Salmona (D–S) z roku 1975. Tento nejčastěji užívaný systém stanovení MM je stále dobře použitelný.

V roce 2003 byla nově revidována diagnostická kritéria MG skupinou International Myeloma Working Group (IMWG, 2003), která dělí MM do dvou základních kategorií, asymptomatické a symptomatické formy onemocnění .

Léčba by podle IMWG kritérií měla být zahájena až v případě splnění kritérií symptomatické fáze onemocnění tj. v případě poškození některého z orgánů, přítomností „CRAB“ symptomů. I když zkratka **CRAB** zahrnuje jen Hyper**C**alcemii, **R**enální insuficienci, **A**nemii a kostní (**B**one) poškození, může jít o jakékoliv jiné poškození související s MM (Hájek, 2009).

Hyperkalcémie vzniká na podkladě zvýšeného kostního obratu a osteoresorpce, zvyšuje nefrotoxicitu lehkých řetězců. Zvýšená koncentrace urey a kreatininu signalizuje renální insuficienci. Na přítomnost paraproteinu nás může upozornit vysoká koncentrace celkové bílkoviny séra (90 g/l a více) při současně nízké koncentraci albuminu v séru, i když u MGUS a v počátečních stádiích MM mohou být koncentrace celkové bílkoviny normální (Granátová, 2011).

V roce 2005 zveřejnil IMWG nový prognostický systém pro MM, který je mnohem jednodušší než původní Durieho a Salmonův. Tento systém využívá pouze dvou laboratorních ukazatelů stanovených v době diagnózy, sérových koncentrací albuminu a beta 2- mikroglobulinu (Maisnar, 2008)

K potvrzení diagnózy se běžně využívá imunohistochemické vyšetření, které prokáže klonální restrikci lehkých řetězců (převahu jednoho typu lehkého řetězce) v poměru větším než 16:1. Poměr menší než 4:1 svědčí obvykle pro reaktivní původ plazmocelulární infiltrace (Granátová, 2011).

I přes tato kritéria však často nelze rozhodnout, zda se jedná o MM, nebo o nemaligní MGUS. Pokud není diagnóza po prvním komplexním vyšetření jasná, je vhodnější ponechat diagnózu neuzavřenou a pacienty s tímto nálezem pravidelně kontrolovat ve 3-6 měsíčních intervalech (Hájek, 2009).

Tab. 1. Diagnostická kritéria MM dle Durieho a Salmona, 1975

Velká kritéria	Malá kritéria
1) Plazmocytom (histologie tkáně)	a) Plazmocytóza v kostní dřeni (10 – 30 %)
2) Plazmocytóza v kostní dřeni > 30 %	b) Koncentrace Mlg nižší než v bodě 3
3) Sérové koncentrace monoklonálního imunoglobulinu (Mlg)	c) Osteolytická ložiska
V séru: Mlg > 35 g/l, MlgA > 20 g/l	d) Snížení ostatních fyziologických imunoglobulinů
Množství lehkých řetězců v moči za 24 hodin > 1g	IgG < 6 g/l IgA < 1 g/l IgM < 0,5 g/l

Diagnóza MM je jasná, je-li přítomno jedno **velké** a jedno **malé** kritérium, anebo jsou-li přítomna kritéria **a+b** a dále kritérium **c** nebo **d** (Adam,2007).

Tab. 2. Stanovení klinického stadia MM dle Durieho a Salmona, 1975

I. stadium	Jsou splněny všechny níže uvedené podmínky :
	Koncentrace Hb > 100 g/l
	Koncentrace Ca do 3 mmol/l
	Normální kostní struktura anebo solitární kostní ložisko plazmocyтому
	Relativně nízká koncentrace Mlg:a) MlgG < 50 g/l,b) MlgA < 30 g/l c) exkrece lehkých řetězců v moči do 4 g/24 hodin
II. stadium	Nejsou splněny podmínky I. ani III. stadia.
III. stadium	Je splněna alespoň jedna z následujících podmínek :
	Koncentrace Hb < 85 g/l
	Zvýšená koncentrace Ca nad 3 mmol/l
	Více než 3 osteolytická ložiska
	Vysoká koncentrace Mlg : a) MlgG > 70 g/l, b) MlgA > 50 g/l, c) vyloučení více než 12 g lehkých řetězců moče za 24 hodiny.
Subklasifikace : A – kreatinin do 2 mg/ml; B – renální insuficience s retencí dusíkatých látek, kreatinin > 2mg/ml (2).	

Tab. 3. Kritéria dle International Myeloma Working Group (IMWG), 2003

1. Přítomnost Mlg v krvi nebo v moči	
2. Přítomnost monoklonálních plazmocyтů v kostní dřeni obvykle > 10 % nebo bioptický průkaz plazmocyтому.	
3. Přítomnost alespoň jedné dysfunkce či poškození orgánu způsobené plazmocyтárním myelomem:	
C – kalcium	hyperkalcemie v séru >2,8 mmol/l
R – rena	renální insuficience (sérový kreatinin > 180 mikro mol/l)
A – anemia	anemie (hemoglobin < 100 g/l nebo 20 g/l pod dolní hranici normy)
B – bone	osteolytické ložisko nebo osteoporóza
Jiné – symptomatická hyperviskozita, amyloidóza; bakteriální infekce > 2 za rok	

Pro diagnózu symptomatického mnohočetného myelomu je nutno splnit všechna tři kritéria (Kačírková, 2007).

Tab. 4. Mezinárodní prognostický index pro mnohočetný myelom, IMWG, 2005 (Hájek, 2009).

Klinické stadium	B2M	Albumin (g/l)
I	< 3,5	> 35
II	< 3,5	< 35
	Nebo 3,5 – 5,5	> 35
III	> 5,5	

Z uvedeného vyplývá, že k určení diagnózy MM jsou používány laboratorní výsledky a nálezy zobrazovacích technik.

5.3 Podskupiny mnohočetného myelomu

Nesekreční forma myelomu - neoplastické plazmocyty sice imunoglobulin tvoří, ale nesecernují, takže v séru ani v moči nelze prokázat M-komponentu.

Asymptomatický myelom je v současné době doporučované označení pro tzv. doutnající myelom (SMM). V tomto případě je koncentrace M-Ig více než 30g/l a nebo plazmocyty tvoří 10-30 % ze všech jaderných buněk KD, avšak nejsou přítomna osteolytická ložiska a pacient je zcela asymptomatický.

Plazmocytní leukemie je definována jako plazmocytní myelom s více než $2 \times 10^9/l$ cirkulujících plazmocytnů v periferní krvi nebo více než 20 % plazmocytnů ze všech leukocytnů.

Monoklonální gamapatie nejistého významu (MGUS) – zahrnuje případy s přítomností M-komponenty avšak bez průkazu neoplazie z plazmatických buněk bez přítomnosti orgánového či tkáňového poškození (Kačírková, 2007).

5.4 Laboratorní diagnostika

Zkvalitnění diagnostiky má mimořádný význam pro včasnou diagnózu maligních gamapatií a pro lepší prognózu jejich léčitelnosti (Sakalová, 2010). V posledních letech bylo dosaženo velkého pokroku v diagnostice MM (Straub, 2008).

Základním vyšetřením pro diagnózu MM je stanovení přítomnosti monoklonálního imunoglobulinu v séru nebo moči. K tomu se používají elektromigrační metody (elektroforéza, imunofixace) a imunoturbidimetrické nebo imunonefelometrické metody (stanovení volných lehkých řetězců v séru či moči).

Druhým významným vyšetřením je stanovení rozsahu postižení kostní dřeně. K běžně prováděným vyšetřením kostní dřeně (cytologické a histologické) přibylo provedení imunofenotypizačního, respektive imunohistochemického vyšetření. Cílem těchto vyšetření je potvrzení klonální populace nádorových plazmatických buněk (Maisnar, 2008).

Velmi důležité v diagnostice MM jsou zobrazovací vyšetření používaná k určení rozsahu kostního postižení.

K podezření na diagnózu MM mohou přispět i výsledky dalších laboratorních vyšetření, které mohou souviset s patofyziologickými projevy.

5.4.1 Elektroforéza bílkovin následovaná provedením imunofixace

Biochemická diagnostika využívá pro laboratorní průkaz paraproteinu elektroforézu bílkovin. Tato metoda je dostatečně citlivá, rychlá, levná a dostupná. Slouží k vyhledávání a kvantifikaci Mlg.

Imunofixační elektroforézu (IFE) využíváme k potvrzení ELFO a klasifikaci a kvantifikaci Mlg (Tichý, 2006).

Elektroforéza i imunofixace patří do skupiny elektromigračních metod. Elektromigrační metody patří mezi metody separační. Separace jednotlivých látek je dána jejich rozdílnou migrační rychlostí v elektrickém poli, která je úměrná velikosti náboje a struktuře dané molekuly.

Elektrické pole zajišťuje stejnosměrný proud, který je přiveden mezi dvě elektrody, se kterými je vodivě spojeno migrační prostředí pro vzorky (agarózový gel). Po rozdělení jednotlivých látek se barvicími technikami

provede vizualizace jednotlivých zón odpovídajících jednotlivým rozděleným látkám.

U imunofixace se před vizualizací inkubuje rozdělený vzorek se specifickou protilátkou proti stanovované sloučenině (SOP).

Imunofixační elektroforéza umožňuje identifikovat abnormální frakce v séru nebo moči inkubací se specifickými monovalentními antiséry (anti- α , anti- μ , anti- γ , anti- κ , anti- λ , případně anti- δ , anti- ϵ) aplikovanými přímo na elektroforeogram. Po obarvení vzniklé precipitáty odpovídají reakci antigen-protilátka. Imunofixační elektroforéza je asi 10x citlivější pro detekci monoklonálního gradientu než prostá elektroforéza (Tichý, 2006).

5.4.2 Stanovení volných lehkých řetězců

Relativně novou, ale již dobře dostupnou metodou je stanovení volných lehkých řetězců v séru („free light chain“, FLC, VLŘ).

Principem stanovení VLŘ je průkaz pomocí protilátky proti vnitřnímu epitopu molekul lehkých řetězců Mlg, který v kompletní molekule zůstává pro detekci nedostupný.

Kromě samotného stanovení VLŘ je využíván i poměr obou tříd lehkých řetězců (index k/l), který odráží nejen nadprodukcí patologického proteinu, ale i míru suprese tvorby fyziologických řetězců (Tichý, 2006).

Monitorování sérových hladin VLŘ je užitečnou metodou ke sledování průběhu MM, ale i k hodnocení aktivity dosažené remise onemocnění. Stanovení VLŘ se doporučuje také k monitorování časně odpovědi na terapii (Ščudla, 2010).

5.4.3 Stanovení β 2-mikroglobulinu

β 2-mikroglobulin (B2M) je glykoprotein, který je homologní s konstantní částí těžkých Ig řetězců, je součástí HLA systému a je exprimován na všech jaderných buňkách.

Koncentrace B2M v séru i v moči je závislá na funkci ledvin, protože je odbouráván a vylučován v ledvinách. Hodnoty B2M spolu s koncentrací albuminu v séru jsou využívány v novém mezinárodním stážovacím systému (ISS) doporučeném International Myeloma Working Group (Tichý, 2006).

5.4.4 Kvantitativní stanovení polyklonálních Ig

Kvantitativní stanovení polyklonálních IgG, IgA a IgM je rutinně prováděno turbidimetricky nebo nefelometricky na základě reakce těžkých řetězců Ig s polyvalentním antisérem. Toto antisérum je specifické pro danou třídu těžkých řetězců. Určení kvantity paraproteinů turbidimetricky nebo nefelometricky může být přesnější než elektroforetické stanovení, zejména u vysokých koncentrací Ig (nad 50 g/l) (Tichý, 2006).

5.4.5 Hevylite – stanovení intaktních molekul Ig v séru

Hevylite (HLC - heavy/light chain) je nová analytická metoda, která velmi nadějně rozšiřuje dosavadní možnosti typizace a monitorování průběhu maligních MG.

Použité HLC protilátky umožňují separátní rozpoznání a kvantifikaci lehkých řetězců kappa a lambda v rámci jednotlivých tříd Ig, včetně stanovení poměru k/l, který koriguje variabilitu katabolismu IgG i ostatních Mlg a změny hematokritu i plazmatického objemu. Hevylite metodu lze s úspěchem použít u stavů s nízkou hodnotou M-komponenty.

Z randomizovaných studií vyplývá, že jde o metodiku citlivější, nežli je standardní ELFO bílkovin séra a s obdobnou, případně vyšší senzitivitou, než je IFE s výhodou poskytnutí i kvantitativně vyjádřených výsledků měření (Ščudla, 2010).

5.4.6 Morfologické hodnocení punktátu kostní dřeně.

Standardním postupem pro určení infiltrace KD plazmocyty je cytologické vyšetření nátěrů dřeňové krve získané sternální punkcí (SP) nebo trepanobiopsií.

Vzhledem k tomu, že IMWG zahrnuje jako jedno ze stěžejních diagnostických znaků přítomnost více než 10 % plazmocytů v KD, je nutno považovat vyšetření aspirátu KD za základní (Kačírková, 2007).

Aspirační biopsie KD se u nás nejčastěji provádí z těla sternální kosti (sternální punkce), nebo z oblasti zadního trnu kosti kyčelní (trepanobiopsie) v podmínkách místní infiltrační anestézie. Vzhledem k tomu, že se jedná o invazivní vyšetření je nutné získat informovaný souhlas pacienta. Aspirací získáme vzorek KD, ze které zhotovíme nátěry (Ščudla, 2006).

K obarvení nátěrů používáme Pappenheimovu metodu panoptického barvení (barvení roztoky May-Grünwald a Giemsa-Romanowski).

Diferenciace buněk tj. mikroskopický rozpočet se provádí pomocí optického mikroskopu při 1000 násobném zvětšení (imerzní objektiv).

Při mikroskopickém hodnocení nátěru získáváme informace o buněčnosti KD, hodnotíme morfologické a početní odchylky v jednotlivých vývojových řadách (Pecka, 2010).

Diagnostika MM založená na analýze aspirátu KD se zabývá nejen hodnocením početního zastoupení plazmocytů v KD, ale i pátráním po přítomnosti kvalitativních odchylek PB (Ščudla, 2006).

Normální zralé plazmocyty mají nízký nukleocytoplazmatický (N/C) poměr a excentricky uložené kulaté či oválné jádro bez patrných nukleolů. Chromatin je charakteristicky „loukoťovitě“ uspořádán. Cytoplazma je objemná, silně bazofilní s výrazným projasněním v oblasti Golgiho zóny. Mohou v ní být patrná drobná kulatá nebo oválná projasnění. Lze v ní vidět nahromaděné imunoglobuliny v podobě kapiček tzv. „grape cells“ (hroznovitý vzhled) neboli Mottovy buňky. Někdy bývá na okrajích zbarvena do červena tzv. plamenné plazmatické buňky nebo jsou v ní přítomny červené inkluze tzv. Rousselova tělíska. Často jsou přítomny intranukleární vakuoly tzv. Dutcherova tělíska (Pecka, 2006).

Je nutné zdůraznit, že vzhledem k ložiskovému charakteru postižení KD může být vyšetření touto technikou falešně negativní, proto by se technice aspirační biopsie i zhotovení roztěrového preparátu měla věnovat velká pozornost (Ščudla, 2006).

5.4.7 Histologické vyšetření

V případě husté infiltrace může být dostačující aspirace ze sternu a hodnocení cytologického nátěru. Pokud však počet plazmocytů získaných ze SP nesplňuje kritéria onemocnění MM a je podezření na toto onemocnění, je nutné provést trepanobiopsii a histologické vyšetření válečku KD (Adam, 2007).

Histologické vyšetření poskytuje celou řadu informací. Dokáže stanovit počet PB, jejich klonalitu, cytomorfologické charakteristiky, architektonický typ nádorové infiltrace a případně další prognostické znaky (Fabian, 2006).

5.4.8 Zobrazovací vyšetření

Zobrazovací techniky mají význam pro stanovení diagnózy MM, ale i pro sledování jeho léčby.

Při podezření na MM patří do standardního vyšetření rentgenové vyšetření osového skeletu, včetně krční, hrudní, bederní páteře a lebky, žeber, pánve, obou humerů a femurů.

Nepodstatně vyšší senzitivitu má vyšetření pomocí magnetické rezonance (MR). Toto vyšetření je esenciální pro nemocné s podezřením na kompresi míchy nebo kořenů míšních nervů, případně pro nemocné s bolestí zad a nejednoznačným výsledkem radiografického vyšetření. MR dobře rozpozná měkkotkáňovou infiltraci v kosti.

Počítačová tomografie (CT) – je vhodná v cílených indikacích vyplývajících z klinického podezření nebo rentgenového nálezu. CT nejpřesněji znázorňuje kostní strukturu.

Radionuklidové vyšetření pomocí technecia sestamibi (MIBI) je přínosné v detekci kostních i mimo kostních ložisek.

Radionuklidové vyšetření pomocí pozitronové emisní tomografie lze využít při negativním RTG vyšetření a klinické suspekci na kostní postižení, případně k monitorování nemoci, kde to není možné jinou metodou (Hájek, 2009).

5.4.9 Cytogenetické vyšetření

Obdobně jako u jiných hematologických malignit, tak i u MM se často setkáváme se specifickými početními i strukturními abnormalitami chromozomů.

Karyotypová nestabilita nádorových plazmatických buněk je častým rysem onemocnění, bývá přítomna i u pacientů s MM.

Vstupní cytogenetický nález je považován za rozhodující prognostický faktor. Značný pokrok v cytogenetice MM znamenal v posledních letech zavedení moderních molekulárně cytogenetických metod, zejména techniky fluorescenční hybridizace in situ (FISH), která využívá k detekci chromozomových změn specifické DNA sondy (Kuglík, 2006).

Velmi častým nálezem u nemocných s MM jsou pouze početní odchylky chromozomů, tzv. aneuploidie, které se vyskytují asi u 2/3 pacientů. Přibližně ve 40 % případů se jedná o tzv. hypodiploidii, to znamená, že v buňkách

maligních klonů je přítomno méně než 46 chromozomů. Dalších přibližně 60 % pacientů s MM má hyperdiploidii, tj. klonální zmnožení jednoho či více chromozomů. Nejčastějšími strukturními přestavbami u MM jsou chromozomové translokace zahrnující lokus pro těžký řetězec imunoglobulinu (IgH) na 14. chromozomu v oblasti 14q32, které jsou popisovány u 10-60 % nemocných při použití konvenční cytogenetické analýzy a až u 50-70 % nemocných při použití techniky FISH (Kuglík, 2006).

5.4.10 Imunofenotypizace

Průkaz určitého buněčného znaku se většinou provádí průtokovou cytometrií (FCM) metodou přímé imunofluorescence s monoklonálními protilátkami.

Vývoj plazmatických buněk z B lymfocytů je spojen s morfologickými změnami, ale i se změnami povrchové antigenní výbavy.

Lze využít i individuálního vyšetření imunofenotypu plazmatických buněk, neboť myelomové elementy se obvykle vyznačují i pozitivní expresí znaků CD13+, CD38+, CD45–, CD56+, CD79a+, CD126+ a zejména CD138 (Granátová, 2011).

Imunofenotypizace nehraje v diagnostice MM zásadní roli, uplatňuje se více v diagnostice morfologicky atypických myelomů, plazmocytoárních leukémií a v diferenciální diagnostice (Granátová, 2011).

5.4.11 Průkaz kryoglobulinů

Kryoglobuliny jsou bílkoviny, které precipitují nebo gelifikují při teplotách nižších než 37°C a po zahřátí se znovu rozpustí. Kryoprecipitační vlastnosti mohou mít monoklonální Ig, polyklonální Ig nebo může jít o smíšenou kryoglobulinemii (Tichý, 2006).

5.4.12 Vyšetření viskozity séra

U nemocných MG je indikováno stanovení viskozity séra při vysoké koncentraci paraproteinu, a to u IgM nad 40 g/l a u IgG nad 60 g/l.

V klinických laboratořích měříme obvykle relativní viskozitu vztaženou k viskozitě vody (Tichý, 2006).

5.4.13 Vyšetření krevního obrazu

Krevní obraz (KO) patří mezi základní vyšetření a využívá se k diagnostice a sledování léčby různých onemocnění. Pod pojmem KO se

většinou rozumí stanovení počtu krevních buněk a jejich parametrů (Pecka, 2010).

V krevním obraze u MM může být normochromní, normocytární, makrocytární anemie, retikulocytopenie, leukopenie či trombocytopenie (Pecka, 2006).

5.4.14 Hodnocení nátěru periferní krve

V krevním nátěru nacházíme „rouleaux“ (penízkovatění) erytrocytů a bazofilně zbarvené pozadí nátěru, způsobené přítomností paraproteinu.

Někdy nacházíme i ojedinělé lymfoplazmocytoidní lymfocyty či plazmocyty (Pecka, 2006).

5.5 Léčba a prognóza

Předpokladem úspěšné léčby je včasná diagnostika, proto Česká myelomová skupina v roce 2007 vytvořila program s názvem CRAB (Časnou diagnostikou za lepší kvalitu života) s cílem dosáhnout u většiny nemocných stanovení diagnózy MM včas (www.myeloma.cz).

Velkou odpovědnost mají lékaři „prvního kontaktu“, tj. praktičtí lékaři, ambulantní lékaři, ortopedi, neurologové, kteří obvykle přicházejí s nemocnými do styku již v počáteční fázi onemocnění a mohou tedy zcela zásadním způsobem rozhodnout o dalším průběhu onemocnění.

Vedení léčby nemocného s MM musí zajišťovat hematolog nebo onkolog. Účinná a velice odborná léčba však vyžaduje spolupráci lékařů mnoha specializací, neboli multidisciplinární tým, jehož členové znají všechny problémy spojené s léčbou tohoto onemocnění (Straub, 2008).

Z historického hlediska byly základními léky používanými v léčbě MM alkylační cytostatika, antracykliny a glukokortikoidy.

Možnosti léčby se během posledních let výrazně zlepšily. Imunomodulační léky thalidomid, lenalidomid a lék ze skupiny inhibitorů proteasomu bortezomib jsou klíčovými součástmi léčebných režimů.

Pro mladší pacienty v lepším zdravotním stavu je výhodou využití vysokodávkové chemoterapie a autologní transplantace kmenových buněk.

Přes veškerý pokrok je relaps tohoto onemocnění nevyhnutelný a nemoc zůstává nevléčitelnou, díky novým léčebným přístupům je však možno

dosáhnout nejen zlepšení léčebné odpovědi a kvality života, ale i významného prodloužení života nemocných (Hayden, 2009).

5.6 Hodnocení nové aktivity onemocnění (IMWG 2006)

Relaps onemocnění – označujeme novou aktivitu onemocnění po léčbě u nemocných, u kterých bylo předchozí léčbou dosaženo kompletní remise onemocnění.

Progrese onemocnění – znamená novou aktivitu onemocnění po léčbě v případě, že maximální léčebná odpověď byla horší než kompletní remise, ale lepší než minimální léčebná odpověď.

Refrakterní myelom – je definovaný jako onemocnění nereagující na léčbu nebo onemocnění progredující během 60 dnů od poslední léčby (Hájek, 2009).

5.7 Česká myelomová skupina

Velkou zásluhu na racionální organizaci a dobrých výsledcích péče o nemocné s MM v ČR má Česká myelomová skupina (CMG, Czech Myeloma Group), sdružení lékařů a dalších vědeckých a odborných pracovníků, jejichž cílem je výzkum, diagnostika a terapie MM a dalších podobných nemocí řazených do skupiny MG.

Členové tohoto občanského sdružení si kladou za cíl sdružit zdravotnické pracovníky z pracovišť zabývajících se sledováním léčby a léčbou MM za účelem tvorby společných léčebných protokolů, organizování klinických studií, zavádění nových poznatků do diagnostiky a léčby a vzdělávání.

Programem sdružení je laboratorní a klinický výzkum na dostatečně velkých Souborech pacientů, aby bylo možné získat statisticky významné výsledky.

CMG se v rámci svého poslání snaží v České republice zorganizovat u pacientů s MM klinické aktivity na standardní světové úrovni, a poskytnout tak nemocným optimální péči a rychlou dostupnost nejperspektivnějších postupů (www.myeloma.cz).

V České republice existují v současné době 2 registry obsahující a zpracovávající údaje o nemocných s MM.

Prvním je Národní onkologický registr (NOR), který byl ustanoven v roce 1976. Je to celoplošný registr nádorových onemocnění, obsahující data o prakticky všech onkologických pacientech. Tato data jsou získávána formou povinných hlášení každého onkologického onemocnění diagnostikujícím lékařem (Szotkowski, 2008).

V rámci České myelomové skupiny (CMG) vznikl Registr monoklonálních gamapatií (RMG), který eviduje všechny MG. Tento registr pracuje pomocí center CMG (www.myeloma.cz).

III PRAKTICKÁ ČÁST

6 Materiál a metody

6.1 Charakteristika použitých metod

6.1.1 ELFO a imunofixace

Ke kvantifikaci a typizaci monoklonální komponenty byla použita elektroforéza a imunofixace sérových proteinů (Sebia). Elektroforéza byla provedena dle charakteristik uvedených v Tab. 7 v kapitole Příloha, podkapitole 1 (Metody).

Imunofixace byla provedena pomocí soupravy Hydragel Double IF K20 firmy Sebia dle aplikačního listu firmy (SOP). Všechny uvedené reagensie v Tab. 7 jsou dodávány Ústavní lékárnou SZZ Krnov.

Sledování kvantity monoklonálního gradientu a určení jeho typu je u dispenzarizovaných pacientů prováděno v pravidelných intervalech za účelem sledování vývoje onemocnění (Tichý, 2006).

6.1.2 Vyšetření volných lehkých řetězců

Ke stanovení volných lehkých řetězců kappa a lambda byla použita souprava Freelite firmy Binding Site, která pracuje na principu imunoturbidimetrie.

Používaná protilátka, která je navázána na latexových částicích, detekuje tzv. hidden epitopy lokalizované na variabilních částech lehkých řetězců.

Měření bylo provedeno na automatickém analyzátoru AU640 firmy BeckmanCoulter (dříve Olympus). Podmínky pipetování, reakční poměry, inkubační časy, podmínky detekce a způsob vyhodnocení byl nastaven podle aplikačního protokolu firmy (SOP).

Hodnoty fyziologických mezí byly převzaty od výrobce soupravy a jsou:

VLŘ lambda	5.71 – 26.3 mg/l
VLŘ kappa	3.3 – 19.4 mg/l
Index k/l	0.26 – 1.65

6.2 Charakteristika souborů srovnávacích a posuzovaného

Porovnávali jsme diagnostickou senzitivitu biochemických testů.

Pro výpočet senzitivity musíme mít spolehlivě potvrzenou diagnózu, proto všichni pacienti zařazení do studovaných souborů splňují kritéria pro diagnózu mnohočetného myelomu dle doporučení České myelomové skupiny.

Diagnostická senzitivita je tedy ukazatelem spolehlivosti odhalit nemoc. Udává pravděpodobnost, že výsledek bude pozitivní, je-li vyšetřovaná osoba nemocná. Diagnosticky nejcennější testy mají co nejvyšší senzitivitu (Racek, 2006).

Výsledné hodnoty vyšetřovaných markerů jsou uvedeny v tabulkách. Do tabulek jsme uváděli naměřené průměrné hodnoty jednotlivých markerů a u věku používali mediány, což je v laboratorní diagnostice zvyklostí.

Většina pacientů s MM produkuje velké množství kappa nebo lambda VLŘ, které jsme schopni měřit v krvi nebo moči. Rozmezí hodnot v moči je širší než v séru, a proto jsme prováděli vyšetření VLŘ v séru. Výpočet indexu k/l je doplňující informací, která nás informuje o poměru myelomové populace k populaci normálních plazmatických buněk.

U většiny pacientů je poměr k/l abnormální a je citlivým ukazatelem onemocnění. Pokud je poměr k/l méně než 0,26 znamená to klonalitu lehkých řetězců lambda. Je-li poměr k/l větší než 1,65 znamená to klonalitu lehkých řetězců kappa. Pokud došlo k poklesu obou typů lehkých řetězců, je to hodnoceno jako léčebná odpověď (Adam, 2008).

6.2.1 Charakteristika srovnávacích Souborů

Do jednotlivých souborů (Soubory 1, 2, 3) jsme zařadili laboratorní výsledky vybraných pracovišť České a Slovenské republiky, které byly uvedeny v odborných člancích. Vybrali jsme takové údaje, které by mohly být srovnatelné s výsledky získanými v naší Centrální laboratoři (CL Krnov).

6.2.1.1 *Soubor 1*

U studovaného souboru byly sledovány sérové hladiny volných lehkých řetězců imunoglobulinu u mnohočetného myelomu.

Studovaný soubor tvořilo 130 nemocných s MM splňujících kritéria pro diagnostiku MM. Věkové rozmezí bylo 39 – 82 let, s mediánem 63 let. Zastoupení mužů a žen bylo v poměru 0,9:1 (Ščudla, 2008).

Sledované údaje jsou uvedeny v tabulce 8, 9, 10 v kapitole Příloha, podkapitola 2 (Porovnávací publikovaná data).

6.2.1.2 Soubor 2

Srovnávané údaje byly převzaty z práce s názvem Současná klasifikace, diagnostika a prognóza primárních monoklonálních gamapatií.

Statistický soubor tvořilo 995 pacientů s MM. Soubor pacientů byl sledován ve dvou skupinách od roku 1990 do roku 2009. Do souboru byli zařazeni pacienti ve věku 39 – 83 let s mediánem 56 let. Poměr zastoupení mužů a žen nebyl uveden (Sakalová, 2010).

Sledované údaje jsou uvedeny v tabulce 11 v kapitole Příloha, podkapitola 2 (Porovnávací publikovaná data).

6.2.1.3 Soubor 3

U studovaného souboru bylo provedeno srovnání detekce monoklonálního proteinu pomocí ELFO, imunofixace a VLŘ.

Soubor tvořilo 36 pacientů s diagnózou mnohočetný myelom ve věku 44 – 86 let s mediánem 65 let. Poměr zastoupení mužů a žen nebyl uveden (Špička, 2008).

U těchto pacientů byly sledovány parametry uvedené v tabulce 12 a 13 v kapitole Příloha, podkapitola 2 (Porovnávací publikovaná data).

6.2.2 Charakteristika Posuzovaného souboru

Analyzovaný soubor tvoří 10 pacientů s onemocněním mnohočetný myelom diagnostikovaných v období od roku 2009 – 2010. Tito pacienti byli sledováni v hematologické ambulanci CL Krnov. Do souboru byli zařazeni pacienti s nově diagnostikovaným onemocněním MM. Diagnóza byla spolehlivě potvrzena u všech pacientů. Jedná se o 6 žen a 4 muže ve věku od 52 do 86 let s mediánem 68 let.

7 Výsledky

V analyzovaných souborech jsme pracovali s údaji a hodnotami, které reprezentují pacienty s diagnostikovaným onemocněním mnohočetný myelom.

V rámci našich výsledků to znamená, že pokud bychom měli převahu pacientů se zvýšenými hodnotami LŘ lambda, pravděpodobně by se jednalo o patologickou sekreci lehkého řetězce lambda, opačně při výskytu patologie u markeru kappa by to patrně svědčilo pro patologickou sekreci LŘ kappa.

Proto jsme v našich tabulkách posuzovaného a srovnávacích souborů dělali průměry – jenom v rámci hodnot, které se vymykají fyziologickému rozmezí.

7.1 Přehled námi naměřených hodnot Posuzovaného souboru

U uvedených pacientů byla stanovena kvantita paraproteinu, typizace monoklonální komponenty, koncentrace volných lehkých řetězců kappa, lambda a poměr k/l. Tyto parametry byly sledovány v tabulce 14 v Příloze.

Výsledné hodnoty v tabulce našeho Posuzovaného souboru jsme získali zprůměrováním hodnot, které se vymykají fyziologickému rozmezí. Tyto hodnoty jsou zvýrazněny černě (tučně).

V tabulce 5 je znázorněno zastoupení typu paraproteinu u sledovaných pacientů. Nejvíce byl zastoupen paraprotein IgG a to v 50 % (u 5 pacientů), IgA ve 20 % (2 pacienti), B-J typ ve 20 % (2 pacienti), nesekreční forma v 10 % (1 pacient).

Dále v této tabulce můžeme sledovat rozlišení pacientů dle typu lehkého řetězce – 60 % (6 pacientů) má typ LŘ kappa a 40 % (4 pacienti) je typu LŘ lambda.

Tab. 5. Zastoupení typu paraproteinu u Posuzovaného souboru pacientů

Typ paraproteinu	Počet pacientů	Zastoupení v %
IgG	5	50
IgA	2	20
B-J	2	20
IgM	0	0
Nesekreční	1	10
Typ lehkého řetězce Kappa	6	60
Typ lehkého řetězce Lambda	4	40

U Posuzovaného souboru deseti pacientů (viz Tab. 14, v Příloze) nám vyšly pozitivní hodnoty Mlg metodou ELFO (SPE) s průměrnou hodnotou 19,2 g/l, pomocí IFE byl Mlg nalezen ve všech případech. Dále nám vyšly patologické hodnoty koncentrací VLŘ kappa s průměrnou hodnotou 31,4 mg/l a patologické hodnoty koncentrací lambda s průměrnou hodnotou 1574,23 mg/l.

Abnormální index k/l byl vyhodnocen s průměrnými hodnotami u indexu kappa 22,43 a 0,012 u indexu lambda.

7.2 Porovnání souborů

Porovnávali jsme diagnostickou senzitivitu jednotlivých metod (viz graf 1). Hodnoty pro sloupce grafu 1 jsme použili z tabulky 16 (v Příloze).

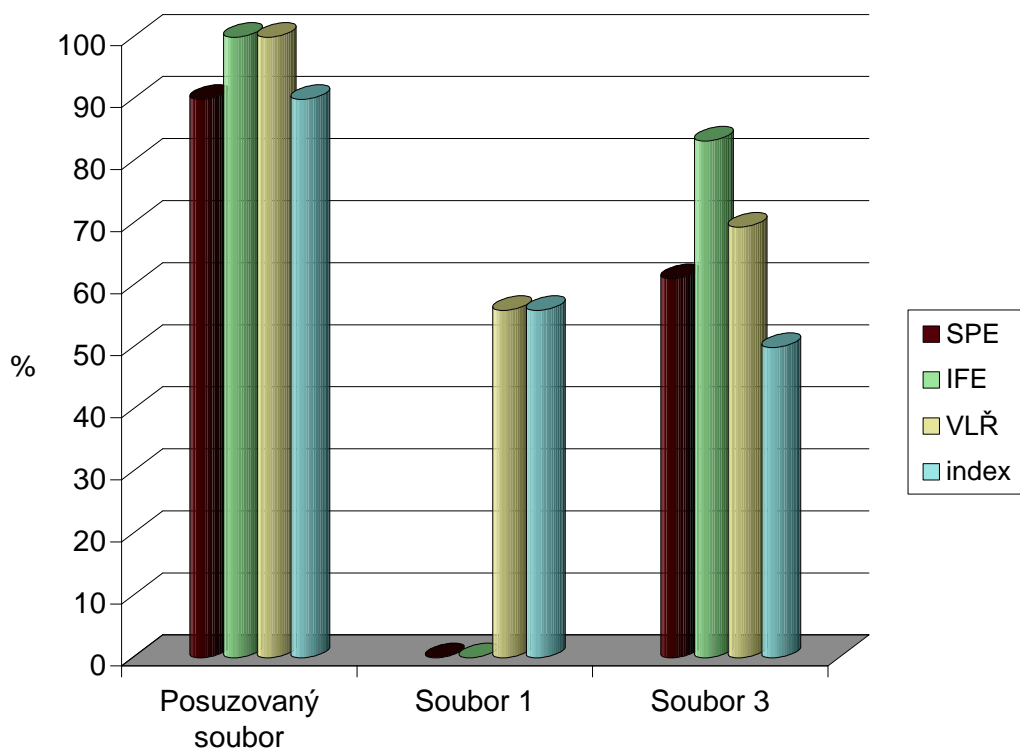
Náš Posuzovaný soubor má hodnoty nejvyšší a prostřední dva sloupce v něm jsou vyšší než krajní v této čtveřici. Analogický trend vidíme v Souboru 3. Naopak v Souboru 1, kde jsou jen dva sloupce – není mezi nimi rozdíl, který by se dal očekávat.

Z tohoto hlediska byly vyhodnoceny všechny metody (SPE, IFE, VLŘ). Pomocí IFE byl paraprotein v **Posuzovaném souboru** detekován ve 100 % (10 pacientů), SPE v 90 % (9 pacientů). Pomocí stanovení VLŘ kappa u 70 % (7 pacientů) a VLŘ lambda u 30 % (3 pacienti). Patologický index k/l byl vyhodnocen v 90 % (9 pacientů).

Srovnání jsme provedli se Soubory 1 a 3. V **Souboru 1** byl Mlg detekován pomocí VLŘ kappa v 54,5 % (48 pacientů) a v 57,1 % (24 pacientů). Abnormální index k/l mělo 56 % pacientů.

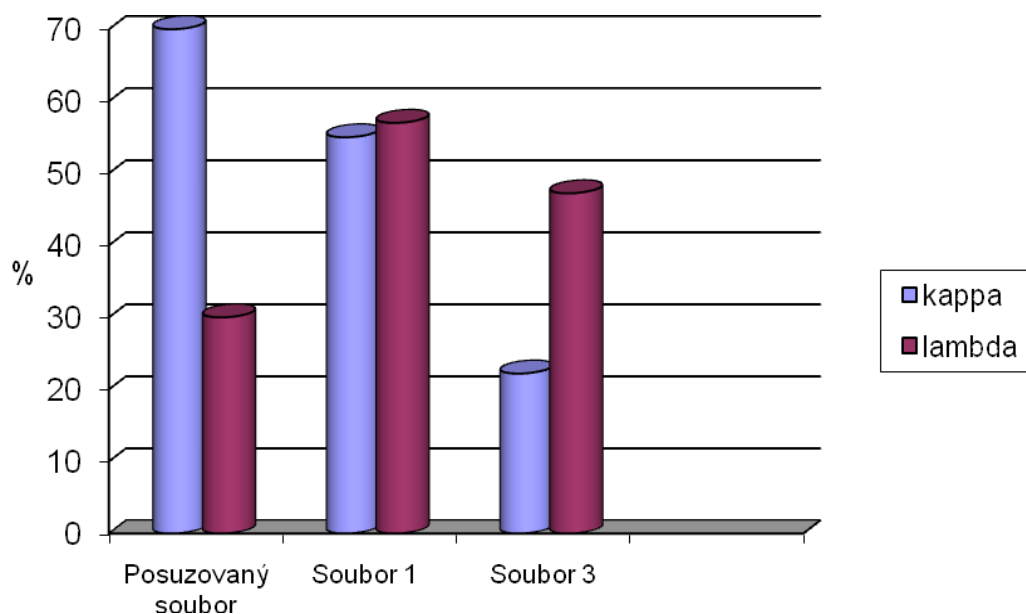
V **Souboru 3** byl Mlg detekován pomocí SPE v 61,1 % (22 pacientů), IFE v 83,3 % (30 pacientů), VLŘ v 69,44 % (25 pacientů), z toho VLŘ kappa ve 22,22 % (8 pacientů) a VLŘ lambda ve 47,22 % (17 pacientů). Abnormální index byl určen u 50 % (18 pacientů).

Graf 1. Porovnání diagnostické senzitivity testů u pacientů s MM (Posuzovaný soubor a Soubory 1, 3)



Srovnávali jsme procentuální zastoupení VLŘ v analyzovaných souborech s naším Posuzovaným souborem (viz graf 2). Hodnoty pro sloupce grafu 2 jsme vybrali z tabulky 16 (v Příloze).

Graf. 2. Srovnání zastoupení jednotlivých typů volných lehkých řetězců s analyzovanými soubory



Graf 2 nám ukazuje procentuální zastoupení jednotlivých patologických hodnot (K, L) ve vybraných souborech a srovnání s hodnotami v **Posuzovaném souboru**. V našem **Posuzovaném souboru** byly nalezeny patologické hodnoty LŘ kappa u 70 % a patologické koncentrace LŘ lambda u 30 % nemocných.

V **Souboru 1** byla patologická sekrece LŘ kappa u 54,5 % a u LŘ lambda u 57,1 % . V **Souboru 3** byla nalezena patologická sekrece LŘ kappa u 22,22 % a LŘ lambda u 47,22 % nemocných.

Při srovnávání četnosti zastoupení jednotlivých typů paraproteinu (viz Tab. 6) ve srovnávacích souborech byl nejvíce zastoupen u **Souboru 1** typ IgG a to v 62 %, IgA ve 22 %, typ B-J v **Souboru 2** v 15 %.

V **Souboru 3** byl typ IgG zastoupen ve 44,33 % a IgA ve 22,16 %. Ostatní paraproteiny byly detekovány v **Souborech 1** a **2** v nízkém procentuálním zastoupení.

V Posuzovaném souboru byl nejčastěji detekován typ IgG a dále pak IgA, ve srovnatelném procentuálním zastoupení jako v ostatních souborech.

Tab. 6. Srovnání četnosti paraproteinu ve vybraných souborech s Posuzovaným souborem

Typ Ig	Posuzovaný soubor %	Soubor 1 %	Soubor 2 %	Soubor 3 %
IgG	50	62	49,4	44,3
IgA	20	22	19,1	22,16
B-J	20	12	15,0	nesledováno
IgD	0	2	0	nesledováno
Biklonální	0	2	2,5	nesledováno
Nesekreční	10	0	4,5	nesledováno
IgE	0	0	0,3	nesledováno
AL + MM	0	0	3,8	nesledováno

7.2.1 Srovnávací soubory (1, 2, 3)

Zaznamenali jsme pozitivní hodnoty VLŘ v **Souboru 1** (viz Tab. 15, 16 Příloha) u 54,5 % pacientů s aktivním onemocněním s průměrnou hodnotou VLŘ kappa 159,45 mg/l a VLŘ lambda u 57,1 % s průměrnou hodnotou 163,6 mg/l. Abnormální index k/l byl nalezen u 56 % s průměrnou hodnotou indexu kappa 16,95 a indexu lambda 0,10.

Soubor 2 (viz Tab. 11 Příloha) nám sloužil pouze ke srovnání jednotlivých typů paraproteinu. Nejvíce byl zastoupen monoklonální imunoglobulin IgG a to v 49,4 % (IgG kappa 36,9 %, IgG lambda 12,5 %).

Ve srovnávacím **Souboru 3** (viz Tab. 13, 15, 16 Příloha) byl pomocí ELFO detekován paraprotein ve 22 případech (61,1 %) s průměrnou hodnotou 16,6 g/l, metodou IFE ve 30 případech (83,3 %) a podle VLŘ ve 25 případech (69,44 %) s průměrnou hodnotou kappa 266,98 mg/l u 8 pacientů (22,22 %) a lambda 2170,71 mg/l u 17 pacientů (47,22 %). Abnormální index k/l byl stanoven v 18 případech (50 %) s průměrnou hodnotou kappa 33,08 a 0,061 u lambda. V 6 případech nebyl paraprotein detekován vůbec.

Tab. 6. Srovnání četnosti paraproteinu ve vybraných souborech s Posuzovaným souborem

Typ Ig	Posuzovaný soubor %	Soubor 1 %	Soubor 2 %	Soubor 3 %
IgG	50	62	49,4	44,3
IgA	20	22	19,1	22,16
B-J	20	12	15,0	nesledováno
IgD	0	2	0	nesledováno
Biklonální	0	2	2,5	nesledováno
Nesekreční	10	0	4,5	nesledováno
IgE	0	0	0,3	nesledováno
AL + MM	0	0	3,8	nesledováno

7.3 Vybrané kazuistiky

Na několika uvedených kazuistikách bychom chtěli ukázat některé praktické případy zachycené v hematologické ambulanci CL.

Vybrali jsme typické příklady záchyty onemocnění MM. Z následujících odstavců vyplývá, jak komplikovaná je cesta ke správné diagnóze.

KAZUISTIKA č. 1: Muž 80 let hospitalizován na interním oddělení pro renální insuficienci s hodnotou kreatininu 255 $\mu\text{mol/l}$. Následující vyšetření potvrdila diagnózu **Mnohočetný myelom IgG kappa st. II B.**

KAZUISTIKA č. 2: Žena 66 let odeslána v roce 2006 obvodní lékařkou pro občasnou tvorbu petechií a časté krvácení z dásní. Nově stanovená diagnóza – **Mnohočetný myelom Ig A kappa I A.**

KAZUISTIKA č. 3: Žena 87 let hospitalizovaná na interním oddělení pro kolapsový stav a nechutenství. Zjištěna makrocytární anemie a hyperkalcémie. Po dalším došetřování byla stanovena diagnóza **Mnohočetný myelom II A, nesekreční, lambda free.**

Všechny kazuistiky jsou podrobně popsány v kapitole Příloha, podkapitola 4 (Kazuistiky).

8 Diskuse

Jedním z cílů této práce bylo srovnání metod (ELFO, IFE, VLŘ) z hlediska citlivosti záchytu paraproteinu.

V Posuzovaném souboru bylo procento úspěšnosti záchytu paraproteinu maximální. S použitím IFE byla prokázána hladina Mlg dokonce u všech 10 pacientů tj. ve 100 %, což je o 10 % více než pomocí ELFO (90 %).

Při tak malém počtu pacientů je ovšem tento rozdíl statisticky nevýznamný.

Vyšetření koncentrací VLŘ v séru ukázalo, že toto vyšetření právem rozšiřuje spektrum metod používaných k diagnostice MM. V našem Posuzovaném souboru byly patologické hodnoty VLŘ kappa nalezeny u 70 % nemocných a VLŘ lambda u 30 % pacientů, což znamená 100 % úspěšnost.

Abnormální hodnoty indexu k/l byly nalezeny u 90 % pacientů. Z tohoto hodnocení vyplývá, že index k/l patří k citlivým ukazatelům v diagnostice MM.

Ve srovnávacích Souborech byla pomocí IFE v **Souboru 3** prokázána pozitivní hladina Mlg u 30 pacientů tj. v 83,3 %, což je o 22,2 % více než průkaz pomocí ELFO (61,1 %).

Sekrece VLŘ kappa byla ve srovnávacím **Souboru 3** nalezena ve 22,22 % a VLŘ lambda ve 47,22 % (celkem 69,44 %) což je o 8,3 % citlivější než ELFO, ale o 13,89 % méně citlivější než IFE. Abnormální index k/l byl stanoven u 50 % pacientů.

Ve srovnávacím **Souboru 1** byly vyhodnoceny patologické hladiny VLŘ kappa u 54,5 % a lambda 57,1 %, abnormální index k/l byl stanoven u 56 % pacientů. Ostatní parametry nebyly sledovány a z toho důvodu nemohly být vyhodnoceny.

Dále jsme v této práci zjišťovali četnost zastoupení jednotlivých paraproteinů. Nejčastěji byl zastoupen ve všech souborech monoklonální imunoglobulin IgG.

9 Závěr

Námi vyšetřený Posuzovaný soubor je malý a pro statistické srovnání může sloužit jen jako orientační. Z našich výsledků vyplývá, že kromě metody SPE patří IFE a stanovení koncentrací VLŘ mezi velmi citlivé metody záchytu paraproteinu u pacientů s mnohočetným myelomem.

V našem malém Souboru i v převzatých větších Souborech byl nejvíce zastoupen paraprotein typu IgG.

Výhodou vyšetření VLŘ a indexu k/l proti IFE je schopnost kvantitativního vyjádření zjištěných hladin VLŘ. Monitorování hladin VLŘ a indexu k/l je určitě výhodnějším a méně náročným vyšetřením než opakovaná vyšetření pomocí zobrazovacích technik nebo nepříjemná invazivní vyšetření, která zjišťují zastoupení plazmocytů ve dřeni.

Z uvedeného vyplývá, že stanovení koncentrací VLŘ a indexu k/l významně rozšiřuje výčet metod laboratorní diagnostiky mnohočetného myelomu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ADAM, Z., VORLÍČEK, J. ET AL.: Hematologie pro praktické lékaře. 1. vyd. Praha: Galén, 2007, s.191-224. ISBN 978-80-7262-453-9.
2. ADAM, Z.,VORLÍČEK, J.ET AL.: Hematologie II. Přehled maligních hematologických nemocí. 1. vyd. Praha: Grada, 2001, s. 461-499. ISBN 80-247-0116-2.
3. ADAM, Z.: Hematologické choroby nízkého stupně malignity. 1.vyd. Brno: Masarykova univerzita, 1997, s.145-146. ISBN 80-210-1571-3.
4. ADAM, Z., KREJČÍ, M., VORLÍČEK, J. ET AL.: Hematologie Přehled maligních hematologických nemocí. 2. vyd. Praha: Grada, 2008 s. 203-223. ISBN 978-80-247-2502-4.
5. BALCÁRKOVÁ, J. ET AL.: Molekulárně cytogenetická analýza plazmatických buněk, Transfuze a hematologie dnes, 2007, roč. 13, č. 4, s.176-177.
6. FABIAN, P.: Možnosti histologického vyšetření kostní dřeně při diagnostice mnohočetného myelomu, 2006, Dostupnost na: http://www.vnitrnilekarstvi.cz/pdf/vl_06_11_26.pdf (cit. 25.6. 2011)
7. GRANÁTOVÁ, J., Monoklonální gamapatie, Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi , verze 10, březen 2011. Dostupnost na: <http://172.20.0.104/projekt/encyklopedie/html/startA.htm> (cit.1.7.2011)
8. HÁJEK, R. ET AL.: Souhrn doporučení 2009, Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu, Transfuze a hematologie dnes, 2009, roč. 15, Supplementum 2, s.5-22.
9. HAYDEN, P. ET AL.: Novinky v léčbě mnohočetného myelomu, Current Opinion in Hematology, Medical Tribune CZ, 2009, ročník 1, č. 1, s. 9-13. ISSN 1803-683X.
10. KAČÍRKOVÁ, P., CAMPR, V. : Hematoonkologický atlas krve a kostní dřeně, 1. vyd. Praha: Grada, 2007, s. 173-175. ISBN 978-80-247-1853-8.
11. KUGLÍK, P. ET AL.: Význam a současné možnosti diagnostiky cytogenetických změn u mnohočetného myelomu. Vnitř Lék 2006; 52(S2) Dostupnost na:

<http://www.myeloma.cz/res/file/archiv/brozura-jak-neprosvihnout-myelom/Vyznam-a-soucasne-moznosti-diagnostiky-cytogenetickyh-zmen-u-mnohocetneho-myelomu.pdf> (cit.20.6.2011)

12. MAISNAR, V., HÁJEK, R. : Změny v diagnostických kritériích a léčebné odpovědi u mnohočetného myelomu, Klinická biochemie a metabolismus, 2008, roč. 16, č. 2, s. 84-87
13. PECKA, M.: Laboratorní hematologie v přehledu (2.díl). 1.vyd. Český Těšín : Infiniti Art, s.r.o. , 2006, 304 s. ISBN 80-86682-02-1.
14. PECKA, M. ET AL.: Praktická hematologie. Laboratorní metody. 1.vyd. Český Těšín : Infiniti Art, s.r.o. , 2010, 343 s. ISBN 978-80-903871-9-5.
15. RACEK, J. ET AL.: Klinická biochemie.2. Přehracované vydání. Praha: Galén, 2006, 329 s. ISBN 80-7262-324-9.
16. SAKALOVÁ, A. ET AL.: Súčasná klasifikácia, diagnostika a prognóza primárnych monoklonových gamapatií, Transfúze a hematologie dnes, 2010, roč. 16, č. 4, s.193-200.
17. SOP pro laboratorní vyšetření č. 1011251: Sternální punkce, CL Krnov, platnost od. 3.1.2011
18. SOP pro laboratorní vyšetření č. 1011199: Elektroforéza proteinů a imunofixace, CL Krnov, účinnost od. 5.1.2011
19. SOP pro laboratorní vyšetření č. 1011221: Stanovení hmotnostní koncentrace volných lehkých řetězců kappa a lambda v séru turbidimetrickou metodou, CL Krnov, účinnost od 1.11. 2010
20. STRAUB, J. ET AL.: Doporučení České myelomové skupiny pro zajištění časné diagnostiky mnohočetného myelomu v podmínkách ambulantní praxe, Transfúze a hematologie dnes, 2008, roč. 14, č. 2, s. 93-94.
21. SZOTKOWSKI, T. ET AL.: Analýza záznamů Národního onkologického registru, Transfúze a hematologie dnes, 2008, roč. 14, č. 2, s. 71-72
22. ŠČUDLA V.ET AL.: Klinický význam hodnocení sérových hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu u monoklonálních gamapatií, Klinická biochemie a metabolismus, 2008, roč. 16, č. 2, s. 76 - 83.
23. ŠČUDLA, V.ET AL.: Hevylite – nová analytická metoda v diagnostice a hodnocení průběhu monoklonálních gamapatií, Klinická biochemie a metabolismus, 2010, roč. 18, č. 2, s. 62-67.

24. ŠČUDLA, V. ET AL.: Diagnostický význam a úskalí hodnocení roztěrového preparátu kostní dřeně u mnohočetného myelomu, Dostupnost na : <http://www.myeloma.cz/res/file/archiv/brozura-jak-neprosvihnout-myelom/Diagnostiky-vyznam-a-uskali-hodnoceni-rozteroveho-preparatu-kostni-drene-u-mnohocetneho-myelomu.pdf>
(cit.18.6.2011)
25. ŠPIČKA, I.: Mnohočetný myelom, Dostupnost na: <http://www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina/mnohocetny-myelom> (cit.10.6.2011)
26. ŠPIČKA, I., MECL, J. ET AL.: Srovnání detekce monoklonálního proteinu pomocí současně dostupných biochemických metod, Klinická biochemie a metabolismus, 2008, roč. 16, č. 2, s. 89-92.
27. TICHÝ, M., MAISNAR, V.: Laboratorní průkaz monoklonálních imunoglobulinů, Dostupnost na: <http://www.myeloma.cz/res/file/archiv/brozura-jak-neprosvihnout-myelom/Laboratorni-prukaz-monoklonalnich-imunoglobulinu.pdf>
(cit.12.6.2011)
28. Oficiální stránky České myelomové společnosti, Dostupnost na: www.myeloma.cz/ (cit.5.7.2011)

PŘÍLOHA

I METODY

Tab. 7. Charakteristika elektroforetického provedení

Nosič stacionární fáze	Skleněná deska			
Stacionární fáze	Agaróza 1%			Vlastní příprava
Mobilní fáze	Diethylbarbitalová kyselina Barbitalum natrium Calcium lacticum		5,18 g 32,85 g 0,72 g	Vlastní příprava
Fixační roztok	Kys. pikrová (nasycený roztok) + kys. octová			Vlastní příprava
Barvicí roztok	Amidočern 10B Kys. octová Ethanol H ₂ O		4 g 100 ml 450 ml 450 ml	Vlastní příprava
Odbarvovací roztok	Methanol Kys. octová H ₂ O		450 ml 100 ml 450 ml	Vlastní příprava
Množství vzorku	4 µl			
ELFO	214V	250-350 mA	45 min	
Fixační fáze	Fixační roztok		13 min	
	Ethanol		5 min	
Sušení	100°C		30 min	
Barvení	Barvicí roztok		13 min	
Odbarvování	viz odbarvovací roztok		Do zřetelného odbarvení	

II POROVNÁVACÍ PUBLIKOVANÁ DATA

Tab. 8. Naměřené průměrné hodnoty u Souboru 1, MM, VLŘ kappa

	Počet pacientů	VLŘ kappa [mg/l]	VLŘ lambda [mg/l]	Index k/l
Celkem	88	46,3	8,3	5,28
Aktivní onemocnění	48	159,45	7,05	16,95
Stabilní onemocnění	40	25,05	9,5	2,4

Tab. 9. Naměřené průměrné hodnoty u Souboru 1, MM, VLŘ lambda

	Počet pacientů	VLŘ kappa [mg/l]	VLŘ lambda [mg/l]	Index k/l
Celkem	42	9,8	95	0,11
Aktivní onemocnění	24	8,75	163,6	0,10
Stabilní onemocnění	18	10,95	22,95	0,40

Tab. 10. Zastoupení jednotlivých typů paraproteinů u Souboru 1

Typ paraproteinu	Počet pacientů	Zastoupení v %
IgG	83	62
IgA	29	22
B-J	14	12
IgD	2	2
Biklonální	2	2
Typ lehkého řetězce kappa	88	68
Typ lehkého řetězce lambda	42	32

Tab. 11. Zastoupení jednotlivých typů Ig v Souboru 2

Typ Ig	Zastoupení v %
IgG kappa	36,9
IgG lambda	12,5
IgA kappa	11,0
IgA lambda	8,1
IgM	0,6
IgD	0,9
IgE	0,3
Biklonální	2,5
Nesekreční	4,5
Lehké řetězce	3,9
Asymptomatický	15,0
AL amyloidóza + MM	3,8

Tab. 13. Srovnání metod ELFO, imunofixace a VLŘ v Souboru 3

Pacient č.	SPE Mlg [g/l]	IFE	Kappa [mg/l]	Lambda [mg/l]	Index k/l
1	49,13	IgG-L	<5,90	660,0	0,01
2	negativní	IgG-K	14,4	22,1	0,65
3	negativní	IgG-L	<5,90	42,1	0,14
4	negativní	IgG-L	14,1	89,7	0,16
5	negativní	negativní	14,2	41,7	0,34
6	negativní	negativní	12,4	52,0	0,24
7	negativní	negativní	12,8	30,7	0,42
8	negativní	negativní	12,5	18,8	0,66
9	negativní	IgA-L	8,4	29,6	0,28
10	13,0	LŘ-L	10,3	221,0	0,05
11	negativní	LŘ-K	613	8,70	70,46
12	negativní	IgG-K	<5,9	19,8	0,3
13	4,53	LŘ-L	29,9	827,0	0,04
14	9,92	IgG-L	8,4	552,0	0,02
15	negativní	IgA-L	5,90	19,8	0,3
16	23,3	IgA-K	106,0	8,70	12,18
17	23,34	IgA-K	142,0	12,8	11,1
18	12,02	IgA-K	49,4	12,2	4,05
19	1,86	LŘ-L	19,0	569,0	0,03
20	35,95	IgA-K	37,4	14,0	2,67
21	22,88	IgG-L	6,1	934,0	0,01
22	4,72	IgG-L	5,90	24,0	0,25
23	5,98	IgG-K	8,7	16,2	0,54
24	4,54	IgG-K	7,6	13,4	0,57
25	3,98	IgG-K	15,5	14,7	1,05
26	15,24	IgG K	1010,0	10,3	98,06
27	15,24	LŘ-L	5,90	281,0	0,02
28	21,65	IgG-K	10,6	22,8	0,46
29	78,93	IgA-K	738,0	18,0	41

Pacient č.	SPE Mlg [g/l]	IFE	Kappa [mg/l]	Lambda [mg/l]	Index k/l
30	1,47	IgG-K	5,90	20,8	0,28
31	negativní	IgG-K	5,90	15,6	0,38
32	10,27	IgA-L	5,90	3080,0	0,001
33	1,62	IgG-L	23,2	65,3	0,36
34	negativní	negativní	11,9	23,2	0,51
35	negativní	negativní	11,7	27,1	0,53
36	4,62	LŘ-L	5,90	29400,0	0,0002
Průměr	16,6	-	266,98	2170,71	Kappa 33,08
					Lambda 0,061

III NAŠE NOVÉ VÝSLEDKY

Tab. 14. Naměřené hodnoty sledovaných vyšetření u posuzovaného souboru pacientů (ELFO, imunofixace a VLŘ v séru).

Pacient č.	Věk	SPE Mlg [g/l]	Serum IFE	Kappa [mg/l]	Lambda [mg/l]	Index k/l
1	68	20,5	IgG-K	43,58	20,20	2,159
2	65	13,9	IgA-K	17,86	10,74	1,66
3	86	2,6	Nes.-L	0,6	0,9	0,66
4	78	75,0	IgG-K	22,8	0,2	114
5	77	44,6	IgG-L	9,66	870,96	0,011
6	57	negativní	LŘ-L	25,75	1694,73	0,015
7	62	25,3	IgG-K	28,95	5,1	5,68
8	52	10,0	IgA-K	32,6	3,59	9,08
9	64	4,1	IgG-K	46,53	22,57	2,06
10	76	12,1	LŘ-L	19,91	2157,0	0,01

Průměr	68	16,6	-	31,40	1574,23	Kappa 22,43 Lambda 0,012

Tab. 15. Hodnocení vybraných parametrů, srovnání naměřených průměrných hodnot s vybranými Soubory

	Naměřené hodnoty	Soubor 1	Soubor 3
SPE Mlg	19,2 g/l	nesledováno	16,6 g/l
VLŘ kappa	31,4 mg/l	159,45 mg/l	266,98 mg/l
VLŘ lambda	1574,23 mg/l	163,6 mg/l	2170,71 mg/l
Index kappa	22,43	16,95	33,08
Index lambda	0,012	0,10	0,061

Tab. 16. Porovnání diagnostické senzitivity testů, počet pozitivních pacientů, počet v %, srovnání jednotlivých metod

	Posuzovaný soubor		Soubor 1		Soubor 3	
	Počet	%	Počet	%	Počet	%
SPE (Mlg)	9	90	Nesled.	Nesled.	22	61,1
IFE	10	100	Nesled.	Nesled.	30	83,3
VLŘ K	7	70	48	54,5	8	22,2
VLŘ L	3	30	24	57,1	17	47,22
Index k/l	9	90	48 a 24	56	18	50

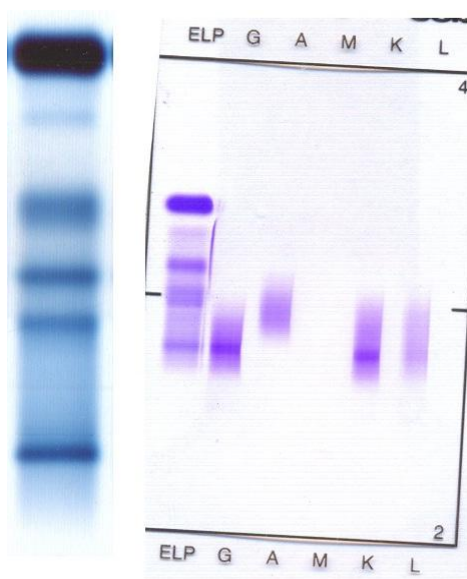
IV KAZUISTIKY

KAZUISTIKA Č. 1

Muž 80 let hospitalizován na interním oddělení pro renální insuficienci s hodnotou kreatininu 255 umol/l. V rámci laboratorního vyšetření při přijetí zjištěna hladina hemoglobinu 95 g/l a hodnota FW - 110.

Provedeno hematologické konziliární vyšetření. KD zasažena masivní infiltrací plazmatickými buňkami - 43,6%. V séru pomocí SPE zjištěna hodnota paraproteinu 65 g/l, IFE identifikován IgG kappa, elevace volných lehkých řetězců kappa a kappa/lambda indexu. Provedena i trepanobiopsie a rentgenové vyšetření. Všechna vyšetření potvrdila diagnózu **Mnohočetný myelom IgG kappa st. II B.**

Foto 1. Elektroforéza a imunofixace pacienta (kazuistika č. 1)



KAZUISTIKA Č. 2

Žena 66 let odeslána v roce 2006 obvodní lékařkou pro občasnou tvorbu petechií a časté krvácení z dásní ke speciálnímu hematologickému vyšetření.

V rámci komplexního vyšetření zjištěn paraprotein IgA kappa.

Diagnóza uzavřena jako MGUS. Pacientka dále dispenzarizována v hematologické ambulanci.

V roce 2007 mírný vzestup koncentrace monoklonálního IgA. V roztěrovém preparátu KD zjištěno 13% plazmatických buněk. Trepanobiopsií

zjištěna přítomnost monoklonálních plazmocytů exprimujících kappa lehké řetězce. Nově stanovená diagnóza Mnohočetný myelom Ig A kappa I A.

KAZUISTIKA Č. 3

Žena 87 let hospitalizovaná na interním oddělení pro kolapsový stav a nechutenství.

Zjištěna makrocytární anemie a hyperkalcémie. Následně došetřována v hematologické ambulanci. Ve SP průkaz 43% plazmatických buněk, hodnota Ca 2,9 mmol/l, ELFO séra bez průkazu MIG, proteinurie 0,5 g.

Provedena celotělová MIBI s patologickým nálezem svědčícím pro možnost aktivního myelomu. Dále provedena imunofenotypizace KD. V KD se nacházelo 19% velkých buněk CD38+, CD138+. Na základě těchto vyšetření byla pacientka odeslána do FN Olomouc, kde byla stanovena diagnóza **Mnohočetný myelom II A, nesekreční, lambda free.**