

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biologických a lékařských věd

Hyperviskózní syndrom u pacientů s monoklonální gamapatií

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Ilona Fátorová

Konzultant bakalářské práce: prof. MUDr. Vladimír Maisnar, Ph.D., MBA

Hradec Králové 2014

Radka Vaňková

„Prohlašuji, že tato bakalářská práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem čerpala, řádně cituji a jsou uvedena v seznamu použité literatury. Práce nebyla využita pro získání jiného nebo stejného titulu.“

datum

podpis

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat konzultantovi prof. MUDr. Vladimírovi Maisnarovi, Ph.D., MBA za poskytnutí všech materiálů a literatury pro sepsání této bakalářské práce a za velkou trpělivost a odborné rady z mnohaleté praxe. Dále děkuji vedoucí bakalářské práce Mgr. Iloně Fátorové za odborné vedení práce, výpomoc při jejím zpracování a za věcné připomínky a rady.

Abstrakt

Práce se zabývá posouzením korelace mezi vybranými laboratorními parametry používaných při diagnostice hyperviskózního syndromu a při průkazu monoklonálního imunoglobulinu. Na konkrétních příkladech je graficky znázorněn vliv léčebné plazmaferézy na laboratorní parametry a klinický stav pacienta.

Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. V teoretické části jsou shrnuty poznatky o diagnostice, klinických projevech a způsobu léčby hyperviskózního syndromu. Dále je uvedena historie monoklonálních gamapatií s rozdělením do dvou základních skupin. V rámci skupiny maligních monoklonálních gamapatií jsou podrobně popsána dvě onemocnění, která úzce souvisí s hyperviskózním syndromem. Prvním je Waldenströmova makroglobulinémie a druhým je mnohočetný myelom. U obou onemocnění je uveden jejich výskyt, definice, etiologie, patofyziologie, laboratorní nález a klinické příznaky. Dále jsou stručně vyjmenovány metody průkazu monoklonálního imunoglobulinu.

V praktické části je uveden popis laboratorních vyšetření, kterými byla získána laboratorní data sledovaného souboru pacientů. Laboratorní data byla zpracována metodou regrese v aplikaci Microsoft Office Excel 2007. Byla prokázána statisticky významná závislost mezi hodnotou viskozity a některým ze sledovaných parametrů. Závislost nebyla lineární. Provedená analýza prokázala lineární závislost pouze mezi koncentracemi monoklonálního imunoglobulinu a celkové bílkoviny. Jsou uvedeny příklady z praxe demonstrující účinnost léčebné plazmaferézy jak na hladiny viskozity plazmy a koncentrace celkové bílkoviny séra, tak na klinický stav pacienta. Data byla zpracována v aplikaci Microsoft Office Excel 2007 a znázorněna spojnicovým grafem. Z uvedených příkladů jednoznačně vyplývá pozitivní vliv léčebné plazmaferézy a to jak na snížení hladin viskozity plazmy a koncentrace celkové bílkoviny, tak na zlepšení stavu nemocného s rychlým ústupem klinických obtíží.

Abstract

The thesis deals with the assessment of correlations between selected laboratory parameters used in the diagnosis hyperviscosity syndrome and the determination of monoclonal immunoglobulin. By means of specific examples is graphically illustrated the effect of therapeutic plasmapheresis on laboratory parameters and the clinical condition of the patient.

The thesis is divided into theoretical and practical parts. In the theoretical part are summarized the findings of the diagnosis, clinical manifestations and therapeutic methods of hyperviscosity syndrome. Further the history of monoclonal gammopathies is stated with splitting in two basic groups. Within the group of malignant monoclonal gammopathies are described in detail two diseases that are closely related to hyperviscosity syndrome. The first is Waldenström's macroglobulinemia and the second is multiple myeloma. In both diseases is shown their prevalence, definition, etiology, pathophysiology, laboratory findings and clinical symptoms. Further are briefly described methods used for determination of monoclonal immunoglobulin.

The practical part describes the laboratory tests, which were obtained laboratory data of the reference group of patients. Laboratory data were processed by regression in Microsoft Office Excel 2007. A statistically significant correlation between the value of the viscosity and some of the observed parameters was proven. Correlation was not linear. The performed analysis proved only the linear correlation between the concentration of monoclonal immunoglobulin and the concentration of total protein in serum. Examples from practice demonstrate the efficacy of therapeutic plasmapheresis both at viscosity level of plasma and serum concentrations of total protein, and also the clinical condition of the patient. Data were processed in Microsoft Office Excel 2007 and illustrated by linear graphs. The used examples clearly show the positive effect of therapeutic plasmapheresis as on the reduction of the plasma viscosity level and total protein concentration, so as on improving the condition of a patient with a rapid regression of clinical symptoms.

Obsah

1	Úvod a zadání bakalářské práce - cíle práce.....	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Hyperviskózní syndrom	9
2.1.1	Definice.....	9
2.1.2	Diagnostika	10
2.1.3	Klinické příznaky.....	10
2.1.4	Léčba.....	12
2.1.4.1	Základní princip léčebné plazmaferézy	12
2.2	Monoklonální gamapatie	13
2.2.1	Historie monoklonálních gamapatií.....	13
2.2.2	Imunoglobuliny.....	14
2.2.3	Monoklonální gamapatie a HVS.....	15
2.2.4	Waldenströmova makroglobulinémie.....	17
2.2.4.1	Výskyt.....	17
2.2.4.2	Definice	17
2.2.4.3	Etiologie	17
2.2.4.4	Patofyziologie.....	18
2.2.4.5	Laboratorní nález.....	18
2.2.4.6	Klinické příznaky	20
2.2.5	Mnohočetný myelom	20
2.2.5.1	Výskyt.....	20
2.2.5.2	Definice	21
2.2.5.3	Etiologie	21
2.2.5.4	Patofyziologie.....	22
2.2.5.5	Laboratorní nález.....	22
2.2.5.6	Klinické příznaky	26
2.2.6	Laboratorní průkaz monoklonálních imunoglobulinů	27

3	PRAKTICKÁ ČÁST	28
3.1	Materiál a metody	28
3.1.1	Měření viskozity	28
3.1.2	Kapilární elektroforéza bílkovin séra	28
3.1.3	Imunofixace bílkovin séra	29
3.1.4	Stanovení celkové bílkoviny v séru	30
3.2	Vyhodnocení	31
3.2.1	Charakteristika sledovaného souboru	31
3.2.2	Statistické vyhodnocení	31
3.2.3	Výsledky	32
3.2.3.1	Výsledky lineární regrese	34
3.2.3.2	Prezentace vybraných kazuistik	36
4	Diskuze	41
5	Závěr	44
6	Seznam zkratk	45
7	Seznam tabulek	46
8	Seznam grafů	47
9	Seznam obrázků	48
10	Seznam použité literatury	49

1 Úvod a zadání bakalářské práce - cíle práce

Monoklonální gamapatie tvoří rozsáhlou skupinu onemocnění, která je charakteristická patologickou změnou B lymfocytů s následnou produkcí homogenního proteinu tzv. monoklonálního imunoglobulinu. Vysoká koncentrace monoklonálního imunoglobulinu může způsobit nárůst hladiny viskozity plazmy, což se projevuje souborem klinických příznaků, které označujeme hyperviskózní syndrom. Hyperviskózní syndrom vzniká nejen důsledkem vysoké koncentrace monoklonálního imunoglobulinu, ale závisí i na jeho fyzikálních a chemických vlastnostech. Hyperviskózní syndrom svými klinickými příznaky výrazně zhoršuje celkový stav nemocného a nejčastěji se vyskytuje u Waldenströmovy makroglobulinémie a mnohočetného myelomu.

Prvním cílem bakalářské práce je zhodnotit závislosti mezi vybranými laboratorními parametry, které se používají při diagnostice monoklonálních gamapatií a hyperviskózního syndromu. Druhým cílem je demonstrovat účinnost léčebné plazmaferézy na laboratorní parametry a na klinický stav pacienta s projevy hyperviskózního syndromu a s diagnózou mnohočetného myelomu nebo Waldenströmovy makroglobulinémie.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Hyperviskózní syndrom

2.1.1 Definice

Základní charakteristikou hyperviskózního syndromu (HVS) je zvýšená hodnota viskozity krve. Tento stav vzniká v důsledku zvýšené hodnoty koncentrace sérových imunoglobulinů spolu se změnou jejich fyzikálních vlastností (typické u monoklonálních gamapatií) nebo zvýšeným počtem krevních elementů (např. akutní leukemie, polycythaemia vera). Z hematologického hlediska hyperviskózní syndrom řadíme do akutních a život ohrožujících stavů, neboť pacientovi hrozí řada vážných komplikací (např. cévní mozková příhoda, respirační či srdeční selhání). Pokud není zahájena včasná a adekvátní léčba, je pacient ohrožen multiorgánovým selháním [1].

U pacientů s diagnózou monoklonální gamapatie je příčinou zvýšené viskozity patologické zmnožení monoklonálního imunoglobulinu. HVS se nevyskytuje u všech monoklonálních gamapatií stejně. Nejčastěji je prokazován u pacientů s Waldenströmovou makroglobulinémií, cca u 20 - 30 %, a to především díky typické přítomnosti monoklonálního imunoglobulinu IgM [1][2][3].

Molekula IgM se skládá z pěti podjednotek navzájem spojených J řetězcem. Tvoří tzv. pentamer, který díky své velké molekulové hmotnosti (970 kDa) zabraňuje průniku molekul do tkání a zapříčiňuje jejich stázu v krevním řečišti. IgM protilátky při vyšších koncentracích snáz agregují a tím potencují nárůst vazkosti krve [1][4][5].

HVS se vyskytuje asi u 5 % nemocných s mnohočetným myelomem (častěji u IgA než u IgG paraproteinémie). Zhruba polovina celkového množství IgG se vyskytuje v plazmě, zatímco druhá polovina se vzhledem k nízké molekulární hmotnosti IgG (150 kDa) vyskytuje extravaskulárně [1][6][7]. Protilátky třídy IgA se vyskytují na povrchu sliznic, v séru, mateřském mléce, slzách, slinách a sekretech dýchacích cest. Molekula IgA se může vyskytovat ve formě monomeru nebo dimeru (2 podjednotky spojeny J řetězcem) [6][7].

Zcela výjimečně se hyperviskózní syndrom vyskytuje i u benigních lymfoproliferativních onemocnění [1][2][3].

2.1.2 Diagnostika

Při diagnostikování nemocných s podezřením na hyperviskózní syndrom lékař vychází z výsledků vyšetření koncentrace celkové bílkoviny v séru a koncentrace monoklonálního imunoglobulinu (M-Ig) v séru, z nichž získá orientační informaci o pacientově stavu. Dále musí mít na paměti, že mezi koncentrací M-Ig a hodnotou viskozity není prokázána lineární závislost. M-Ig mohou mít nepředvídatelné vlastnosti např. schopnost agregace a kryoprecipitace¹. Základní informaci a potvrzení HVS mu tedy poskytne až vyšetření viskozity plazmy. To je doporučováno provést u nemocných s následujícími hodnotami koncentrací M-Ig - IgM nad 40 g/l a IgG nad 60 g/l. Pokud ovšem pacienti mají některé z níže uvedených příznaků, je nutné vyšetřit viskozitu plazmy vždy. Doplňkovým vyšetřením bývá vyšetření očního pozadí [1][2][8].

2.1.3 Klinické příznaky

Při značném nárůstu viskozity jsou patrné rozmanité klinické příznaky. Literatura uvádí, že projevy příznaků HVS nejčastěji nastávají při hodnotách viskozity nad 5-6 mPa.s. K tomu může dojít při koncentracích IgM nad 40 g/l, IgG nad 50 g/l a IgA nad 70 g/l nebo při koncentraci celkové bílkoviny v séru výrazně nad 100 g/l. Ačkoliv je známo, že vztah mezi viskozitou a klinickými projevy většinou nekoreluje, při hodnotách viskozity nad 10 mPa.s se symptomy objevují téměř vždy [1][9].

Vysoká koncentrace monoklonálního imunoglobulinu současně způsobuje snížení deformovatelnosti stěn erytrocytů, což zapříčiňuje zhoršení periferní cirkulace. Dále způsobuje zvýšenou stázu krve, čímž dochází ke sníženému prokrvení tkání a k ovlivnění funkce krevních destiček a některých koagulačních faktorů [1][3].

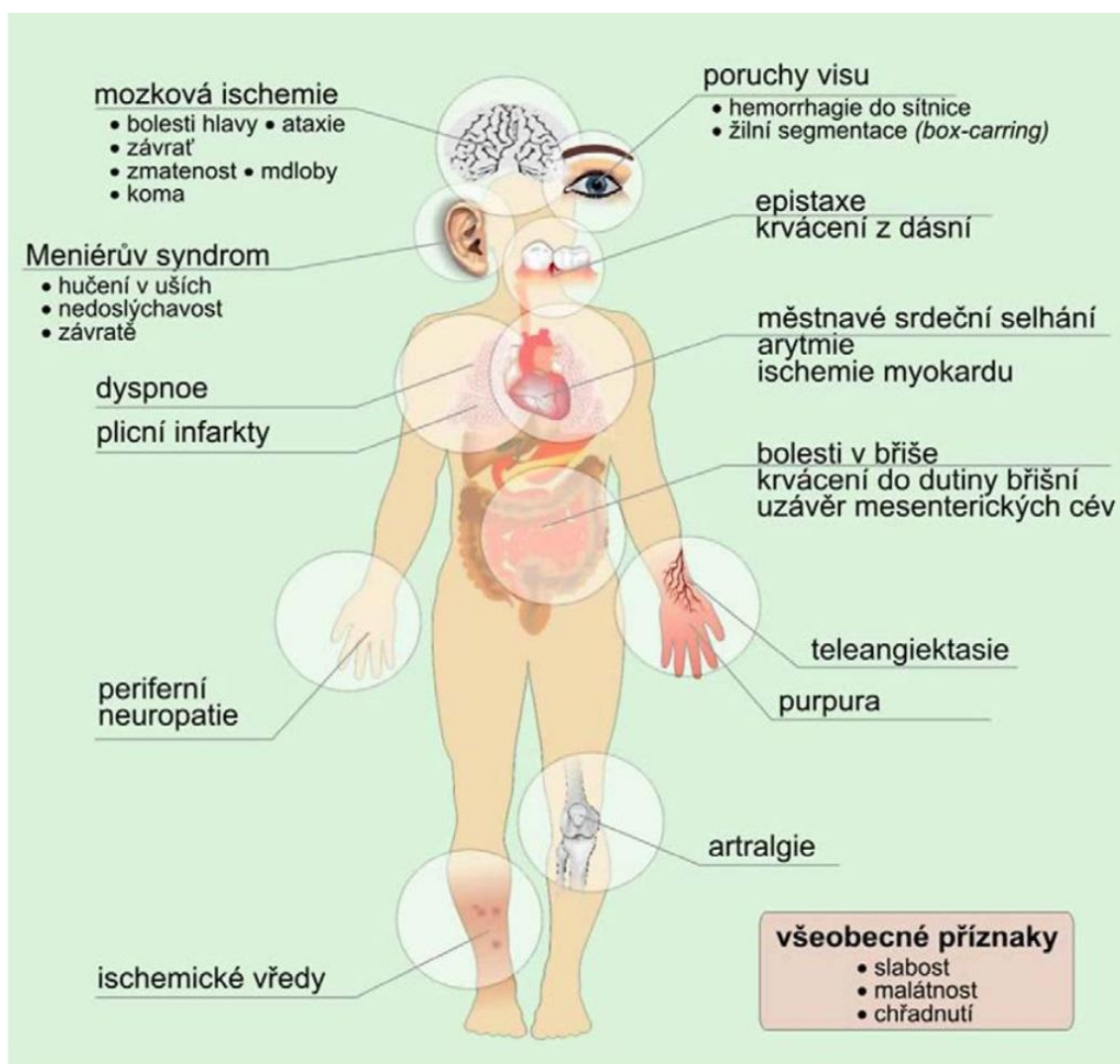
Hlavními příznaky jsou bolest hlavy, zmatenost, únava, závratě, epileptické záchvaty, cévní mozková příhoda, stupor² až kóma. Uvedené symptomy vznikají na podkladě neurologické a psychické změny v důsledku nedostatečného prokrvení centrálního nervového systému. Dále se často vyskytují poruchy zraku způsobené sníženým prokrvením cév, přeplněnými sítnicovými kapilárami a krvácením do sítnice. Objevuje se také spontánní krvácení ze sliznic nosu, dásní atd. [1][11].

¹ vysrážení sérových proteinů při teplotě nižší než 37°C, po zahřátí se opět rozpouštějí

² nadměrná strnulost a ztuhlost, postižený minimálně odpovídá na zevní podněty

Patologicky zvětšený objem plazmy z nadměrného množství M-Ig je příčinou zvýšeného nitrolebního tlaku, který vyúsťuje v chronické bolesti hlavy a zhoršení paměti. V těžkých případech může dojít k městnavému srdečnímu selhání, dušnosti až rozvoji závažné respirační insuficience [1][3][11]. Souhrnné zobrazení klinických projevů hyperviskózního syndromu je znázorněno na obrázku č. 1.

Prof. Z. Adam uvádí: „Hodnota viskozity, od níž nastupují příznaky, je velmi individuální a vždy je nutno řídit se subjektivními údaji pacienta a klinickým nálezem, nejen laboratorními údaji [3].“



Obrázek 1 Klinické projevy hyperviskózního syndromu

Zdroj: převzato z [1]

2.1.4 Léčba

Pokud jsou patrné klinicky významné příznaky hyperviskozity, nemocný by měl podstoupit účinnou terapii tzv. léčebnou plazmaferézu (LP), jejímž cílem je odstranit patologický protein z plazmy. V praxi se začala LP používat až v padesátých letech 20. století, a to jako metoda pro léčbu hyperviskózního syndromu u Waldenströmovy makroglobulinémie [3][10].

Indikace k provedení LP nezávisí pouze na hodnotě viskozity, ale i na aktuálním a celkovém stavu pacienta (věk, komorbidity). Z toho plyne, že cílem LP není zredukovat hodnotu viskozity na fyziologickou mez, ale udržet přijatelné hodnoty, při kterých vymizí klinické obtíže alepší se stav nemocného [1][3].

2.1.4.1 Základní princip léčebné plazmaferézy

Standardním postupem se provádí výměna tzv. jednoho plazmatického objemu, který tvoří přibližně 62 % objemu cirkulující plazmy. Odebíraný objem plazmy je přepočítáván individuálně podle pohlaví, hmotnosti, výšky a hematokritu pacienta. Jako náhradní roztok se používá koloidní roztok (5% albumin) v kombinaci s krystaloidy (fyziologický roztok, Ringerův roztok) [10].

LP se provádí na separátoru krevních elementů, který pracuje na principu centrifugace a využívá odlišné specifické hmotnosti plazmy a krevních elementů. Metoda je velmi účinná a bezpečná [10][11].

Nemocní s Waldenströmovou makroglobulinémií obvykle podstupují pouze jednu proceduru, protože molekula M-Ig z třídy IgM je přibližně z 80 % přítomna v cévách. Avšak nesmíme opomínat poločasy jednotlivých imunoglobulinů v séru, které se různí. Biologický poločas u IgM je 6 dní, a proto je nutné LP provádět častěji v porovnání s IgG, který má poločas 21 dní [1].

Oproti tomu pacienti s mnohočetným myelomem, jež mají M-Ig třídy IgG nebo IgA, musí většinou podstoupit LP opakovaně. Imunoglobuliny IgG a IgA mají totiž menší molekulu a jsou proto přítomny jak extravaskulárně, tak intravaskulárně. Provedením LP dojde k odstranění M-Ig přítomného v plazmě. Avšak následně se extravaskulární M-Ig přesune do cév, opět se tak zvýší hodnota viskozity a procedura se musí opakovat [1].

2.2 Monoklonální gamapatie

Monoklonální gamapatie patří do skupiny lymfoproliferativních onemocnění. Prof. Tichý definuje monoklonální gamapatie jako rozsáhlou skupinu onemocnění, charakterizovanou nekontrolovanou proliferací jednoho klonu diferencovaných B lymfocytů. Takto změněné B lymfocyty produkují imunologicky homogenní protein, tzv. monoklonální imunoglobulin (M-Ig, paraprotein, M-komponenta). Monoklonální imunoglobulin bývá většinou přítomen v podobě kompletní molekuly protilátky (těžký řetězec jedné třídy a jeden typ lehkého řetězce). Avšak M-Ig se může vyskytovat i jako pouhá strukturální komponenta ve formě volných lehkých řetězců κ nebo λ a velmi vzácně ve formě těžkých řetězců α , γ nebo μ [1][12].

2.2.1 Historie monoklonálních gamapatií

Historie monoklonálních gamapatií sahá do poloviny 19. století, kdy byla poprvé prokázána přítomnost tzv. Bence Jonesovy bílkoviny v moči. Literatura uvádí konkrétního pacienta Thomase Alexandra McBeana, u kterého byla roku 1845 v moči prokázána bílkovina neobvyklých, specifických vlastností. Analýzou jeho moče se zabývali dr. William Macintyre a dr. Henry Bence Jones. Výsledkem analýzy moče byl zcela specifický nález. Moč byla kyselá, měla vysokou hustotu a vysokou specifickou hmotnost. Po přidání kyseliny dusičné moč precipitovala. Po zahřátí se vzniklá sraženina rozpustila a po ochlazení opět vznikla. Tento nález dr. Macintyre předložil dr. Bence Jonesovi, který znovu moč analyzoval a potvrdil zmíněné neobvyklé precipitační vlastnosti bílkoviny. Dr. Bence Jones došel k závěru, že analyzovaná látka v moči je oxid albuminu („hydrated deutoxide of albumen“) a výsledky zveřejnil v roce 1847 [1][6][13].

Termín mnohočetný myelom poprvé použil roku 1973 ruský lékař Rustizki při popisování nádoru postihujícího kostní dřeň. Rustizki také popsal vzhled myelomových buněk. V roce 1875 byl Waldayerem zaveden název plazmatická buňka. Na přelomu 19. a 20. století pak Wright odhalil souvislosti mezi mnohočetným myelomem a plazmatickými buňkami [1][6].

V roce 1937 A. Tiselius jako první začal s elektroforetickými studiemi a popsal separaci sérových protilátek do tří frakcí: alfa, beta a gama. V roce 1950 byla popsána

elektroforéza na filtračním papíře, která díky své rychlosti a jednoduchosti, byla rozšířena i do běžných laboratoří. Postupně docházelo k nahrazení filtračního papíru acetylovanou celulórou či agarózou, které mají lepší separační vlastnosti. V posledních letech byla rozšířena do klinických laboratoří metoda kapilární elektroforézy. Další metody sloužící pro průkaz monoklonálního proteinu byly popsány v roce 1953 Grabarem a Williamsem - imuno elektroforéza a v roce 1964 Wilsonem - imunofixace. V roce 1956 Korngold a Lipari prokázali 2 typy Bence Jonesovi bílkoviny. Na jejich počest byly tyto odlišné lehké řetězce protilátek nazvány kappa (Korngold) a lambda (Lipari). Poté v roce 1962 G. M. Edelman a J. A. Gally prokázali, že Bence Jonesova bílkovina je tvořena monoklonálními lehkými řetězci imunoglobulinů [1].

V roce 1961 byla prof. J. Waldenströmem nastíněna důležitá otázka rozdílu mezi monoklonální a polyklonální gamapatií. Prof. J. Waldenström se zabýval studiem pacientů, kteří měli v elektroforetickém obrazu ostrý gradient monoklonálního proteinu. U těchto sledovaných pacientů byl diagnostikován mnohočetný myelom nebo makroglobulinémie. Ovšem někteří pacienti naopak neměli žádnou jasnou malignitu, a proto prof. J. Waldenström usoudil, že se jedná o benigní monoklonální protein. Přítomnost širokého píku v elektroforéze považoval za polyklonální gamapatii. Rozdíl mezi monoklonální a polyklonální gamapatií je značný. Monoklonální gamapatie má již charakter nádorového onemocnění, nebo se v něj může časem rozvinout. Oproti tomu polyklonální gamapatie je způsobena zánětlivým nebo reaktivním procesem. V dnešní době se od pojmu benigní monoklonální protein upouští a preferuje se termín: „monoklonální gamapatie nejasného významu“ (MGUS), který byl zavedený prof. R. A. Kylem v roce 1978. Prof. R. A. Kyle se významně podílel na rozvoji diagnostických a nových léčebných postupů [1].

2.2.2 Imunoglobuliny

Imunoglobuliny jsou produkovány plazmatickými buňkami, které jsou posledním diferenciacním vývojovým stádiem B-lymfocytární řady. B lymfocyty vznikají ze společné kmenové buňky v krvetvorných orgánech (kostní dřeni) a svůj vývoj dokončují v periferních lymfatických orgánech (uzliny, slezina, slizniční lymfatické tkáně aj.) [1][4][6].

Protilátky jsou glykoproteiny, které mají globulární strukturu. Charakteristickým znakem imunoglobulinů je imunoglobulinová doména (cca 100 aminokyselin, které jsou spojeny disulfidickými můstky a tvoří smyčku). Molekula imunoglobulinu má tvar podobný Y. Skládá se ze 4 řetězců, z nichž 2 jsou lehké a 2 těžké. Lehké řetězce jsou dvojího typu: kappa (κ) a lambda (λ). Na molekule imunoglobulinu mohou být přítomny buď lehké řetězce typu κ , anebo λ . Konstantní části těžkých řetězců (γ , μ , α , ϵ , δ) rozdělují imunoglobuliny do 5 tříd (izotypů): IgG, IgM, IgA, IgE a IgD [1][4]. Z hlediska funkčního, klinicky významného a kvantitativního jsou nejvýznamnější imunoglobulinové třídy: IgM, IgG a IgA [5].

V séru se za fyziologických podmínek nachází velké množství polyklonálních protilátek, které mají různá vazebná místa pro antigen tzv. idiotypy. Za patologických podmínek, které nastávají např. při maligní transformaci plazmatických buněk, jsou v séru přítomny monoklonální protilátky (produkty jednoho klonu plazmatických buněk se stejným izotypem a idiotypem). Maligní klon plazmatických buněk postupně infiltruje celou kostní dřeň a utlačuje tak fyziologické plazmocyty. Zároveň jsou polyklonální protilátky v séru nahrazovány často nefunkčními monoklonálními imunoglobuliny [6].

2.2.3 Monoklonální gamapatie a HVS

Prof. Kyle z Mayo kliniky zavedl základní klasifikaci monoklonálních gamapatií na monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS) a na maligní monoklonální gamapatie (viz Tabulka 1).

Tabulka 1 Základní klasifikace monoklonálních gamapatií

MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE NEJASNÉHO VÝZNAMU (MGUS)
Benigní monoklonální gamapatie (IgG, IgA, IgD, IgM a vzácně i volné lehké řetězce)
Asociované s nádory z buněk neprodukujících M-Ig
Biklonální a triklonální gamapatie
Idiopatická Bence Jonesova proteinurie
MALIGNÍ MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE
Mnohočetný myelom (IgG, IgA, IgD, IgE nebo jen volné lehké řetězce) Asymptomatický mnohočetný myelom Symptomatický mnohočetný myelom Plazmocelulární leukémie
Nesekreční mnohočetný myelom
Plazmocytom (solitární kostní nebo extramedulární)
Waldenströмова makroglobulinémie
Onemocnění z těžkých řetězců (γ , α nebo μ)
Jiné maligní lymfoproliferativní onemocnění (lymfomy nebo CLL)
Syndrom POEMS (Polyneuropatie, Organomegalie, Endokrinopatie, Monoklonální imunoglobulin, kožní - „Skin“ změny)
Primární AL amyloidóza

Zdroj: převzato z [1]

Jak již bylo zmíněno v kapitole 2.1.1, hyperviskózní syndrom se vyskytuje hlavně u maligních monoklonálních gamapatií. Nejčastější příčinou HVS je Waldenströмова makroglobulinémie (WM), která odpovídá za 85 % případů HVS. Méně často, cca u 5 %, je HVS přítomen u pacientů s mnohočetným myelomem (MM). Vzhledem k vyšší incidenci MM tomu ale často bývá v praxi naopak [1][14][15]. Z tohoto důvodu se v dalším textu podrobněji zaměříme zejména na Waldenströmovu makroglobulinémii a mnohočetný myelom.

2.2.4 Waldenströмова makroglobulinémie

Waldenströмова makroglobulinémie byla poprvé popsána v roce 1944 J. Waldenströmem, který ve své zprávě uvedl 2 pacienty s krvácením z nosu, anémií, zvýšenou sedimentací erytrocytů, zvětšenými lymfatickými uzlinami, zvýšenou viskozitou, sníženým množstvím trombocytů, infiltrací kostní dřeně lymfoidními buňkami a s normálním nálezem na rentgenu skeletu [3][16]. Dalšími testy byla prokázána přítomnost M-Ig typu IgM, který vzhledem k značné velikosti a molekulové hmotnosti byl nazván makroglobulin. A takto vznikl celý název onemocnění Waldenströмова makroglobulinémie [17].

2.2.4.1 Výskyt

WM patří do skupiny zhoubných lymfoproliferativních onemocnění a představuje okolo 1 až 2 % hematologických malignit [18]. V porovnání s MM se vyskytuje asi desetkrát méně často [28]. Celkový počet nově zjištěných případů WM byl 31 (13 mužů a 18 žen) v rámci České republiky v roce 2010 [25]. Medián věku při stanovení diagnózy je okolo 65 let a muži jsou postiženi častěji než ženy [23][26][27].

2.2.4.2 Definice

Waldenströмова makroglobulinémie patří, podle výše uvedeného rozdělení, do skupiny maligních MG a je definována podle WHO klasifikace, jako lymfoplazmocytní lymfom infiltrující kostní dřeň a produkující monoklonální imunoglobulin typu IgM [3].

2.2.4.3 Etiologie

Příčina vzniku WM není přesně známa. Uvažuje se o možnosti vlivu genetických faktorů, které dokládá zvýšený počet maligních hematologických onemocnění v rámci familiárního výskytu. Dále není přesně určeno, jaký vliv má životní prostředí. Některé případy jsou spojovány s hepatitidou C [27].

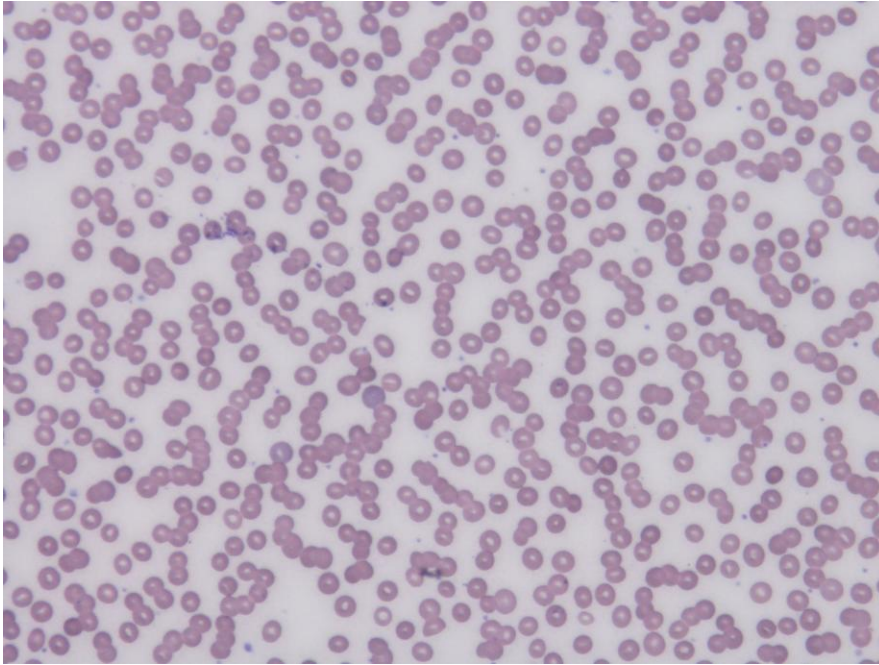
2.2.4.4 Patofyziologie

Podstatou onemocnění je maligní mutace B lymfocytu, proliferace a diferenciaci na lymfoplazmocytní buňky, které produkují monoklonální imunoglobulin IgM [28]. Kostní dřeň (KD) je prostoupena malými B lymfocyty, které diferencují v plazmocytní lymfocyty a zralé plazmocyty [3][27].

2.2.4.5 Laboratorní nález

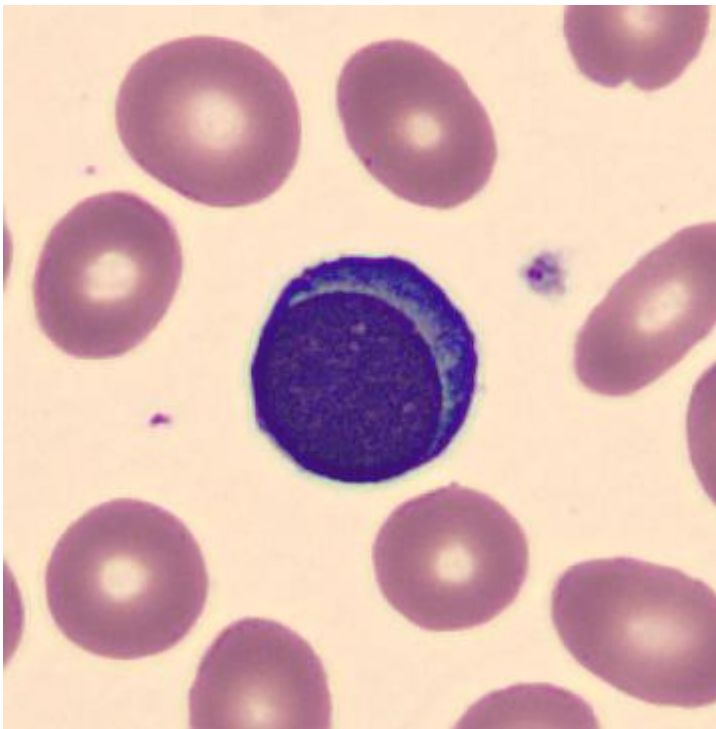
V případě masivní infiltrace KD lymfoplazmocytními buňkami je v krevním obrazu poměrně častá normocytní normochromní anémie a trombocytopenie. V některých případech bývá popisována mírná lymfocytóza a monocytóza. Při vyšetření sedimentace erytrocytů je patrná vysoká hodnota až 100 mm/hodinu. V nátěru periferní krve je následkem přítomnosti monoklonálního imunoglobulinu patrné penízkovatění (rouleaux) erytrocytů (viz Obrázek 2). Dále v nátěru převládají atypické lymfocyty a plazmocytní lymfocyty, což jsou lymfocyty se znaky plazmocytní (viz Obrázek 3). Mají např. excentricky uložené jádro bez jadérek, hrubší jaderný chromatin a v okolí jádra jemné projasnění. Cytoplazmu mají objemnou a silně bazofilní a v jádře mohou obsahovat Dutcherova tělíska (intranukleární vakuoly), která jsou tvořena nahromaděným monoklonálním imunoglobulinem [1][17][19][20].

Pro WM je typický nález infiltrace KD lymfoplazmocytními buňkami a plazmocyty. Biochemické vyšetření séra i moče prokáže přítomnost monoklonálního gradientu. Koncentrace celkové bílkoviny séra a hodnota viskozity plazmy mohou být extrémně zvýšeny [6][17][19].



Obrázek 2 Penízkovatění (rouleaux) erytrocytů

Zdroj: IV. interní hematologická klinika FN HK - hematologická laboratoř



Obrázek 3 Lymfoplazmocytoïdní buňka

*Zdroj: IV. interní hematologická klinika FN HK - hematologická laboratoř
(fotografie ze systému digitální morfologie CellaVision DM96)*

2.2.4.6 Klinické příznaky

Klinické projevy u WM souvisejí jak s množstvím lymfoplazmocytárních buněk infiltrujících KD, tak s množstvím a specifičností monoklonálního IgM. Lymfoplazmocytární buňky utlačují normální krvetvorbu a současně produkují cytokiny, jež způsobují následující příznaky: zvýšenou tělesnou teplotu až horečku, noční pocení, úbytek hmotnosti, anémii a trombocytopenii. Maligní buňky se dělí pomalu a mohou se šířit po celém retikuloendoteliálním systému. Avšak pouze u jedné třetiny pacientů je prokazatelná infiltrace ostatních orgánů, která způsobí mírné zvětšení jater, sleziny a lymfatických uzlin. Lymfoplazmocytární buňky dále produkují M-Ig typu IgM, který zvyšuje viskozitu plazmy a způsobuje již zmiňovaný hyperviskózní syndrom s typickým krvácením z nosu a dásní. M-Ig typu IgM může mít charakter kryoglobulinu³, může způsobovat neuropatii a mít vliv i na koagulační faktory a funkci krevních destiček, čímž způsobí prodloužení koagulačních a krvácivých časů [27]. Nejčastějšími subjektivními obtížemi nemocných jsou chronická únava, bolest hlavy, slabost a nevykonnost. Bolesti kostí, opakované fraktury a hyperkalcémie se u WM vyskytují v porovnání s MM výjimečně [3][27][28].

2.2.5 Mnohočetný myelom

Název MM je odvozený podle pravidel názvosloví nádorů, které byly zavedeny Virchowem. Nádor z kostní dřeně je latinsky nazýván *myelé* a po přidání koncovky *- om* vzniká název myelom. Jelikož je nádor charakterizován četnými osteolytickými ložisky, tak druhá část názvu je pojmenována latinsky *multiple*. Odvozený termín *multiple myeloma* je překládán do češtiny mnohočetný, mnohotný myelom [3].

2.2.5.1 Výskyt

Mnohočetný myelom (MM) je považován za nejzávažnějšího představitele z maligních monoklonálních gamapatií. Je druhým nejčastějším hematologickým onemocněním a představuje zhruba 10 - 15 % zhoubných onemocnění krve [6][17].

³ je patologický stav, při kterém sérové bílkoviny precipitují při teplotách nižších než 37°C a způsobují ucpání malých cév, tzv. Raynaudův syndrom (záchvaty zblednutí a bolestí periferních částí těla)

Výskyt v populaci stále stoupá, a to především díky výraznému zlepšení diagnostiky v posledních deseti letech. Je častý zvláště u starších lidí. Medián věku při stanovení diagnózy je kolem 63 let [19]. Ve věkové kategorii 75 - 79 let má incidenci 15,57/100 000 obyvatel, naopak do 40 let věku se vyskytuje velmi vzácně [6][24][29].

Celkový počet nově zjištěných případů výskytu mnohočetného myelomu v rámci České republiky v roce 2010 byl 492 (252 mužů a 240 žen). Incidence činila 4,9/100 000 mužů a 4,5/100 000 žen. Tudíž o něco častěji bývají postiženi muži než ženy (asi 1,1 : 1). Uvedená data byla získána z ÚZIS ČR, Národního onkologického registru [25].

2.2.5.2 Definice

Podle výše uvedené klasifikace se MM řadí do skupiny maligních monoklonálních gamapatií. U tohoto onemocnění dochází k infiltraci kostní dřene patologickými plazmatickými buňkami s postupným útlumem fyziologické krvetvorby. Typická jsou četná osteolytická ložiska osového skeletu [3][30].

2.2.5.3 Etiologie

Prvotní příčina vzniku této nemoci není stejně jako u WM a většiny maligních hematologických onemocnění doposud přesně známa. Jedná se o složitý proces, na jehož průběhu se podílí řada cytogenetických aberací, které podléhají vlivu prostředí a genetickým predispozicím. Zvažuje se i vliv endogenních faktorů, o kterém vypovídají rozdíly výskytu mezi rasami. U Afroameričanů se udává incidence onemocnění dvakrát vyšší, než u kavkazské populace. Mezi další rizikové faktory patří: ionizační záření, poruchy imunity, chemické kancerogeny (herbicide, insekticide, azbest, organická rozpouštědla aj.). V posledních letech bylo potvrzeno, že všem případům MM předchází fáze MGUS [1][6].

2.2.5.4 Patofyziologie

Podstatou nemoci je maligní mutace B lymfocytu ve folikulu lymfatické tkáně. Takto změněné B lymfocyty nekontrolovatelně proliferují a diferencují v patologický klon plazmatických buněk. Konečným vývojovým stádiem je zralá myelomová buňka. Fyziologické plazmocyty přežívají v kostní dřeni 2 dny a poté podléhají apoptóze. Oproti tomu myelomové buňky apoptóze nepodléhají, jsou téměř nesmrtelné a postupně se hromadí v kostní dřeni [17][28][29].

Myelomové buňky produkují monoklonální imunoglobulin. Kromě toho vylučují do svého okolí řadu cytokinů (např. TNF- α , IL-6, IL-1 β), které stimulují osteoklasty k odbourávání kostní hmoty a současně tlumí krvetvorbu (pancytopenie). Nekontrolovanou proliferací maligního klonu dochází k útlaku a narušení vyžívání fyziologických plazmocyty, tím se sníží produkce funkčních protilátek a vzroste četnost infekcí [1][17].

2.2.5.5 Laboratorní nález

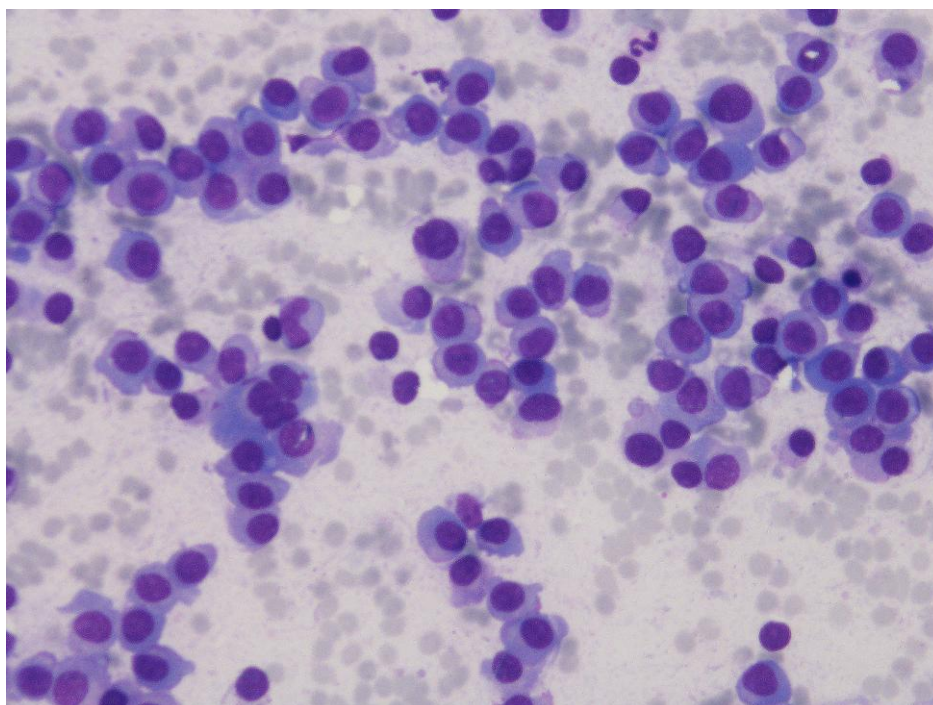
U pacientů v počátečním stádiu onemocnění je v krevním obrazu přítomna normocytární normochromní anémie, leukopenie a trombocytopenie, při masivním útlaku krvetvorby až pancytopenie. V nátěru periferní krve je stejně jako u WM přítomno penízkovatění erytrocytů způsobené M-Ig. Kostní dřeň získaná sternální punkcí, může být prostoupena myelomovými buňkami z 10 až 95 %. Myelomová buňka se liší od zdravé plazmatické buňky velikostí a charakteristikou. Často má velmi rozmanitou strukturu. Buňky mohou mít dvě i více jader. Obvykle jsou větší a podle zralosti mají jemnější nebo hrubší chromatin (zralejší buňky) (viz Obrázek 4). Jádro s cytoplazmou se mnohdy liší stupněm zralosti. Například zralý myelocyt může mít cytoplazmu sytě bazofilní, naopak jaderný chromatin může mít jemný s viditelnými jadérky [17][20][21].

V cytoplazmě myelomových buněk se mohou vyskytovat hyalinní kapičky (Russellova tělíška) tvořené z nadměrné akumulace M-Ig. Tělíška mají světle modrou nebo narůžovělou barvu, a pokud vyplní celou cytoplazmu, dojde k utlačení jádra, buňka získá hroznovitý vzhled a vznikne tzv. Mottova buňka (viz Obrázek 5).

I buněčné jádro může obsahovat váčky stejné jako u WM, tzv. Dutcherova tělíka (viz Obrázek 6). V některých případech může paraprotein vytvářet v cytoplazmě myelomových buněk krystalické útvary (viz Obrázek 7). Někdy se může M-Ig v okrajích cytoplazmy buněk barvit do červena, jedná se o tzv. plamenné plazmatické buňky (viz Obrázek 8) [17][20][21].

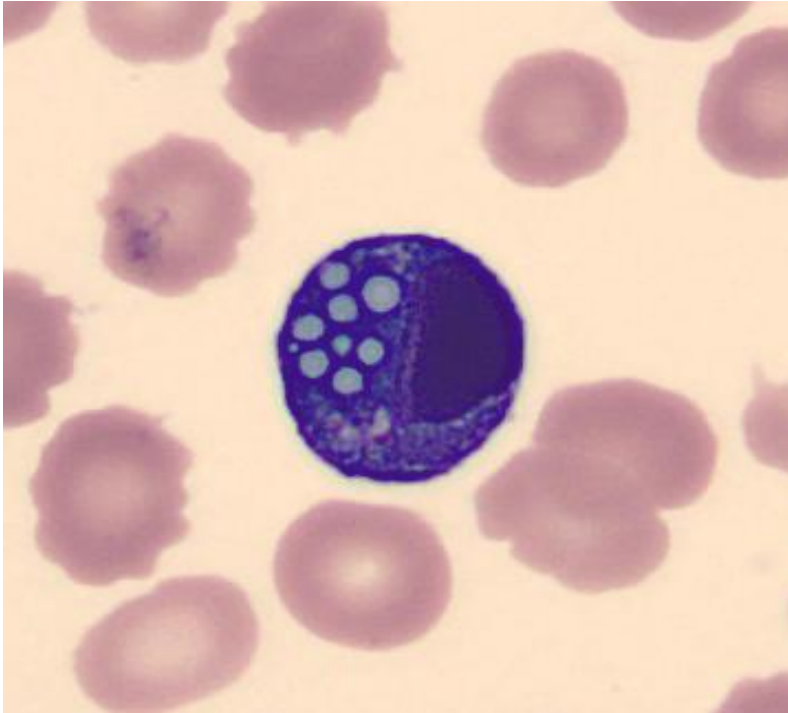
Viskozita plazmy a rychlost sedimentace erytrocytů mohou být také zvýšeny, ale v porovnání s WM nedosahují tak extrémních hodnot [17]. V séru i v moči bývá přítomen M-Ig. Při proteinurii je dnes využíváno i velmi citlivé vyšetření volných lehkých řetězců v séru [19]. Při rutinním biochemickém vyšetření mohou být zvýšeny následující parametry: koncentrace celkové bílkoviny séra, hladina vápníku, močoviny, kreatininu a kyseliny močové. Koncentrace albuminu bývá naopak snížena [19][22].

Důležitým zobrazovacím vyšetřením je rentgen kostí, na kterém jsou viditelné typické kostní změny, tzv. osteolytická ložiska. Podrobnější vyšetření skeletu lze provést počítačovou tomografií a magnetickou rezonancí [1][19][22].



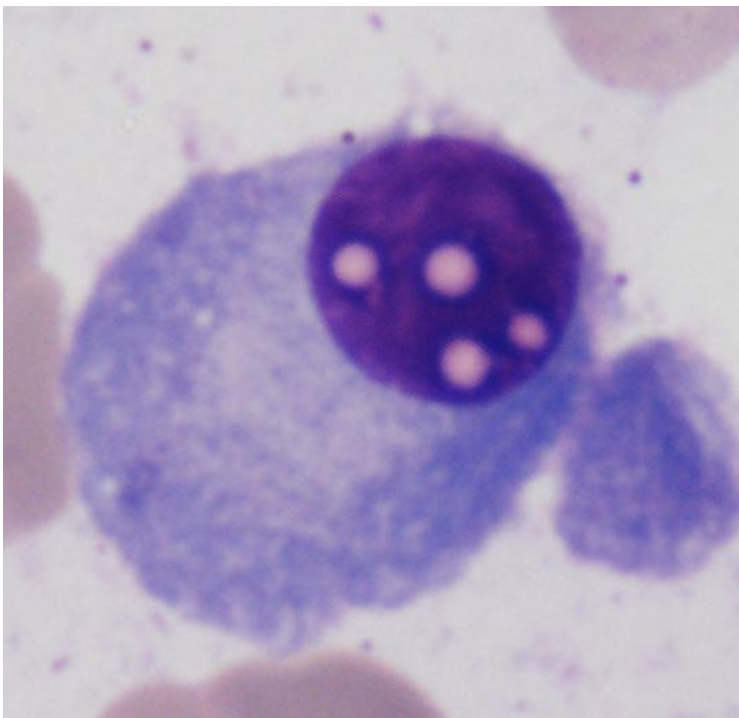
Obrázek 4 Myelomové buňky

Zdroj: IV. interní hematologická klinika FN HK - hematologická laboratoř



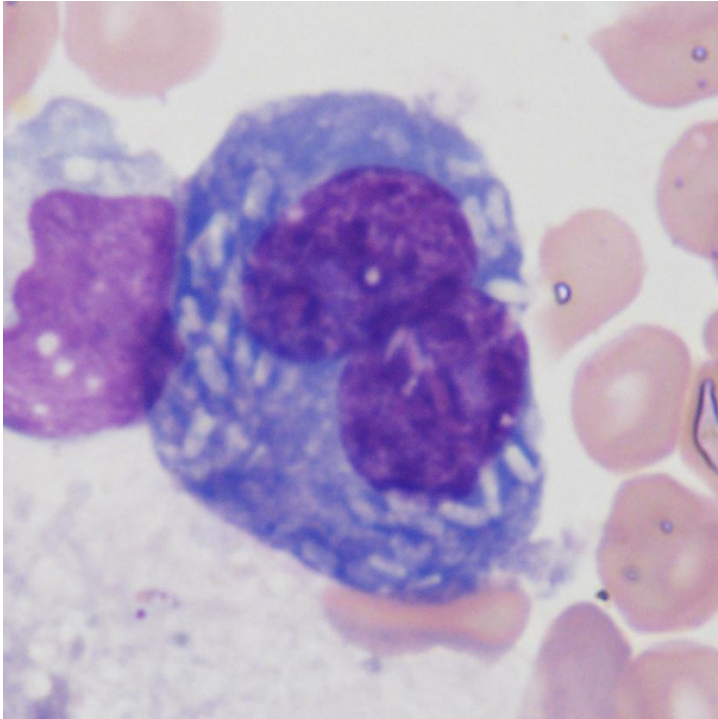
Obrázek 5 Mottova buňka

*Zdroj: IV. interní hematologická klinika FN HK - hematologická laboratoř
(fotografie ze systému digitální morfologie CellaVision DM96)*



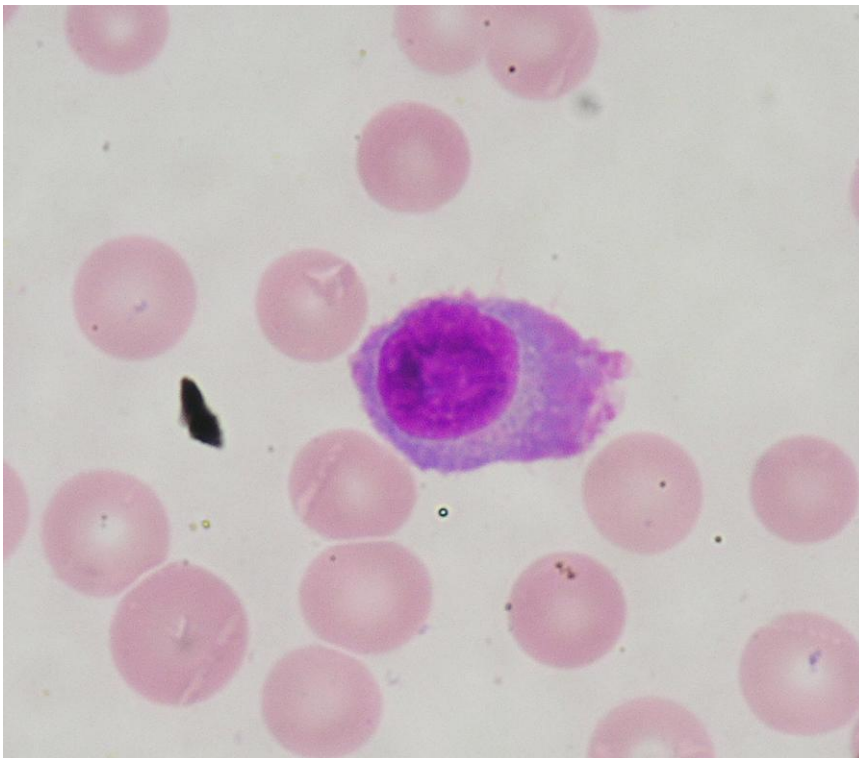
Obrázek 6 Dutcherova tělíska

Zdroj: IV. interní hematologická klinika FN HK - hematologická laboratoř



Obrázek 7 Krystalické útvary v myelomových buňkách

Zdroj: IV. interní hematologická klinika FN HK - hematologická laboratoř



Obrázek 8 Plamenná buňka

Zdroj: IV. interní hematologická klinika FN HK - hematologická laboratoř

2.2.5.6 Klinické příznaky

V roce 1889 popsal v Prager Medicinische Wochenschrift profesor medicíny Otto Kahler jako první hlavní projevy mnohočetného myelomu: kostní a renální postižení, anémie, opakované infekce a krvácivé projevy [6].

Mnohočetný myelom vyvolává rozsáhlou škálu klinických projevů. Symptomy vyplývají jednak z infiltrace KD myelomovými buňkami, jednak z produkce M-Ig. MM způsobuje orgánové postižení, které je charakterizováno souborem příznaků pod zkratkou CRAB, která vznikla v rámci doporučeného diagnostického postupu prostřednictvím International Working Group v roce 2003 [6][19]. CRAB je zkratka 4 nejčastějších příznaků, které charakterizují MM a přivedou pacienta k lékaři. Jednotlivá písmena vyjadřují: C - calcium elevation (hyperkalcémie), R - renal insufficiency (postižení funkce ledvin), A - anaemie (anémie), B - bone (bolesti kostí) [1][6][19].

Typické jsou dlouhotrvající bolesti osového skeletu především v bederní oblasti a patologické zlomeniny dlouhých kostí [1][3][19][22][28]. Anémie způsobuje celkovou slabost, únavu a dušnost. Myelomové buňky postupně utlačují krvetvorbu, čímž dochází k úbytku krvinek, ke snížení produkce funkčních imunoglobulinů a k nárůstu infekcí zejména dýchacích cest a močového traktu [1][6][19][28]. Až polovina nemocných trpí postižením ledvin, které bývá způsobeno volnými lehkými řetězci a může vyústit až v renální insuficienci [1][22]. Hyperkalcémie se projevuje žízní, dehydratací, dezorientací, pocitem nevolnosti až zvracením [19][22].

Při značném nárůstu hladiny M-Ig se mohou projevovat již dříve uvedené příznaky HVS (krvácení z nosu, bolesti hlavy, poruchy zraku atd.). Mohou být patrné i krvácivé stavy, důsledkem působení M-Ig na funkci krevních destiček (trombocytopenie) nebo na faktory krevního srážení (získaný von Willebrandův syndrom, získané hemofilie) [1][22].

2.2.6 Laboratorní průkaz monoklonálních imunoglobulinů

Laboratorní diagnostika monoklonálních gamapatií vyžaduje pro průkaz a identifikaci monoklonálních imunoglobulinů citlivé, spolehlivé a rychlé metody. Rutinně používanou metodou k průkazu M-Ig je elektroforéza bílkovin séra, která se běžně provádí na agarózovém gelu nebo acetylované celulóze. Touto analýzou získáme i kvantitu M-Ig, která se ale neobejde bez stanovení koncentrace celkové bílkoviny v séru. V dnešní době se v klinických laboratořích stále více uplatňuje kapilární elektroforéza, která je o mnoho rychlejší a efektivnější než gelová elektroforéza. K imunotypizaci M-Ig se používá imunofixační elektroforéza, která slouží k určení imunoglobulinové třídy M-Ig a antigenního typu lehkého řetězce M-Ig [1][12].

Na přítomnost M-Ig nás může upozornit neobvykle vysoká koncentrace celkové bílkoviny nad 90 g/l nebo extrémně vysoká hodnota sedimentace erytrocytů 100 mm/hodinu i vyšší [1][12].

V tabulce č. 2 je uveden přehled laboratorních metod sloužících pro stanovení a průkaz M-Ig v séru nebo moči. Ke každé laboratorní metodě je uvedeno její použití.

Tabulka 2 Základní laboratorní metody používané u monoklonálních gamapatií

Metoda (marker)	Použití
Elektroforéza bílkovin séra (agarózový gel nebo kapilární elektroforéza)	skrining, diagnóza, sledování
Imunofixace bílkovin séra	určení typu paraproteinu, sledování zbytkového onemocnění u MM
Určení koncentrace M-Ig (denzitometrie, absorbance v UV u kapilární elektroforézy)	diagnóza a sledování, monitorování terapie
Určení koncentrace polyklonální Ig (turbidimetrie, nefelometrie)	diagnóza a sledování
Volné lehké řetězce v séru	diagnóza a sledování u nesekrečního myelomu, amyloidózy a MGUS
Viskozita plazmy	hyperviskózní syndrom
Beta ₂ -mikroglobulin	stážovací systém, prognóza
Elektroforéza bílkovin moče	skrining, diagnóza, sledování
Imunofixace bílkovin moče	určení typu paraproteinu
Volné lehké řetězce v moči	diagnóza a sledování nesekrečního myelomu, MGUS a amyloidózy

Zdroj: převzato z [12]

3 PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Materiál a metody

3.1.1 Měření viskozity

Měření viskozity se v Hematologické laboratoři Fakultní nemocnice Hradec Králové (dále jen FN HK) provádí na přístroji - rotační viskozimetr Brookfield DV+II-Pro s měřicím vřetenem CPE-40 a obslužným software RheoCalc [32].

Viskozita popisuje vnitřní tření částic v kapalinách [1]. Je charakterizována poměrem smykového napětí ke gradientu rychlosti (smykového poměru). Pomocí rotačního viskozimetru lze měřit viskozitu tzv. neneutronovských kapalin (krev). Tyto kapaliny mají různou hodnotu viskozity při různých hodnotách smykového poměru. Principem měření je stanovení odporu, který klade kapalina otáčejícímu se disku. Změnou otáček lze měřit viskozitu při různých smykových poměrech. Následnou aplikací Cassonova matematického modelu je možné získat křivku závislosti viskozity na změně gradientu rychlosti [31][32].

Měření viskozity lze provést z plně nesrážlivé krve, plazmy a séra. Nicméně k vyšetření viskozity u pacientů s monoklonální gamapatií by se zásadně jako biologický materiál měla používat plazma, aby zjištěná hodnota odpovídala fyziologickým podmínkám [1].

Pacientovi se z kubitální žíly odebere vzorek krve do zkumavky s protisrážlivým činidlem (nejčastěji K₃EDTA). Odebraný materiál musí být dopraven do laboratoře a zpracován nejdéle do 2 hodin od odběru. V laboratoři se zkumavka nechá centrifugovat 10 minut při laboratorní teplotě a 2500 g a separovaná plazma se vyšetří na rotačním viskozimetru. Fyziologické rozmezí hodnot viskozity plazmy při 20°C je 1,7 - 2,3 mPa.s [31][32].

3.1.2 Kapilární elektroforéza bílkovin séra

V současné době je elektroforéza bílkovin séra a moče považována za nejlepší skriningovou metodou pro průkaz a určení koncentrace monoklonálního

imunoglobulinu. Elektroforéza patří mezi elektromigrační metody a může být dvojího typu: kapilární nebo plošná (gel z agarózy nebo acetylované celulózy) [1][12].

V Ústavu klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové (ÚKBD) je využíván pro průkaz bílkovin séra přístroj Capillarys 2 od firmy Sebia. Capillarys 2 je plně automatizovaný multikapilární elektroforetický systém určený pro separaci sérových proteinů. Capillarys pracuje na principu kapilární elektroforézy ve volném roztoku. Systém se skládá z 8 křemenných kapilár a umožňuje analýzu 8 vzorků současně [33].

Kapiláry jsou vyplněny alkalickým puftrem a ponořeny společně s 2 platinovými elektrodami do zásobníků s elektrolytem. Mezi elektrody se vkládá vysoké napětí. Vzorek se dávkuje na anodický konec kapiláry. Po vložení vysokého napětí, se bílkoviny separují podle elektroforetické pohyblivosti a vlivem elektroosmotického toku migrují v elektrickém poli ke katodě, kde je umístěný UV detektor měřící absorbanci při 200 nm. Výsledkem měření je graf závislosti odezvy detektoru (absorbance) na čase, tzv. elektroforeogram. Díky vysoké rozlišovací schopnosti se bílkoviny dělí do šesti frakcí (albumin, alfa1-globuliny, alfa2-globuliny, beta1-globuliny, beta2-globuliny a gama-globuliny) [33][34].

Analýza by se měla provádět z čerstvých vzorků séra. Vzorky srážlivé krve musí být standardně odebrány a dopraveny do laboratoře. Zkumavka s odebraným materiálem se centrifuguje 15 minut při 2500 g, aby došlo k oddělení séra od krevního koláče. Oddělené sérum lze skladovat při teplotě 4 - 8°C 1 týden a při teplotě -18°C 1 měsíc [34]. Metoda je velmi citlivá a koncentrace pro záchyt monoklonálního gradientu je kolem 0,5 g/l [1].

3.1.3 Imunofixace bílkovin séra

Pokud se v elektroforeogramu mezi zónami alfa2-globulinů a gama-globulinů vyskytuje ostrý pík, tak pravděpodobně značí přítomnost monoklonálního gradientu. Následně by se měla provést imunofixace v séru nebo moči, která potvrdí nebo vyloučí přítomnost M-Ig. Imunofixace slouží k určení imunoglobulinové třídy a antigenního typu lehkých řetězců M-Ig, tzv. imunitypizaci [1][12].

Imunitypizace se v laboratoři ÚKBD FN v Hradci Králové provádí na poloautomatickém elektroforetickém analyzátoru Hydrasys [35].

Hydrasys je založený na technice imunofixace, která využívá monovalentní protilátky k identifikaci monoklonálních gradientů. Metoda se provádí ve 3 krocích. Nejdříve dochází k elektroforetickému dělení v agarózovém gelu. Po rozdělení se migrační linie převrství jednotlivými antiséry proti IgG, IgA, IgM a lehkým řetězcům kappa a lambda. Poté se gel promyje, čímž se odstraní nenavázané bílkoviny. Nakonec se vzniklé precipitované proteiny obarví kyselou violetí nebo amidočerní. Vyhodnocení obarveného gelu se provádí vizuálně [12][35].

K vyšetření by se měly používat vzorky čerstvého séra nebo vzorky séra skladovaného až 8 dní při teplotě 4 - 8°C. Vzorky srážlivé krve musí být standardně odebrány a dopraveny do laboratoře. Zkumavka se vzorkem se centrifuguje 15 minut při 2500 g, aby došlo k oddělení séra od krevního koláče. Vlastní stanovení se provádí při laboratorní teplotě. Metoda je velmi citlivá, detekuje koncentrace M-Ig kolem 0,25 g/l [35].

3.1.4 Stanovení celkové bílkoviny v séru

U některých typů onemocnění může docházet ke změnám koncentrací celkové bílkoviny a zároveň ke změnám procentuálního zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí. Stanovení celkové bílkoviny se používá při diagnostice a při monitorování léčby onemocnění postihujících játra, ledviny a kostní dřeň [36].

Kvantitativní vyšetření celkové bílkoviny v séru se v laboratoři ÚKBD provádí na plně automatizovaném analyzátoru Modular PPE Analytics SWA od firmy Roche. Principem metody je kolorimetrické stanovení tzv. Biuretova reakce. Bílkoviny obsahují peptidické vazby, ty po přidání Biuretovy reagentie v silně alkalickém prostředí reagují s měďnatými ionty za vzniku modrofialového komplexu. Intenzita zbarvení vzniklého komplexu se měří fotometricky a je přímo úměrná koncentraci bílkovin [12][36].

Vlastní analýza by se měla provádět z čerstvého séra. Vzorek srážlivé krve je odebrán z kubitální žíly standardním postupem ráno na lačno. Zkumavka se vzorkem se centrifuguje 15 minut při 2500 g, aby došlo k oddělení séra od krevního koláče. Stabilita séra při teplotě 4 - 8°C je až 4 týdny [36]. Fyziologické rozmezí koncentrace celkové bílkoviny v séru je 64,0 - 83,0 g/l [12].

3.2 Vyhodnocení

3.2.1 Charakteristika sledovaného souboru

Soubor tvořilo 31 pacientů (17 žen a 14 mužů) ve věku 54 - 89 let (medián - 68 let). Pacienti byli pro podezření na HVS vyšetřeni na IV. interní hematologické klinice v FN HK v průběhu let 2010 - 2013. Hlavními kritérii pro výběr pacientů byly:

- zvýšená hodnota viskozity plazmy nad 2,3 mPa.s.
- nemocní s diagnózou MM, WM, MGUS a B-NHL a přítomným monoklonálním imunoglobulinem

Uváděná laboratorní data pocházejí z laboratoře ÚKBD a z hematologické laboratoře IV. interní hematologické kliniky FN HK.

Hodnocenými parametry byly: viskozita plazmy, koncentrace celkové bílkoviny v séru a koncentrace monoklonálního imunoglobulinu v séru.

Ze sledovaného souboru bylo vybráno 5 nemocných (3 muži a 2 ženy), u nichž byla během hospitalizace na lůžkovém oddělení IV. interní hematologické kliniky FN HK opakovaně provedena léčebná plazmaferéza, za účelem demonstrace jejího účinku na sledované laboratorní parametry a současně klinické projevy HVS.

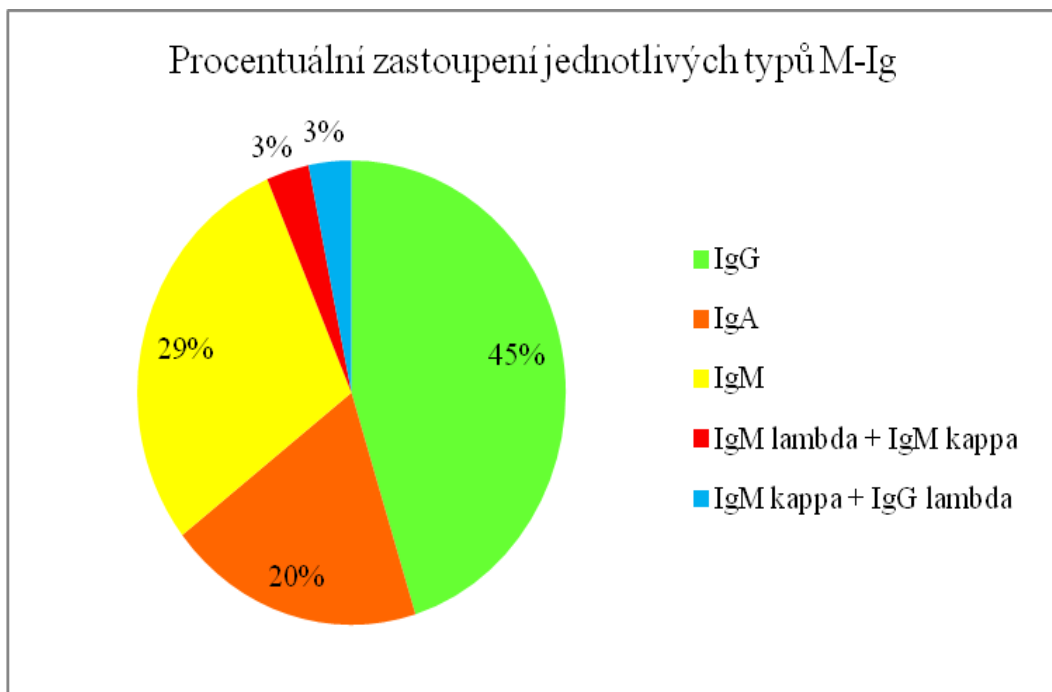
3.2.2 Statistické vyhodnocení

Laboratorní data byla zpracována v aplikaci Microsoft Office Excel 2007 metodou lineární regrese a vyhodnocena bodovým grafem.

Laboratorní data 5 vybraných pacientů ze sledovaného souboru byla zpracována v programu Microsoft Office Excel 2007 a vyhodnocena spojnicovým grafem.

3.2.3 Výsledky

V tabulce č. 3 jsou přehledně uvedeny hodnocené parametry u pacientů sledovaného souboru. Procentuální zastoupení pacientů s paraproteinem typu IgM bylo 29,03 %, IgG 45,16 %, IgA 19,35 %. U dvou pacientů ze sledovaného souboru byla přítomna zdvojená gamapatie IgM lambda + IgM kappa (nemocný s MGUS) a IgM kappa + IgG lambda (nemocný s B-NHL) (viz Graf 1, viz Tabulka 3).



Graf 1 Procentuální zastoupení jednotlivých typů monoklonálních imunoglobulinů

Zdroj: vlastní zpracování

Tabulka 3 Sledovaný soubor nemocných s viskozitou > 2,43mPa.s a celkovou bílkovinou > 56,6 g/l

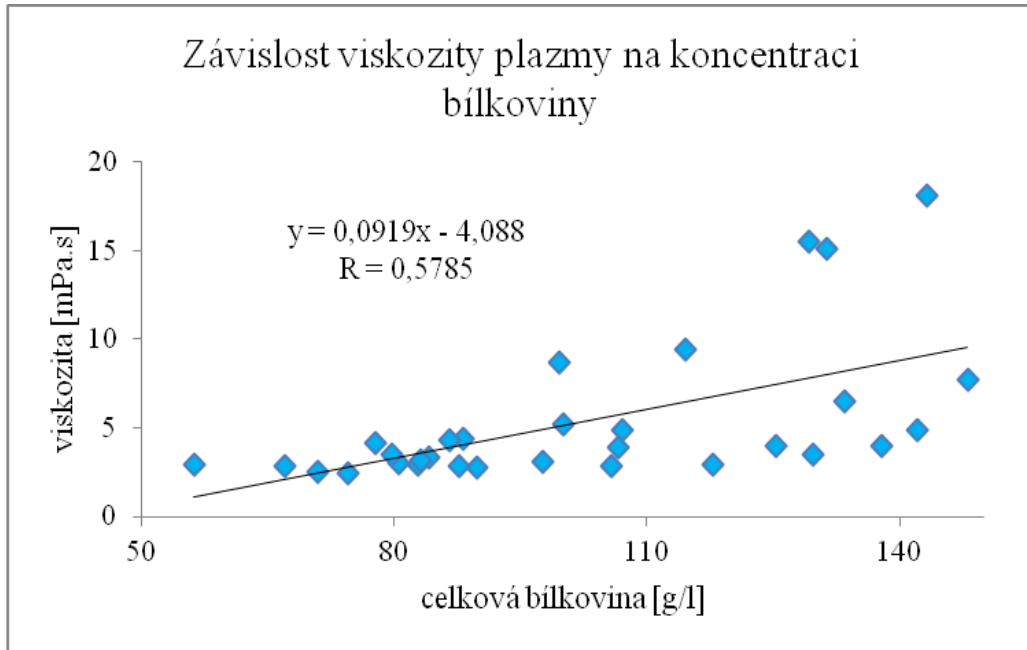
POŘADÍ	POHLAVÍ	DG.	MIG	S-PROT [g/l]	S-PARK [g/l]	VIS [mPa.s]
1	Ž	D472	IgM lambda	82,8	23,3	2,89
2	Ž	D472	IgM kappa	89,8	16,6	2,76
3	M	D472	IgM lambda + IgM kappa	67	14,5 + 1	2,81
4	Ž	C900	IgA kappa	133,5	85,5	6,49
5	Ž	C900	IgA lambda	77,8	31,4	4,17
6	Ž	C900	IgG kappa	125,4	44,9	4
7	M	C900	IgA kappa	87,7	23,1	2,85
8	Ž	C900	IgA lambda	131,4	91,5	15,13
9	M	C900	IgG lambda	107,1	41,9	4,9
10	Ž	C900	IgG kappa	142,1	90,8	4,9
11	Ž	C900	IgG kappa	74,6	20,8	2,43
12	M	C900	IgA lambda	56,3	6,3	2,92
13	Ž	C900	IgG kappa	84,1	21,3	3,35
14	Ž	C900	IgG kappa	129,7	62,6	3,53
15	M	C900	IgG kappa	105,8	46	2,85
16	Ž	C900	IgA kappa	88,3	30,5	4,37
17	Ž	C900	IgG lambda	117,9	35,3	2,96
18	Ž	C900	IgG kappa	143,2	85,3	18,14
19	M	C900	IgG lambda	114,6	68,8	9,4
20	M	C900	IgG kappa	97,7	33,4	3,08
21	M	C900	IgG kappa	148,1	98,9	7,7
22	M	C900	IgG kappa	100,1	46,5	5,19
23	M	C900	IgG kappa	137,9	79	3,98
24	M	C880	IgM kappa	86,6	25,7	4,27
25	M	C880	IgM kappa	106,7	57,3	3,94
26	M	C880	IgM kappa	83,2	21,2	3,15
27	Ž	C880	IgM kappa	70,9	8,1	2,49
28	Ž	C880	IgM kappa	99,7	44,1	8,72
29	Ž	C880	IgM kappa	129,3	63,1	15,49
30	Ž	C880	IgM kappa	80,5	22,2	3,01
31	M	C821	IgM kappa + IgG lambda	79,8	16,40 + 3,50	3,53

Zdroj: vlastní zpracování

DG. - diagnóza, MIG - typ monoklonálního imunoglobulinu, S-PROT - koncentrace celkové bílkoviny v séru, S-PARK - koncentrace monoklonálního imunoglobulinu v séru, VIS - viskozita plazmy, D472 - MGUS, C900 - MM, C880 - WM, C821 - B-NHL, Ž - žena, M - muž

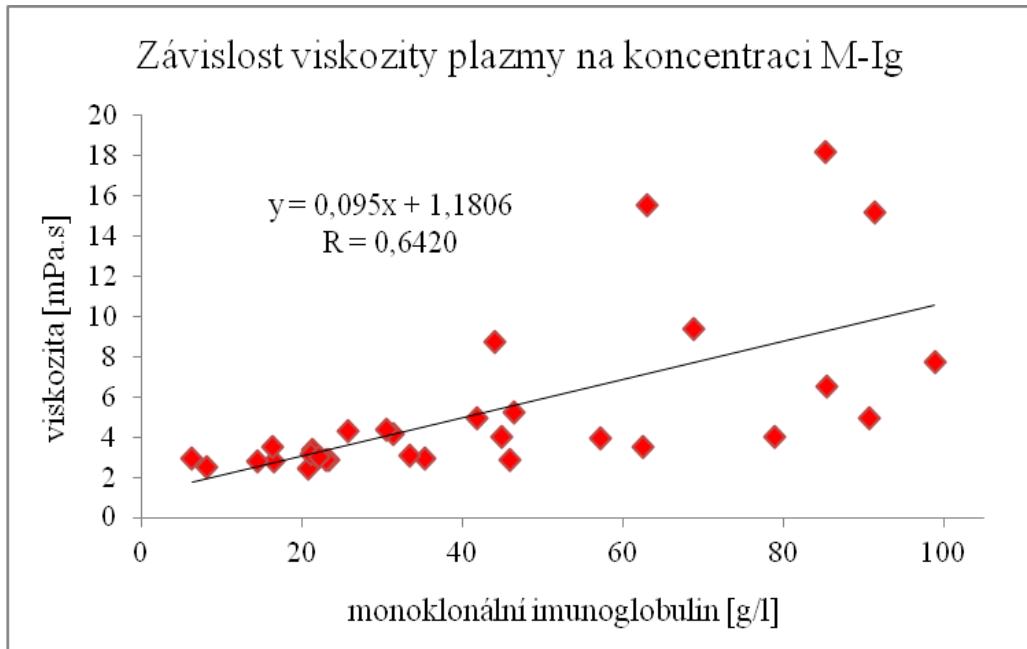
3.2.3.1 Výsledky lineární regrese

Výsledky lineární regrese při porovnávání vybraných laboratorních parametrů jsou zdokumentovány v grafech č. 2 - 4.



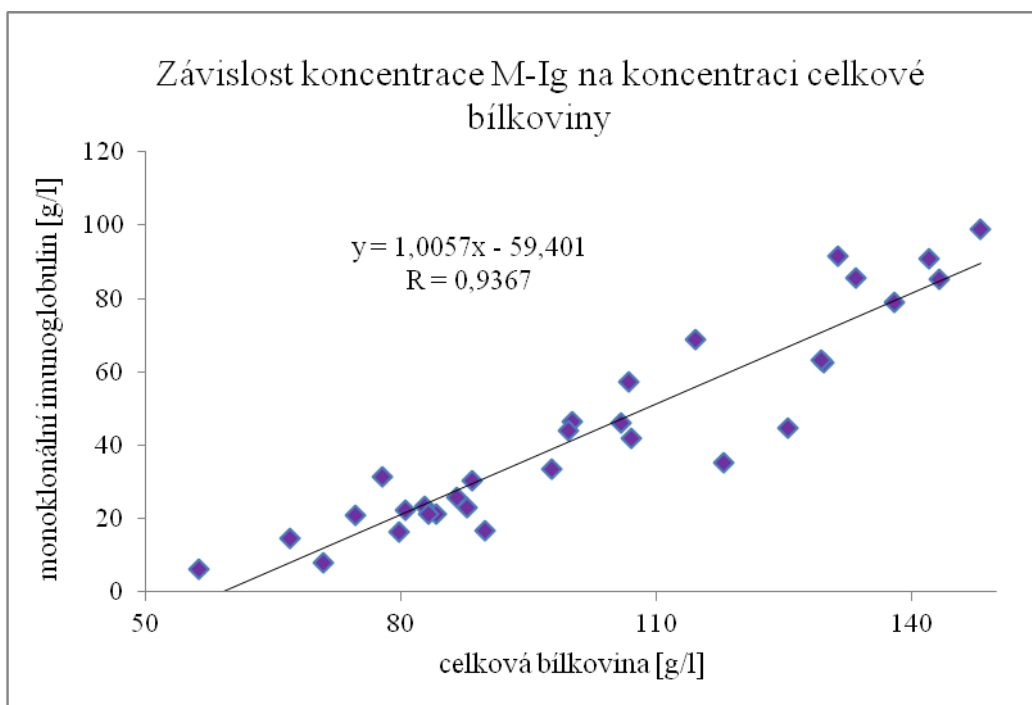
Graf 2 Závislost viskozity plazmy na koncentraci celkové bílkoviny séra

Zdroj: vlastní zpracování



Graf 3 Závislost viskozity plazmy na koncentraci M-Ig

Zdroj: vlastní zpracování



Graf 4 Závislost koncentrace M-Ig na koncentraci celkové bílkoviny

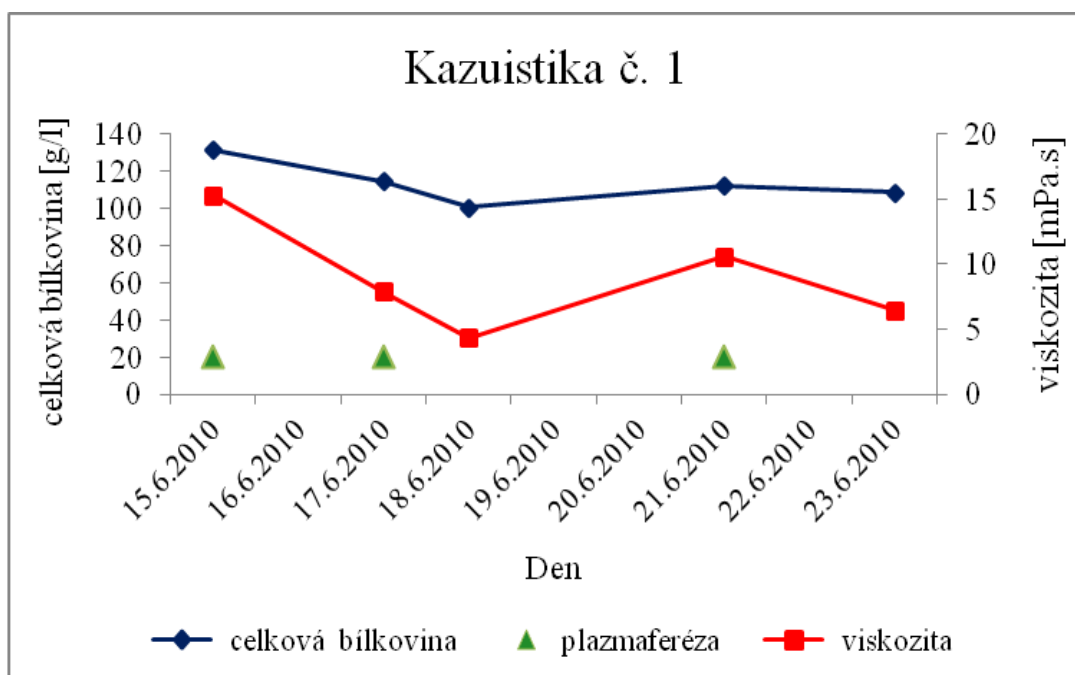
Zdroj: vlastní zpracování

3.2.3.2 Prezentace vybraných kazuistik

V následujících grafech je znázorněn vývoj koncentrace celkové bílkoviny a viskozity v závislosti na provedených léčebných plazmaferézách (viz Graf 5, Graf 6, Graf 7, Graf 8, Graf 9).

Kazuistika č. 1

U ženy ve věku 83 let byl 8. 6. 2010 diagnostikován mnohočetný myelom s M-Ig typu IgA lambda. Z důvodu opakované epistaxe (krvácení z nosu) s podezřením na HVS podstoupila laboratorní vyšetření, která vedla k indikaci plazmaferézy. Pacientka byla hospitalizována od 15. 6. do 24. 6. 2010. Vstupní koncentrace M-Ig v séru (S-PARK) byla 91,5 g/l, koncentrace celkové bílkoviny v séru (S-PROT) byla 131,4 g/l a viskozita plazmy (VIS) byla 15,3 mPa.s. Během hospitalizace nemocná podstoupila 3 plazmaferézy a současně byla zahájena léčba základního onemocnění pomocí systémové chemoterapie. Po provedených plazmaferézách došlo k vymizení epistaxe a k snížení S-PARK na 65,8 g/l, S-PROT na 108,7 g/l a VIS na 6,5 mPa.s (viz Graf 5).

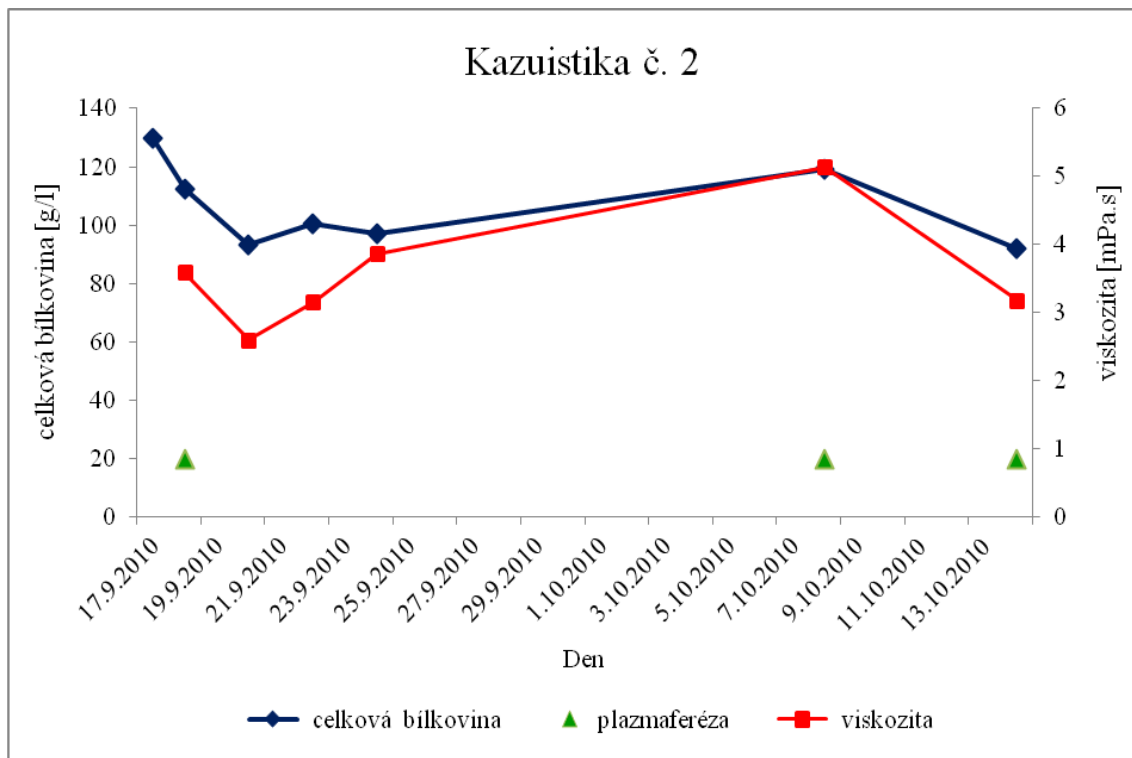


Graf 5 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 1)

Zdroj: vlastní zpracování

Kazuistika č. 2

85leté ženě byla v roce 2003 stanovena diagnóza mnohočetného myelomu s M-Ig typu IgG kappa. V roce 2010 byla hospitalizována od 17. 9. do 22. 10. z důvodu progresu základního onemocnění, jež vedla k nárůstu klinických obtíží. Pacientka měla známky arteriální hypertenze a levostranného srdečního selhávání. Vstupně byly naměřeny: S-PARK - 62,6 g/l, S-PROT - 129,7 g/l a VIS - 3,59 mPa.s. Pro příznaky HVS byla během hospitalizace provedena třikrát plazmaferéza. Postupně došlo k ústupu klinických obtíží a stabilizování celkového stavu nemocné. Koncentrace S-PROT klesla na 92,1 g/l a VIS klesla na 3,18 mPa.s (viz Graf 6).

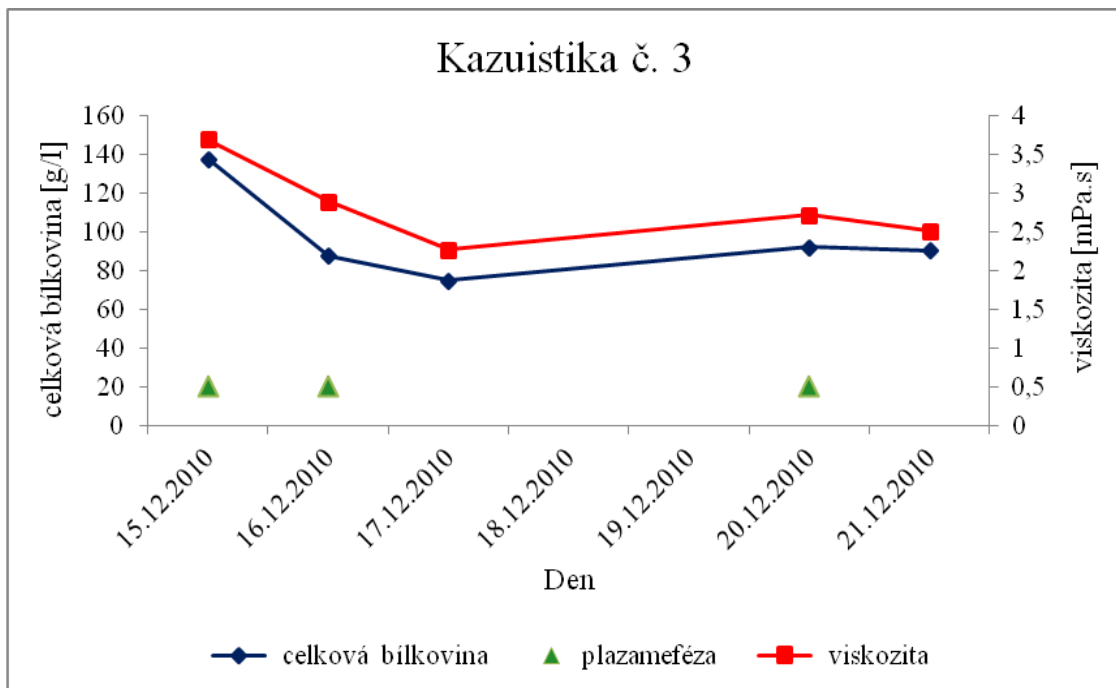


Graf 6 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 2)

Zdroj: vlastní zpracování

Kazuistika č. 3

66letému muži byla v prosinci roku 2010 diagnostikována Waldenströmova makroglobulinémie s paraproteinem typu IgM kappa. Ve stejném roce byl hospitalizován od 15. 12. do 23. 12. kvůli klinickým projevům HVS (opakované epistaxe, zhoršení zraku a snížení mobility). Vstupně byly naměřeny hodnoty: S-PARK - 43,7 g/l, S-PROT - 138,3 g/l a VIS - 3,7 mPa.s. Při vyšetření očního pozadí byl prokázán oboustranně neúplný uzávěr centrální vény, který byl rovněž způsoben HVS. Proto byla během hospitalizace třikrát provedena plazmaferéza a současně byla zahájena systémová chemoterapie. Postupně došlo k výraznému zlepšení celkového stavu, VIS klesla na 2,52 mPa.s a S-PROT na 90,6 g/l (viz Graf 7).

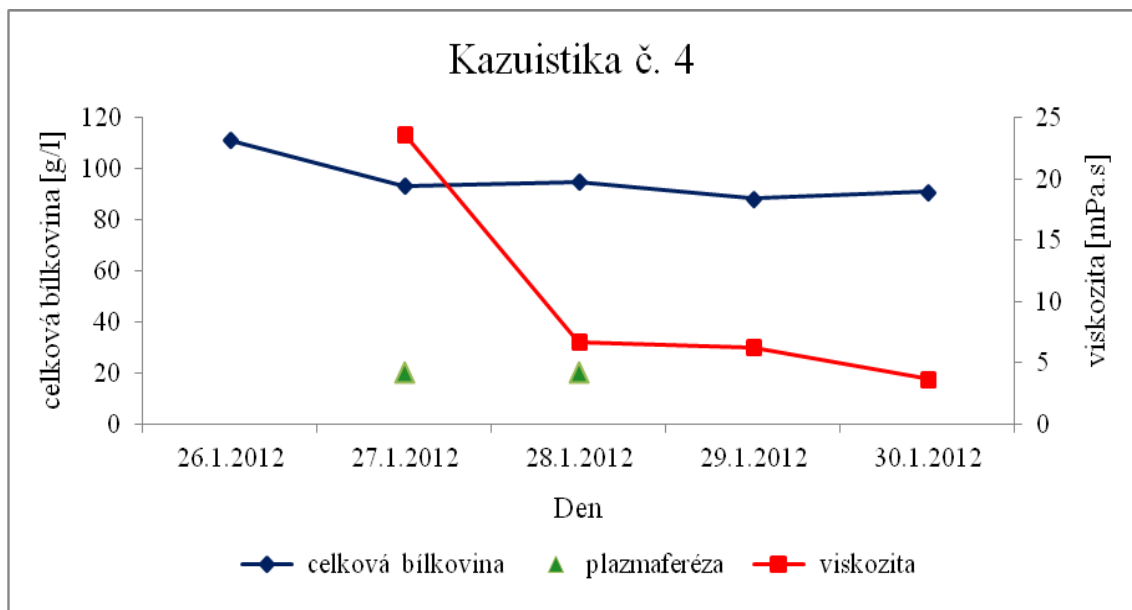


Graf 7 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 3)

Zdroj: vlastní zpracování

Kazuistika č. 4

53letému muži byl v listopadu roku 2010 diagnostikován mnohočetný myelom s M-Ig typu IgG lambda. Pacient byl hospitalizován od 13. 1. do 1. 2. 2012 pro teploty a nadměrné pocení s vysokou koncentrací C-reaktivního proteinu (CRP). Během hospitalizace byla kvůli opakujícím se epistaxím a zvýšené malátnosti vyšetřena i viskozita plazmy, která byla extrémně vysoká - 23,68 mPa.s a vedla k diagnóze HVS. Obratem byly provedeny 2 plazmaferézy a VIS klesla na 3,66 mPa.s. Dále došlo ke snížení původní koncentrace S-PROT ze 111,5 g/l na 91,1 g/l, ústupu teplot a poklesu koncentrace CRP (viz Graf 8).

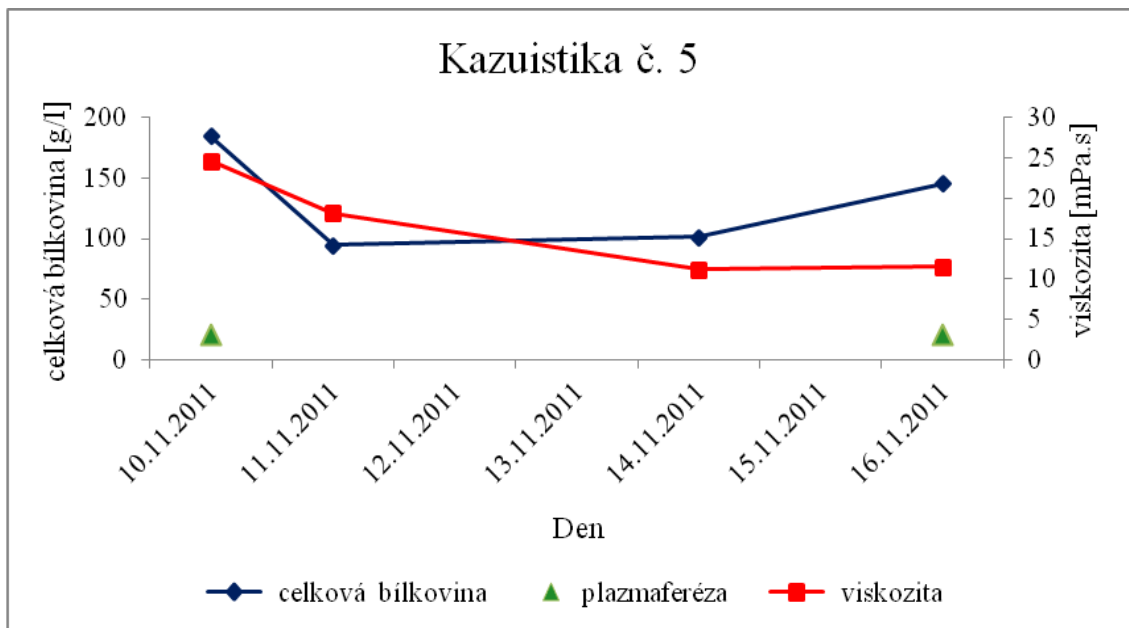


Graf 8 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 4)

Zdroj: vlastní zpracování

Kazuistika č. 5

65letému muži byla v listopadu roku 2011 diagnostikována Waldenströmova makroglobulinémie s M-Ig typu IgM kappa. Téhož roku byl hospitalizován od 9. 11. do 16. 11. kvůli klinickým projevům HVS (brnění v konečcích prstů, závratě při chůzi a epistaxe). Vstupní hodnoty byly abnormálně vysoké: S-PARK - 101,4 g/l, S-PROT - 185,1 g/l a VIS - 24,66 mPa.s. Vyšetření očního pozadí odhalilo krvácení do sítnice, což jen potvrdilo diagnózu HVS. Během hospitalizace byly provedeny 2 plazmaferézy a zahájena systémová chemoterapie. První plazmaferéza byla provedena v počátku, druhá až na konci hospitalizace. Došlo k ústupu klinických obtíží a k redukcii laboratorních hodnot, ačkoli nedošlo k jejich úplné normalizaci (viz Graf 9).



Graf 9 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 5)

Zdroj: vlastní zpracování

4 Diskuze

Projevy hyperviskózního syndromu nejčastěji souvisí s produkcí monoklonálního imunoglobulinu typu IgM u Waldenströmovy makroglobulinémie. Výskyt HVS při M-Ig typu IgA a IgG u mnohočetného myelomu je méně častý. To je dáno zejména velikostí molekuly IgM (pentamer). Nicméně Somer a kol. uvádějí, že s HVS je možné se setkat častěji u nemocných s mnohočetným myelomem, a to vzhledem k jeho vyšší incidenci [15]. Určení diagnózy hyperviskózního syndromu přitom nezáleží pouze na hladině viskozity plazmy, ale především na jeho klinických projevech [1][3].

Úkolem práce bylo zjistit případné závislosti mezi vybranými laboratorní parametry, které slouží k sledování aktivity monoklonálních gamapatií. Zjištěné hodnoty u skupiny 31 pacientů s MG byly statisticky analyzovány metodou lineární regrese. Od dvou pacientů se zdvojenou gamapatií byla do analýzy zahrnuta pouze majoritní koncentrace M-Ig.

Graf 2 zobrazuje závislost viskozity plazmy na koncentraci celkové bílkoviny. Rovnice regrese byla určena $y = 0,0919x - 4,088$ s koeficientem korelace $R = 0,5785$. Na ose x bylo upraveno měřítko, jelikož posun přímky na ose y je způsobený porovnáváním 2 kvantitativně odlišných parametrů (fyziologické rozmezí pro viskozitu plazmy je 1,7 – 2,3 mPa.s, pro koncentraci celkové bílkoviny je 64 – 83 g/l).

Graf 3 zobrazuje závislost viskozity plazmy na koncentraci monoklonálního imunoglobulinu. Rovnice regrese byla určena $y = 0,095x + 1,1806$ s koeficientem korelace $R = 0,6420$. V tomto případě nebylo upravení měřítka nutné.

Provedená analýza neukazuje na lineární závislost ani v grafu 2, ani v grafu 3. Vzhledem k hodnotám korelačních koeficientů však byla existence statisticky významné (patrně nelineární) závislosti veličin potvrzena na hladině významnosti 0,01. Rostoucí variabilita naměřených dat může být způsobena nehomogenním zastoupením jednotlivých typů M-Ig v hodnocené skupině. Pokud bychom porovnávali pacienty se stejným typem M-Ig, s velkou pravděpodobností bychom získali zcela odlišné výsledky. Nicméně toto nebylo naším cílem. Graf 3 odpovídá poznatku, který uvádí prof. Tichý a prof. Maisnar, že korelace mezi viskozitou plazmy a přítomností monoklonálního imunoglobulinu není lineární [1].

Graf 4 zobrazuje závislost biochemických parametrů, a to koncentrace monoklonálního imunoglobulinu na koncentraci celkové bílkoviny. Rovnice regrese byla určena $y = 1,0057x - 59,401$ s koeficientem korelace $R = 0,9367$. Na ose x bylo upraveno měřítko, jelikož posun přímky na ose y je opět způsobený porovnáváním odlišných parametrů (M-Ig je pouze bílkovinná frakce z celkové koncentrace bílkovin v séru). V tomto případě byla vzhledem k hodnotě korelačního koeficientu statisticky prokázána lineární závislost na hladině významnosti 0,001.

Prof. Tichý a prof. Maisnar dále uvádějí, že zvýšená hodnota viskozity může být způsobena nejen velikostí molekuly s nepředvídatelnými vlastnostmi paraproteinu (např. schopností agregace a kryoprecipitace), ale i nedostatečnou hydratací pacienta [37].

U všech uváděných pacientů byla naměřena patologická hodnota viskozity plazmy. Nicméně stav byl diagnosticky uzavřen jako HVS pouze u pacientů s klinickými projevy. Například u pacienta 21 z tabulky č. 3 s diagnózou mnohočetného myelomu IgG kappa nebyly známky HVS přítomny. Přitom tento muž ve věku 65 let měl všechny 3 hodnocené laboratorní parametry značně zvýšeny. Koncentrace celkové bílkoviny dosahovala 148,1 g/l, koncentrace IgG kappa činila 98,9 g/l a viskozita plazmy byla 7,7 mPa.s. I přes takto vysokou hodnotu viskozity nebyla u tohoto pacienta léčebná plazmaferéza provedena, a to z důvodu nepřítomnosti symptomů typických pro HVS, které jsou pro její indikaci klíčové.

LP nemusí být indikována pouze u pacientů s klinickými příznaky HVS. Příkladem mohou být nemocní s pokročilým základním onemocněním, kterým nezabírá medikamentózní léčba, a proto pravidelně docházejí na LP v rámci paliativní léčby (odstranění M-Ig a zmírnění příznaků) [1][3].

Klinický význam možnosti stanovení viskozity plazmy je především v možnosti monitorování účinnosti léčby nemocných s hyperviskózním syndromem pomocí opakovaných léčebných plazmaferéz (LP) [1]. Pro monitorování účinnosti léčby je dále možné využít i prosté stanovení celkové bílkoviny séra, jejíž hodnota úměrně koreluje s koncentrací M-Ig a oproti stanovení M-Ig se provádí rutinně [36].

V rámci druhého cíle byla graficky demonstrována účinnost opakovaných LP u 5 pacientů s přítomnou symptomatologií hyperviskózního syndromu, který provázel základní onemocnění (viz Graf 5, Graf 6, Graf 7, Graf 8, Graf 9). Ve všech uváděných případech došlo po provedení LP jak k okamžitému poklesu hladin viskozity plazmy a koncentrace celkové bílkoviny, tak i k ústupu klinických obtíží a k zlepšení celkového stavu nemocných.

Prof. Maisnar uvádí, že nemocným s Waldenströmovou makroglobulinémií obvykle stačí podstoupit pouze jednu proceduru LP, protože molekula M-Ig z třídy IgM je přibližně z 80 % přítomna v cévách [1]. Přesto v kazuistikách č. 3 a 5 bylo nutné provedení LP opakovaně, a to z důvodu výrazných klinických obtíží v důsledku vysokých hodnot viskozity i koncentrací paraproteinu a celkové bílkoviny.

Prof. Adam i prof. Maisnar uvádějí, že v případě M-Ig typu IgG a IgA je plazmaferéza méně účinná, než u typu IgM. Přibližně 50 % IgG i IgA se nachází v extravaskulární tekutině a po provedení LP dojde k opětovnému vyplavení paraproteinu do plazmy, čímž se zvýší hladina viskozity, a proto se LP musí opakovat. Uvádí se, že v těchto případech je pro dosažení stejného efektu LP, jako u M-Ig typu IgM, nutné provést sérii 3 - 5 plazmaferéz [1][3]. Uvedené skutečnosti potvrzují prezentované kazuistiky č. 1, 2 a 4.

5 Závěr

Na základě analýzy závislostí vybraných laboratorních parametrů jsme zjistili, že korelace mezi viskozitou plazmy a koncentrací celkové bílkoviny v séru, stejně jako korelace mezi viskozitou plazmy a koncentrací monoklonálního imunoglobulinu není lineární. Ze statistického hlediska však byla prokázána statisticky významná závislost. Pokud bychom dokázali odstranit příčinu výrazně rostoucí variability a analyzovali větší počet jedinců, možná bychom mohli odhalit, o jakou závislost se jedná. V rámci vzájemného porovnání koncentrace monoklonálního imunoglobulinu s koncentrací celkové bílkoviny séra jsme potvrdili statisticky významnou lineární závislost.

Při stanovení uvedených laboratorních parametrů musíme dbát zejména na preanalytickou fázi vyšetření, abychom získali validní výsledky a mohli je správně interpretovat. Viskozita plazmy podléhá mnoha faktorům, jako je např. hydratace pacienta a fyzikálněchemické vlastnosti monoklonálního imunoglobulinu.

V rámci posouzení vlivu opakované léčebné plazmaferézy, která je metodou volby u pacientů se symptomy hyperviskózního syndromu, jsme potvrdili její pozitivní vliv jak na viskozitu plazmy a koncentraci celkové bílkoviny v séru, tak na celkový stav nemocného a klinickou symptomatologii HVS.

6 Seznam zkratek

B-NHL	B-neHodgkinův lymfom (např. folikulární lymfom)
CLL	chronická lymfatická leukémie
CRP	C-reaktivní protein
FN HK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
HVS	hyperviskózní syndrom
IgA	imunoglobulin A
IgD	imunoglobulin D
IgE	imunoglobulin E
IgG	imunoglobulin G
IgM	imunoglobulin M
IL-6	interleukin-6
IL-1 β	interleukin-1 beta
KD	kostní dřeň
LP	léčebná plazmaferéza
MG	monoklonální gamapatie
MGUS	monoklonální gamapatie nejasného významu
M-Ig	monoklonální imunoglobulin
MM	mnohočetný myelom
S-PARK	koncentrace monoklonálního imunoglobulinu v séru
S-PROT	koncentrace celkové bílkoviny v séru
TNF- α	tumor necrosis factor-alfa (tumor nekrotizující faktor alfa)
ÚKBD	Ústav klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové
VIS	viskozita plazmy
WHO	World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)
WM	Waldenströmova makroglobulinémie

7 Seznam tabulek

Tabulka 1 Základní klasifikace monoklonálních gamapatií	16
Tabulka 2 Základní laboratorní metody používané u monoklonálních gamapatií	27
Tabulka 3 Sledovaný soubor nemocných s viskozitou > 2,43mPa.s a celkovou bílkovinou > 56,6 g/l.....	33

8 Seznam grafů

Graf 1 Procentuální zastoupení jednotlivých typů monoklonálních imunoglobulinů	32
Graf 2 Závislost viskozity plazmy na koncentraci celkové bílkoviny séra	34
Graf 3 Závislost viskozity plazmy na koncentraci M-Ig	35
Graf 4 Závislost koncentrace M-Ig na koncentraci celkové bílkoviny.....	35
Graf 5 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 1).....	36
Graf 6 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 2).....	37
Graf 7 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 3).....	38
Graf 8 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 4).....	39
Graf 9 Vliv plazmaferézy na koncentrace celkové bílkoviny a viskozity plazmy (Kazuistika č. 5).....	40

9 Seznam obrázků

Obrázek 1 Klinické projevy hyperviskózního syndromu	11
Obrázek 2 Penízkovatění (rouleaux) erytrocytů	19
Obrázek 3 Lymfoplazmocytoidní buňka	19
Obrázek 4 Myelomové buňky.....	23
Obrázek 5 Mottova buňka.....	24
Obrázek 6 Dutcherova tělíska.....	24
Obrázek 7 Krystalické útvary v myelomových buňkách.....	25
Obrázek 8 Plamenná buňka	25

10 Seznam použité literatury

- [1] MAISNAR, V., TICHÝ, M. *Monoklonální imunoglobuliny - výskyt, význam a možnosti jejich průkazu*. 1. vyd. Praha: Nucleus HK, 2012. 125 s. ISBN 978-808-7009-871.
- [2] MACHÁLKOVÁ, J., RADOCHA, K., MAISNAR, V. Hyperviskózní syndrom u pacientů s mnohočetným myelomem. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2011, č. 2, s. 93-95. [cit. 2014-12-2]. Dostupné z <<http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2011/2011-2/abstrakta/ab-KBM-2-11-93-Machalkova.pdf>>.
- [3] ADAM, Z., KREJČÍ, M., VORLÍČEK, J. *Hematologie: přehled maligních hematologických nemocí*. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada, 2008. 390 s. ISBN 978-802-4725-024.
- [4] JÍLEK, P. *Základy imunologie*. 2., přeprac. vyd. Anyway, 2008. 79 s. ISBN 978-80-254-2422-3.
- [5] TICHÝ, M., HRNČÍŘ, Z. *Atlas monoklonálních imunoglobulinů (paraproteinů)*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1981. 136 s. ISBN neuvedeno.
- [6] ŠPIČKA, I. *Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie*. 1. vyd. Praha: Galén, 2005. 128 s. ISBN 80-726-2330-3.
- [7] BARTŮŇKOVÁ, J., PAULÍK, M. *Vyšetřovací metody v imunologii*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2011. 168 s. ISBN 978-80-247-3533-7.
- [8] TICHÝ, M., MAISNAR, V., HRNČÍŘ, Z. et al. Kryoglobuliny v souboru 3392 monoklonálních imunoglobulinů. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2009, č. 2, s. 77–78. [cit. 2013-27-12]. Dostupné z <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2009/2-09/KBM0209_Tichy.pdf>
- [9] STONE, M. J. Waldenström's macroglobulinemia: Hyperviscosity syndrome and Cryoglobulinemia. *Clinical Lymphoma and Myeloma* [online]. 2009, vol. 9, iss. 1, p. 97-99. [cit. 2014-22-2]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1557919011701779>>
- [10] PTÁK, J. Léčebná výměnná plazmaferéza a její praktické využití v neurologii. *Neurologie pro praxi* [online]. 2003, č. 3, s. 148-152. [cit. 2014-15-3]. Dostupné z <<http://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2003/03/10.pdf>>

- [11] STONE, M. J., BOGEN, S. A. Evidence-based focused review of management of hyperviscosity syndrome. *Blood* [online]. 2012, vol. 119, iss. 10, p. 2205-2208. [cit. 2014-13-1]. Dostupné z <<http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2011-04-347690>>
- [12] BERÁNEK, M., TICHÝ, M., MAYER, J. et al. *Vybrané kapitoly z klinické biochemie: pro studijní program Zdravotnická bioanalytika*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2013. 197 s. ISBN 978-802-4621-869.
- [13] KYLE, R. A. Historical Review: Henry Bence Jones - physician, chemist, scientist and biographer: a man for all seasons. *British Journal of Haematology* [online]. 2001, vol. 115, p. 13-18. [cit. 2014-18-3]. Dostupné z <<http://www.bloodmed.com/home/hann2pdf/bjh2962.pdf>>
- [14] J HEMINGWAY, T. Hyperviscosity syndrome. In: *Medscap* [online]. © 1994-2014 [cit. 2014-03-24]. Dostupné z <<http://emedicine.medscape.com/article/780258-overview#a0104>>
- [15] SOMER, T., MEISELMANT, H. J. Disorders of Blood Viscosity. *Annals of Medicine*, 1993, vol. 25, p. 31-39.
- [16] VITOLO, U., FERRERI, A. J., MONTOTO, S. Lymphoplasmacytic lymphoma - Waldenström's macroglobulinemia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* [online]. 2008, vol. 67, iss. 2, p. 172-185. [cit. 2014-15-1]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1040842808000693>>
- [17] PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu: fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. 1. vyd. Český Těšín: FINIDR, 2006. 304 s. ISBN 80-866-8202-1.
- [18] STONE, M. J., PASCUAL, V. Pathophysiology of Waldenström's macroglobulinemia. *Haematologica* [online]. 2010, vol. 95, iss. 3, p. 359-364. [cit. 2014-12-3]. Dostupné z <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2833063/>>
- [19] FABER, E. *Základy hematologické diagnostiky*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2012. 261 s. ISBN 978-80-244-2935-9.
- [20] ŠČULDA, V., ADAM, Z. Diagnostický význam a úskalí hodnocení roztěrového preparátu kostní dřeně u mnohočetného myelomu. *Vnitřní Lékařství* [online]. 2006, č. 11, s. 55-65. [cit. 2014-04-15]. Dostupné z <http://www.prolekare.cz/pdf?ida=vl_06_11_25.pdf>

- [21] KAČÍRKOVÁ, P., CAMPR, V. *Hematoonkologický atlas krve a kostní dřeně*. 1. vyd. Praha: Grada, 2007. 285 s. ISBN 978-802-4718-538.
- [22] ANDĚL, M. *Vnitřní lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, 2001. 230 s. ISBN 80-7262-085-1.
- [23] PENKA, M., SLAVÍČKOVÁ, E. *Hematologie a transfuzní lékařství*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011. 421 s. ISBN 978-802-4734-590.
- [24] Mnohočetný myelom - statistika. *Česká myelomová skupina* [online]. [cit. 2014-03-24]. Dostupné z <<http://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--zakladni-udaje--statistika>>
- [25] ZVOLSKÝ, M. Zhoubné nádory v roce 2010. *Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR* [online]. 2013 [cit. 2014-03-24]. Dostupné z <<http://www.uzis.cz/rychle-informace/zhoubne-nadory-roce-2010>>
- [26] GOLDMAN, J., MUGHAL, T., MUGHAL, S. *Understanding leukaemia and lymphoma*. 2nd print. London: Martin Dunitz, 2004. 252 p. ISBN 978-1-84184-409-1.
- [27] DIMOPOULOS, M. A., ANAGNOSTOPOULOS, A. Waldenström's macroglobulinemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* [online]. 2005, vol. 18, iss. 4, p. 747-765. [cit. 2014-11-3]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521692605000290>>
- [28] ADAM, Z., VORLÍČEK, J. *Hematologie: pro praktické lékaře*. 1. vyd. Praha: Galén, 2007. 314 s. ISBN 978-807-2624-539.
- [29] VORLÍČEK, J., ADAM, Z. Mnohočetný myelom: Seznam doporučených postupů. *MEDITORIAL. Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně* [online]. © 2002 [cit. 2014-03-23]. Dostupné z <<http://www.cls.cz/seznam-doporucenych-postupu>>
- [30] POSPÍŠILOVÁ, Š., DVOŘÁKOVÁ, D., MAYER, J. et al. *Molekulární Hematologie*. Praha: Galén, 2013. 316 s. ISBN 978-80-7262-942-8.
- [31] PECKA, M. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Vyd. 1. Český Těšín: Infiniti art, 2010. 343 s. ISBN 978-80-903871-9-5.
- [32] VRBACKÝ, F. Standardní operační postup (SOPV) č. 203, *Měření viskozity krve, krevní plasmy a sér*. IV. interní hematologická klinika FN HK, verze 4, 1. 9. 2013. 6 s.

- [33] VAŠATOVÁ, M. Standardní operační postup (SOPV) č. 3-21-0003 T, *Capillarys 2. ÚKBD FN HK, verze 1, 24. 6. 2013. 6 s.*
- [34] VÁVROVÁ, J. Standardní operační postup (SOPV) č. 3-21-0201 A, *Elektroforetické dělení frakcí sérových proteinů. ÚKBD FN HK, verze 1, 17. 6. 2013. 4 s.*
- [35] VÁVROVÁ, J. Standardní operační postup (SOPV) č. 3-21-0002 T, *Práce s elektroforetickým poloautomatem Hydrasys. ÚKBD FN HK, verze 1, 14. 4. 2014, 5 s.*
- [36] HOLEČKOVÁ, M. Standardní operační postup (SOPV) č. 2-11-0021 A, *Měření biochemických parametrů na analyzátoru Modulár PEE. ÚKBD FN HK, verze 1, 5. 6. 2013. 45 s.*
- [37] TICHÝ, M., MAISNAR, V. Laboratorní průkaz monoklonálních gamapatií. *Vnitřní lékařství* [online]. 2006, č. 11, s. 41-45. [cit. 2014-17-3]. Dostupné z <http://www.prolekare.cz/pdf?ida=vl_06_11_23.pdf>