



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: **LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA**

**Autor:** Jakub Černý, DiS.

**Vedoucí práce:** MUDr. Alena Lavičková

České Budějovice 2024

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu“ jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 29. 4. 2024.

.....  
Jakub Černý, DiS.

### **Poděkování**

Především děkuji své vedoucí práce MUDr. Aleně Lavičkové za cenné rady a připomínky, které mi pomáhaly při psaní bakalářské práce. Poděkování patří i mým kolegům z ÚKBH FN Plzeň a v neposlední řadě i mé rodině za trpělivost během celého mého studia.

# Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu

## Abstrakt

Bakalářská práce na téma Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu je rozdělena na teoretickou a praktickou část. V teoretické části představuji hematoonkologické onemocnění mnohočetný myelom, jeho laboratorní diagnostikou, kam patří biochemické, hematologické, imunologické, genetické a histologické vyšetření. Dále v práci uvádím také další diagnostické metody – zobrazovací vyšetření skeletu (RTG, CT, PET/CT). Uvádím také další patologické stavy, které úzce souvisí s danou problematikou a jsou spojené s monoklonální gamapatií. V závěru teoretické části stručně informuji o možnostech léčby tohoto onemocnění.

Pro bakalářskou práci byly stanoveny 4 cíle. Prvním cílem bylo přehledně shrnout laboratorní vyšetřovací metody, používané v současné době k diagnostice MM. Druhým cílem bylo zmapovat diagnostický postup při prvozáchytu MM na příkladu konkrétního pacienta. Třetím cílem bylo poukázat na variabilitu vstupního nálezu a průběhu onemocnění formou kazuistik. Posledním čtvrtým cílem bylo využití dat získaných z vlastního pracoviště ÚKBH (laboratoř + hematologická ambulance) k zodpovězení několika výzkumných otázek.

K dosažení výsledků výzkumného šetření byly použity metody kvantitativního výzkumu technikou retrospektivní analýzy dostupných laboratorních dat z LIS. Kvalitativní výzkum technikou analýzy dat byl využit k sepsání jednotlivých kazuistik a kompletní diagnostiky pacienta.

V diskuzi a v závěru bakalářské práce jsou shrnuty výsledky výzkumných otázek a zhodnocení naplnění uvedených cílů práce. Nakonec je zmíněn předpokládaný přínos bakalářské práce v současné laboratorní i klinické diagnostice onemocnění.

## Klíčová slova

monoklonální gamapatie; mnohočetný myelom; plazmatické buňky; volné lehké řetězce; laboratorní diagnostika; imunoglobuliny; zobrazovací metody

# Laboratory Diagnostics of Multiple Myeloma

## Abstract

The bachelor thesis on the topic Laboratory diagnostics of multiple myeloma is divided into theoretical and practical parts. In the theoretical part I introduce the hematological disease multiple myeloma, its laboratory diagnostics, which include biochemical, hematological, immunological, genetic and histological tests. In addition, I also present other diagnostic methods - skeletal imaging (X-ray, CT, PET/CT). I also present other pathologies that are closely related to the problem and are associated with monoclonal gammopathy. At the end of the theoretical part I briefly inform about the treatment options for this disease.

For the bachelor thesis 4 objectives were set. The first aim was to summarize the laboratory testing methods currently used to diagnose MM. The second aim was to map the diagnostic procedure for the first detection of MM using a specific patient as an example. The third aim was to highlight the variability of initial findings and disease course in the form of case reports. The fourth and final aim was to use data obtained from the Institute's own department (laboratory + haematology outpatient clinic) to answer several research questions.

To achieve the results of the research investigation, quantitative research methods were used by retrospective analysis of available laboratory data from LIS. Qualitative research technique of data analysis was used to write individual case reports and complete patient diagnosis.

In the discussion and in the conclusion of the bachelor thesis, the results of the research questions and the evaluation of the fulfilment of the stated objectives of the thesis are summarised. Finally, the expected contribution of the bachelor thesis in current laboratory and clinical diagnosis of the disease is mentioned.

## Key words

monoclonal gammopathy; multiple myeloma; plasma cells; free light chains; laboratory diagnostics; immunoglobulins; imaging method

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>Teoretická část</b> .....	<b>10</b>
2.1	Kostní dřeň .....	10
2.2	Plazmatické buňky .....	10
2.3	Imunoglobuliny.....	11
2.4	Volné lehké řetězce.....	11
2.5	Monoklonální gamapatie.....	12
2.5.1	Monoklonální gamapatie nejasného významu.....	12
2.5.2	Asymptomatický (doutnající) myelom.....	12
2.5.3	Mnohočetný myelom .....	12
2.5.4	Waldenströmova makroglobulinémie (lymfoplazmocytární lymfom) .....	13
2.5.5	Plazmocelulární leukémie .....	13
2.6	Symptomatický mnohočetný myelom .....	13
2.6.1	Historie .....	13
2.6.2	Epidemiologie .....	14
2.6.3	Etiologie .....	14
2.6.4	Klinické příznaky .....	14
2.6.5	Diagnostická kritéria .....	15
2.6.6	Klinická stádia .....	16
2.7	Laboratorní diagnostika .....	17
2.7.1	Hematologické vyšetření.....	18
2.7.2	Biochemické vyšetření .....	20
2.7.3	Imunologické vyšetření .....	23
2.7.4	Genetické vyšetření.....	24
2.7.5	Histologické vyšetření.....	25
2.8	Ostatní vyšetřovací metody .....	26
2.8.1	RTG snímky skeletu.....	26
2.8.2	Zobrazení skeletu metodou MR.....	26
2.8.3	Klasické CT skeletu .....	27
2.8.4	Low dose CT skeletu.....	27
2.8.5	PET/CT.....	27
2.9	Léčba .....	28
<b>3</b>	<b>Cíle práce a výzkumné otázky</b> .....	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>Metodika</b> .....	<b>30</b>

4.1	Metodika výzkumného šetření.....	30
4.2	Charakteristika výzkumného souboru.....	30
<b>5</b>	<b>Praktická část .....</b>	<b>31</b>
5.1	Diagnostický postup při prvozáchytu MM u konkrétního pacienta .....	31
5.1.1	První návštěva hematologické ambulance ÚKBH FN Plzeň .....	31
5.1.2	Vstupní laboratorní vyšetření .....	32
5.1.3	Cytologie kostní dřeně .....	32
5.1.4	Průtoková cytometrie (Flowcytometrické vyšetření).....	33
5.1.5	Cytogenetické vyšetření + nádorový karyotyp .....	34
5.1.6	Bioptické vyšetření KD.....	35
5.1.7	Elektroforetické vyšetření + imunofixace séra .....	36
5.1.8	PET/CT trupu.....	37
5.1.9	Vývoj laboratorního nálezu po zahájení léčby .....	39
5.1.10	Závěr.....	40
5.2	Příklady variability MM formou kazuistik.....	41
5.2.1	Kazuistika 1 .....	41
5.2.2	Kazuistika 2 .....	42
5.2.3	Kazuistika 3 .....	44
5.3	Výzkumné šetření .....	46
5.3.1	Celkový počet vyšetření níže uvedených metod v laboratoři ÚKBH.....	46
5.3.2	Zastoupení diagnózy MGUS a MM v hodnoceném souboru.....	47
5.3.3	Odpověď na výzkumnou otázku č. 1 .....	48
5.3.4	Odpověď na výzkumnou otázku č. 2 .....	49
5.3.5	Odpověď na výzkumnou otázku č. 3 .....	52
5.3.6	Odpověď na výzkumnou otázku č. 4 .....	54
<b>6</b>	<b>Diskuze k výzkumným otázkám .....</b>	<b>55</b>
<b>7</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>57</b>
<b>8</b>	<b>Seznam příloh, tabulek a obrázků .....</b>	<b>59</b>
8.1	Seznam příloh .....	59
8.2	Seznam tabulek.....	59
8.3	Seznam obrázků.....	60
<b>9</b>	<b>Zdroje .....</b>	<b>66</b>
<b>10</b>	<b>Použité zkratky.....</b>	<b>71</b>

# 1 Úvod

Jako téma bakalářské práce jsem si vybral „Laboratorní diagnostiku mnohočetného myelomu“. K tomuto tématu jsem se rozhodl proto, že na našem pracovišti se s vyšetřením biologického materiálu pacientů s MM setkáváme poměrně často, až na denní bázi. Myelom tvoří 10 – 15 % hematologických malignit, což ho řadí jako 2. nejčastější hematoonkologické onemocnění. Mnohočetný myelom je maligní onemocnění kostní dřeně. Řadí se do skupiny onemocnění, které charakterizuje nekontrolovatelná proliferace myelomových (plazmatických) buněk v kostní dřeni a přítomnost monoklonálního imunoglobulinu (paraproteinu, M-proteinu) ev. jeho strukturálních komponent (VLŘ) v séru nebo v moči.

Jako jeden z hlavních cílů jsem stanovil vypracovat ucelený přehled současných diagnostických laboratorních i nelaboratorních (zobrazovacích) vyšetření, která v současné době využíváme k diagnostice MM. Druhým cílem bylo zmapovat diagnostický postup při prvozáchytu MM na příkladu jednoho pacienta. Třetím důležitým cílem bylo poukázat na variabilitu onemocnění formou tří kazuistik. Posledním cílem bylo využít laboratorních výsledků z vlastního pracoviště za období jednoho roku k podrobnější analýze tohoto souboru z různých úhlů pohledu.

Výzkumné otázky ve sledovaném souboru dat byly zvoleny tak, aby obsahovaly přehled laboratorních vyšetření důležitých pro diagnostiku MGUS, MM a spektrum vyšetřovaných pacientů. Zvolil jsem čtyři výzkumné otázky. První otázkou bylo, jaké je zastoupení jednotlivých M-proteinů u diagnózy MM za uvedené období. Druhou otázkou bylo, jaké je zastoupení MM dle pohlaví a věku. Třetí otázkou je % rozdělení souboru nemocných s MGUS do rizikových skupin dle prognostického skórování IMWG. Poslední otázkou je, jaké je % zastoupení nemocných s MM s vysokým excesem VLŘ v porovnání s poměrně nízkou hladinou M-proteinu. Jedná se o nemocné s MM, kteří by mohli být díky nízké hladině M-proteinu bez doplnění vyšetření VLŘ poddiagnostikováni. Otázky byly zodpovězeny formou dat s následným grafickým vyhodnocením.

Laboratorní diagnostika MM je komplexní (laboratorní metody, zobrazovací metody). Testem první volby je ELFO plazmatických proteinů doplněné o imunofixaci a stanovení volných lehkých řetězců v séru. Důležité je také stanovení rozsahu postižení kostní dřeně. Mezi další důležitá vyšetření řadíme zobrazovací metody, využívané k určení rozsahu osteolytického poškození skeletu.



V posledních letech došlo k výraznému pokroku v celkovém pochopení patofyziologie myelomu. Tyto poznatky dále odhalují nové možnosti v diagnostice, léčbě a monitoraci pacientů. Zkvalitnění laboratorní diagnostiky má mimořádný význam pro včasnou diagnostiku a následnou prognózu nemoci.

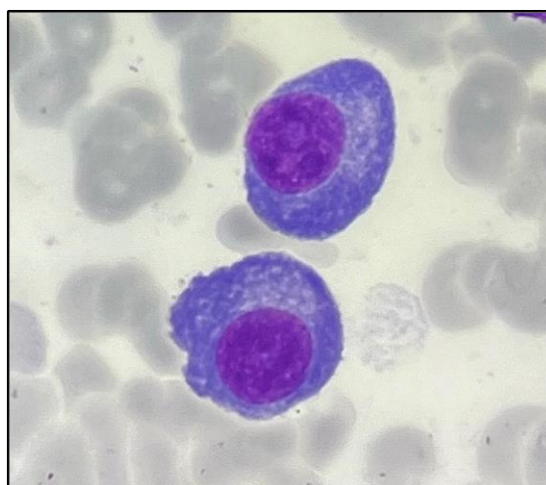
## 2 Teoretická část

### 2.1 Kostní dřev

Kostní dřev vyplňuje vnitřní dutiny některých kostí. Krvetvorná tkáň obsahuje mateřské buňky pro tvorbu červených krvinek (erytrocytů), bílých krvinek (leukocytů) a krevních destiček (trombocytů). V období růstu postupně mizí krvetvorba ve dřeví dlouhých kostí. Retikulární vazivo je prostupováno tukovými buňkami – tímto se červená dřev mění ve žlutou dřev. Žlutá kostní dřev má průsvitný a želatinový vzhled. Tento jev je typický pro pozdější věk. Při podezření na poruchu krvetvorby je nutno odebrat a vyšetřit vzorek kostní dřev. (Čihák, 2011).

### 2.2 Plazmatické buňky

Fyziologicky zralé plazmocyty mají proměnlivou velikost (9 – 30  $\mu\text{m}$ ), obsahují oválné jádro, které je v buňce uloženo excentricky. Dále se skládá ze sytě bazofilní a bohaté cytoplazmy s paranukleárním projasněním typickým pro plazmatickou buňku. Jádro je malé, bez přítomnosti jadérek, má hrubou strukturu s ložiskovou kondenzací jaderného chromatinu (obr. 1). Z morfologického hlediska rozlišujeme dva typy plazmatických buněk. Marschalkovy retikulární buňky jsou zodpovědné za syntézu imunoglobulinů třídy IgG a IgA. Moeschlinovy lymfoplazmocyty buňky jsou místem syntézy imunoglobulinů třídy IgM (Ščudla, 2006).

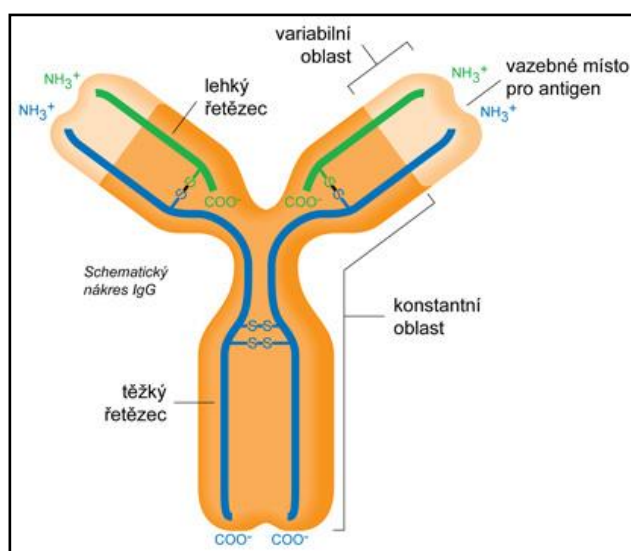


Obrázek 1 Plazmatické buňky (Zdroj: Vlastní)

### 2.3 Imunoglobuliny

Každá molekula protilátky má strukturu imunoglobulinu (dále jen Ig). Ig jsou bílkoviny a mívají typický tvar písmene Y (obr. 2). Tvoří jej 4 řetězce. 2 řetězce jsou delší a označují se jako těžké, zatímco další 2 řetězce jsou kratší a nazývají se lehké. Řetězce jsou spojené disulfidovými vazbami mezi dvěma aminokyselinami (cysteiny). I uvnitř řetězců nacházíme disulfidové vazby, kterými molekula tvoří kruhové smyčky (domény). Lehké řetězce obsahují variabilní a konstantní doménu, zatímco těžké řetězce jsou tvořeny 1 variabilní doménou a 3 – 4 konstantními doménami (Jílek, 2019).

Molekuly Ig řadíme do tříd podle toho, jak se mezi sebou liší stavbou konstantních domén těžkých řetězců na IgM, IgG, IgA, IgE, IgD. Lehké řetězce mají dvě strukturální varianty, které se vyskytují ve všech 5 třídách, ale jednotlivá molekula má buď lehké řetězce kappa ( $\kappa$ ), nebo lambda ( $\lambda$ ) (Jílek, 2019).



Obrázek 2 Struktura imunoglobulinu (Zdroj: Kodíček, 2007, upraveno)

### 2.4 Volné lehké řetězce

Volné lehké řetězce – FLC (z angl. Free Light Chains) jsou syntetizovány zralými, ale i nezralými B-buňkami. K nejvyšší syntéze dochází u plazmocyťů. Z fyziologického hlediska jsou syntetizovány 2krát více kappa řetězce ( $\kappa$ ) než lambda řetězce ( $\lambda$ ). Volné lehké řetězce mají široké klinické využití ve všech fázích diagnostiky i léčby myelomu, díky jejich krátkému biologickému poločasu. Sérová koncentrace FLC odráží bilanci mezi jejich produkcí a eliminací. Sérové FLC jsou závislé na funkci ledvin, jelikož jsou odstraňovány a metabolizovány ledvinami. Z hlediska eliminace jsou kappa řetězce odbourávány rychleji než lambda řetězce (kappa v průběhu 2 – 4 hodin, lambda

v průběhu 3 – 6 hodin). U pacientů s prokázaným mnohočetným myelomem a se současným poškozením ledvin může být eliminace řetězců prodloužena až na 2 – 3 dny (The Binding Site Group Ltd, 2015).

## **2.5 Monoklonální gamapatie**

Monoklonální gamapatie (dále jen MG) jsou stavy, vyznačující se maligní či potenciálně maligní klonální proliferací buněk B-buněčné linie (plazmocyty). Proliferující plazmocyty produkují monoklonální imunoglobulin nebo jeho lehké řetězce ( $\kappa$ ,  $\lambda$ ). MG se z hlediska prognózy a léčby dělí na nezhoubné a zhoubné. Nejčastějším onemocněním ze skupiny nezhoubných MG je monoklonální gamapatie nejasného významu. Mezi nejčastější zhoubné onemocnění MG řadíme skupinu plazmocelulárních proliferací, kam patří jednotlivé izotypy a variantní formy mnohočetného myelomu. Mezi méně časté zhoubné onemocnění se řadí Waldenströмова makroglobulinemie (Ščudla et al., 2017).

### **2.5.1 Monoklonální gamapatie nejasného významu**

Monoklonální gamapatie nejasného významu (dále jen MGUS) je nejčastější bezpříznakový premaligní stav. Každé diagnóze „mnohočetný myelom“ předchází MGUS (Sandecká et al., 2018). MGUS charakterizuje přítomnost nízké, ale stabilní hodnoty paraproteinu (< 30 g/L), která je detekovatelná v séru nebo v moči pacienta. Dále nacházíme velmi mírné zmnožení plazmocyty v kostní dřeni (< 10 %). U pacientů s MGUS nejsou přítomna orgánová poškození (Faber, 2012).

### **2.5.2 Asymptomatický (doutnající) myelom**

Asymptomatický myelom je známý spíše jako „doutnající“ myelom a vyznačuje se přítomností monoklonálního imunoglobulinu v séru a/nebo v moči, dále vyšším výskytem plazmocyty v kostní dřeni ( $\geq 10$  %). Od mnohočetného myelomu ho odlišuje nepřítomnost známek orgánového a kostního postižení (Faber, 2012).

### **2.5.3 Mnohočetný myelom**

Pro mnohočetný myelom je charakteristická přítomnost monoklonálního imunoglobulinu v séru a/nebo v moči. Klasickou elektroforézou či imunofixací lze nalézt kompletní molekuly monoklonálního imunoglobulinu. Asi ve 14 % můžeme nalézt lehké řetězce imunoglobulinů pomocí vyšetření volných lehkých řetězců metodou Freelite (Szeligová et al., 2017).

#### **2.5.4 Waldenströмова makroglobulinémie (lymfoplazmocyární lymfom)**

Waldenströмова makroglobulinémie je klonální a relativně vzácné onemocnění. Mezi typické příznaky se řadí infiltrace kostní dřeni lymfoplazmocyárními buňkami a zvýšené množství monoklonálního imunoglobulinu typu IgM v periferní krvi. (Faber, Hájek, 2019). Stejně jako u doutnajícího myelomu zde není přítomnost kostního poškození (Faber, 2012).

#### **2.5.5 Plazmocelulární leukémie**

Plazmocelulární leukémie se řadí mezi vysoce agresivní, avšak vzácné onemocnění, které je charakterizováno zmnožením plazmocytů v periferní krvi ( $> 20 \%$  a zároveň  $> 2 \times 10^9/L$ ) (Kačírková, Campr, 2007). Plazmocelulární leukémii dělíme na primární, objevující se „de novo“ a sekundární, která se vyskytuje jako terminální stadium mnohočetného myelomu. Jedná se o onemocnění s agresivním průběhem a s velmi krátkou dobou přežití (Jelínek, Plonková, Hájek, 2013).

### **2.6 Symptomatický mnohočetný myelom**

Mnohočetný myelom (dále jen MM) je maligní proliferace B-lymfocytů, resp. plazmocytů v kostní dřeni, které produkují monoklonální imunoglobulin nebo jeho strukturálních komponenty, tj. lehké řetězce  $\kappa$  a/nebo  $\lambda$ , které jsou prokazatelné v séru nebo v moči (Faber, 2012).

#### **2.6.1 Historie**

K prvnímu popisu MM došlo v roce 1844, kdy byl publikován případ Sarah Newbury (39 let), u které se před smrtí objevila silná bolest a slabost v oblasti zad. Po čase došlo k mnohočetným spontánním zlomeninám humeru, femurů, radia a ulny. Po pitvě byla prokázána destrukce sternu a femurů gelatinózní hmotou. Ta obsahovala oválné buňky s jasným centrálním jádrem. Známějším případem jsou zprávy od Dr. Henry Bence Jonese, který v roce 1845 získal vzorek moči londýnského obchodníka T. A. McBeana. V moči byl nalezen specifický nález. Moč měla vysokou hustotu a kyselou reakci, při zahřátí došlo k neprůhlednosti, po přidání  $HNO_3$  k precipitaci, po zahřátí došlo v moči k rozpuštění sraženiny, po ochlazení opět k precipitaci. Jednalo se o úplně první popis proteinurie u MM. Od té doby je nález M-proteinu v moči označován jako Bence-Jonesova bílkovina (Špička et al., 2005).

V roce 1873 byl poprvé použit termín „mnohočetný myelom“ panem von Rustizkym, který popsal i vzhled myelomových buněk (Adam et al., 1993).

Roku 1889 profesor Otto Kahler popsal základní příznaky tohoto onemocnění – kostní a renální poškození, opakované infekce, anémii i krvácivé projevy (Adam et al., 1993). Proto byl v minulosti mnohčetný myelom také nazýván Kahlerova choroba.

### **2.6.2 Epidemiologie**

MM je po non-Hodgkinských lymfomech druhou nejčastější hematoonkologickou malignitou. Celkem tvoří cca 1 % všech malignit a až 15 % všech hematologických onemocnění. V kavkazské populaci je incidence 4 – 5 nových nemocných na 100 000 obyvatel. Jedná se o nemoc především starších lidí ve věku 75 – 79 let. Vzácně se MM vyskytuje u mladých lidí ve věku od 20 – 40 let (Šálek, 2008).

### **2.6.3 Etiologie**

Příčinu vzniku MM nelze zcela určit a stejně jako u většiny hematologických onemocnění je prvotní příčina neznámá. Na vysokém riziku vzniku onemocnění se nejspíše podílejí genetické vlivy, ale i vnější faktory a vlivy ionizujícího záření (Pecka, 2006).

### **2.6.4 Klinické příznaky**

Základní rysy MM:

- infiltrace kostní dřeně plazmatickými buňkami;
- produkce monoklonálního imunoglobulinu (paraprotein, M-komponenta);
- kostní postižení (Špička, 2005).

Vzestup nádorové masy buněk nad  $2 - 5 \times 10^{11}$  vede ke klinickým projevům nemoci. Ve většině počátečních fází onemocnění je růst nádorových buněk velmi nízký, tzn., že plně symptomatické onemocnění předchází bezpříznakové období, které trvá od několika měsíců až po mnoho let (Špička, 2005).

Ke stanovení diagnózy vede vyšetření pro klinické obtíže pacientů. Pokud pacienta tíží klinické problémy, nemoc již postihuje různé orgány a systémy – proto bývají velmi často symptomy MM variabilní (Špička, 2005).

Bolest kostí se řadí mezi jeden z hlavních znaků myelomu. Pro toto onemocnění je typická vleklá bolest zad či hrudníku. Bolest kostí končetin nebývá popisována příliš často. Bolest není přítomna v nočních hodinách, což myelom odlišuje od metastatického poškození kostí u solidních nádorů. V některých případech pacienti popisují náhlou a prudkou bolest způsobenou patologickou zlomeninou (zlomeniny žeber a dlouhých kostí). Pro MM bývá typické zmenšování postavy. Pacienti mohou během nemoci ztratit i několik centimetrů výšky z důvodu fraktur obratlů. Časté opakované infekce patří k dalším znakům. Jedná se nejčastěji o bakteriální infekce. Slabost a únava je způsobena anémií, způsobenou infiltrací kostní dřeně nádorovými plazmocytami s následným útlumem fyziologické krevetvorby. U méně než 10 % pacientů jsou přítomny projevy hyperviskózního syndromu, kam patří poruchy vizu, poruchy vědomí, bolesti hlavy a kardiální insuficience (Špička, 2005).

Všechny výše uvedené klinické příznaky se dají shrnout do akronymu CRAB, který vyjadřuje:

- **C** – Calcium elevation (hyperkalcémie);
- **R** – Renal insufficiency (poškození funkce ledvin);
- **A** – Anaemia (anémie/pancytopenie);
- **B** – Bone disease (myelomové kostní poškození) (Faber, 2012).

### **2.6.5 Diagnostická kritéria**

V běžné diagnostické praxi mohou být ještě někde využívána diagnostická kritéria dle Salmona a Durie (tab. 1). V současné době je platná aktualizace původních kritérií dle IMWG.

Tabulka 1 Diagnostická kritéria dle Salmona a Durie

Velká kritéria	Malá kritéria
Histologie tkáně – plazmocytom.	10 - 30 % plazmatických buněk v KD.
Počet plazmatických buněk $\geq 30$ % v KD.	Koncentrace paraproteinu nižší než ve velkých kritériích.
Koncentrace paraproteinu: • IgG více než 35 g/L; • IgA více než 20 g/L. Množství řetězců v moči více než 1 g/24 hodin.	Pokles fyziologických imunoglobulinů: • IgM pod 0,5 g/L; • IgA pod 1,0 g/L; • IgG pod 6,0 g/L.
	Přítomna osteolytická ložiska.
Jistá diagnóza mnohočetný myelom = 1 velké + 1 malé kritérium nebo minimálně 3 malá kritéria.	

Zdroj: Maisnar, Hájek, 2008 (Upraveno)

K určení přesné diagnózy MM v současné době slouží revidovaná IMWG kritéria (tab. 2). Diagnóza symptomatického či rozvinutého MM vychází z průkazu přítomnosti  $\geq 10$  % monoklonálních plazmatických buněk v KD a pozitivitu, tj přítomnosti  $\geq 1$  orgánové dysfunkce (Ščudla et al., 2017).

Tabulka 2 Revidovaná IMWG (International Myeloma Working Group) kritéria

<b>Musí být splněna obě níže uvedená kritéria:</b>
<b>A) Klonální plazmatické buňky <math>\geq 10</math> % v KD nebo bioptický průkaz kostního/mimodřeňového plazmocytomu.</b>
<b>B) Přítomnost <math>\geq 1</math> z následujících příhod definujících myelom:</b>
<b>a) Laboratorní známky orgánového poškození:</b>
• hyperkalcémie: S-Ca $> 0,25$ mmol/L nad horní normální mez nebo $> 2,75$ mmol/L;
• renální insuficience: clearance kreatininu $< 40$ mL/min nebo S-kreatinin $> 177$ $\mu$ mol/L;
• anémie: Hb snížen o $\geq 20$ g/L nebo $< 100$ g/L;
• osteolytické léze: $\geq 1$ osteolytických lézí zobrazené CT nebo PET/CT.
<b>b) Přítomnost <math>\geq 60</math> % klonálních plazmatických buněk v KD.</b>
<b>c) FLC-r <math>\geq 100</math>, dominantní FLC <math>\geq 100</math> mg/L.</b>
<b>d) <math>&gt; 1</math> fokálních lézí zjištěná při MRI (<math>\geq 5</math> mm).</b>

Zdroj: Rajkumar, 2016 (Upraveno)

### 2.6.6 Klinická stádia

Výše zmíněná diagnostická kritéria dle Salmona a Durie z r. 1975 rozlišují onemocnění na 3 stádia (tab. 3), která odrážejí klinické a laboratorní postižení.



Jako prognostický faktor má význam subklasifikace (A, B) dle hodnoty renálních testů (Maisnar, Hájek, 2008).

*Tabulka 3 Klinická stádia dle Salmona a Durie*

<b>Stádium I.</b>	<p>Jsou splněny všechny podmínky uvedené níže:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hb &gt; 100 g/L;</li> <li>• Ca &lt; 3 mmol/L.</li> </ul> <p>Normální kostní struktura/solitární kostní ložisko. Nízká koncentrace monoklonálního imunoglobulinu:</p> <p>a) M-IgG &lt; 50 g/L; b) M-IgA &lt; 30 g/L; c) exkrece lehkých řetězců v moči &lt; 4 g/24 hodin.</p>
<b>Stádium II.</b>	Nejsou splněny podmínky uvedené u stádia I. a III.
<b>Stádium III.</b>	<p>Je splněna alespoň jedna podmínka z níže uvedených:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hb &lt; 85 g/L;</li> <li>• Ca &gt; 3 mmol/L.</li> </ul> <p>Pokročilé postižení skeletu s osteolytickými ložisky/zlomeninami. Vysoké koncentrace monoklonálního imunoglobulinu:</p> <p>a) M-IgG &lt; 70g/L; b) M-IgA &lt; 50 g/L; c) exkrece lehkých řetězců v moči 12 g/24 hodin.</p>

*Zdroj: Maisnar, Hájek, 2008 (Upraveno)*

## **2.7 Laboratorní diagnostika**

Laboratorní diagnostika myelomu zahrnuje jak vyšetření hematologická, tak biochemická, imunologická, imunohistochemická a genetická (tab. 4).

Tabulka 4 Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu

Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu	
<b>Hematologické vyšetření</b>	Krevní obraz
	Diferenciální rozpočet leukocytů
	Cytologické vyšetření kostní dřeně
<b>Biochemické vyšetření</b>	Elektroforéza sérových bílkovin
	Imunofixace krevního séra
	Vyšetření volných lehkých řetězců v séru
	Bence-Jonesova bílkovina v moči
	Stanovení vápenatých iontů
	Renální testy (urea, kreatinin, urikémie)
	Stanovení $\beta_2$ -mikroglobulinu
<b>Imunologické vyšetření</b>	Stanovení imunoglobulinů
	Průtoková cytometrie plazmocytů KD a PK
<b>Genetické vyšetření</b>	G-pruhování
	Fluorescenční in situ hybridizace (FISH)
	clg- FISH
	MACS
<b>Histologické vyšetření</b>	Imunohistochemické barvení KD

Zdroj: Vlastní

### 2.7.1 Hematologické vyšetření

#### Vyšetření krevního obrazu

Krevní obraz (KO) patří mezi základní laboratorní vyšetření pro diagnostiku a sledování průběhu léčby řady hematologických i nehematologických onemocnění. KO obsahuje komplexní soubor parametrů, které spolu souvisí a není možné žádnou hodnotu interpretovat bez návaznosti na ostatní parametry. Při vyšetření KO je potřeba znát důvody, proč vyšetření požadovat. K získání co nejpřesnějších údajů je třeba, aby laboratoř respektovala zásady vyšetření, zohledňovala výsledky předchozích vyšetření a přihlížela k dalším souvisejícím informacím pacienta (léčba, věk, pohlaví, diagnóza). Vyšetření KO provádíme z nesrážlivé krve (zkumavka s fialovým víčkem) a jako protisrážlivé činidlo se standardně využívá  $K_3EDTA$ ,  $K_2EDTA$  či  $Na_2EDTA$ . Vyšetření se v současné době provádí na plně automatických nebo poloautomatických

hematologických analyzátoch, ktoré se liší používanými technológiami, ale i počtom vydávaných parametrov. (Penka et al., 2011).

Na počátku onemocnění proliferují klonální plazmocyty pouze v kostní dřeni. Čím více plazmocyty se nachází ve dřeni, tím méně prostoru zbývá pro fyziologické krevní buňky – míra nedostatku ostatních krvinek odráží aktivitu tohoto onemocnění. Na počátku klesá počet erytrocytů (anemie) (Adam, Maisnar, 2009). U MM může být normochromní, normocytární nebo makrocytární anemie. Bývá přítomna retikulocytopenie, což je známka nedostatečnosti kostní dřene. V průběhu onemocnění může dojít k poklesu leukocytů a později i trombocytů (pancytopenie). Snížení počtu krvinek v krevním oběhu vede k typickým klinickým příznakům myelomu (Pecka, 2006).

### **Hodnocení nátěru periferní krve**

Pro morfologické hodnocení buněk je důležitý perfektně zhotovený preparát, záleží také na správném obarvení (Mikulenkova, 2021). Malou kapku periferní krve umístíme na podložní sklo kousek od úzké hrany skla. Roztěrové sklíčko posouváme pod určitým úhlem ke kapce krve, která se rozprostře po celé jeho délce. Nakonec rovnoměrným a rychlým tahem po podložním skle kapku krve rozetřeme. Hotové nátěry musíme nechat dostatečně zaschnout. Zaschlé preparáty nejčastěji fixujeme roztokem May-Günwald, poté se provede barvení roztokem Giemsa-Romanovski, nakonec nátěry oplachujeme vodou (Penka et al., 2011).

Diferenciální rozpočet leukocytů obvykle provádíme při zvětšení 1000x a vybíráme si místo v nátěru, ve kterém jsou buňky rovnoměrně rozprostřeny a kde se erytrocyty nepřekrývají. Pod mikroskopem hodnotíme 100 leukocytů, při některých patologických stavech je žádoucí hodnotit 200 a více elementů. Zkoumání morfologických změn provádíme po shlédnutí celého nátěru (Penka et al., 2011).

V krevním nátěru u MM obvykle nacházíme penízkovatění erytrocytů („rouleaux“). Díky přítomnosti paraproteinu je patrné bazofilně zbarvené pozadí nátěru. V některých případech nacházíme i typické plazmatické buňky (Pecka, 2006).

### **Morfologické hodnocení cytologie kostní dřene**

Odběr aspirátu kostní dřene pro cytologické hodnocení provádí lékař speciální punkční dutou jehlou z hrudní kosti (sternální punkce) nebo z lopaty kosti kyčelní

(trepanobiopsie). První porce aspirované dřeně, obsahující částice, lékař neprodleně nanese na podložní sklo a laborant co nejrychleji provede roztěr. Dle doporučení je žádoucí provést alespoň 6 nátěrů. Dle množství částic a tukových ložisek necháme nátěry alespoň 30 minut zaschnout při laboratorní teplotě. Následně provedeme barvení dle May-Grünwalda a Giemsy Romanovského (Mikulenková, 2016).

Při hodnocení myelogramu kostní dřeně zjišťujeme rozpočet jednotlivých buněk. K hodnocení nátěru si vybíráme tu část, ve které jsou buňky rovnoměrně zastoupeny. U vstupního vyšetření se obecně doporučuje prohlédnout a spočítat 500 jaderných buněk. U kostních dření, které jsou kontrolní nebo hypocelulární stačí spočítat 250 – 300 jaderných buněk. Nátěr hodnotíme meandrovitým pohybem objektivu od jednoho kraje skla k druhému (Bulíková, Mikulenková, 2017).

V případě MM se v kostní dřeni vyskytuje proměnlivý počet difúzně rozprostřených plazmatických buněk s různou mírou vyzrávání a pestrá morfologií. Většina pacientů s MM má v období diagnózy v kostní dřeni > 10 % plazmocytů. V případě bioptického zastižení myelomového ložiska, můžeme v nátěru objevit i více než 90 % plazmocytů, které zcela vytěsňují elementy fyziologické krevetvorby. Je nutné vyzdvihnout, že kvůli ložiskovému charakteru postižení kostní dřeně může být vyšetření falešně negativní (Ščudla, 2006).

### **2.7.2 Biochemické vyšetření**

#### **Stanovení $\beta_2$ -mikroglobulinu**

Plazmatický  $\beta_2$ -mikroglobulin (dále jen B2M) je výsledným produktem lymfoidních a myeloidních buněk. Tento protein se dá využít jako tumorový marker, který odráží proliferaci buněk. Prochází zdravým glomerulem a v moči jeho hladina roste při poškození tubulárních buněk, hladina v séru stoupá při poklesu glomerulární filtrace.

U nádorů odvozených od lymfocytů nebo plazmatických buněk nacházíme v séru jeho zvýšenou koncentraci. B2M je přímo tvořen nádorovými buňkami a je vhodný ke sledování průběhu a účinku léčby. Pacienti s MM, kteří mají zvýšenou koncentraci B2M mívají kratší dobu přežití než pacienti s normální hladinou této bílkoviny. B2M je zdravým glomerulem aktivně filtrován do moči, odkud je relativně kompletně vstřebán buňkami proximálního tubulu (Racek, 2006).

## **Stanovení vápenatých iontů**

MM je častou příčinou zvýšení vápenatých iontů v séru (hyperkalcémie), ale ne jedinou nemocí, která hyperkalcémii zapříčiňuje. K hyperkalcémii může dojít až po dlouhodobém normokalcemickém průběhu maligního onemocnění, pak hyperkalcémie signalizuje přeměnu do agresivnější formy choroby a tím i špatnou prognózu. Někdy může být přítomna zmatenost, což je jeden ze symptomů hyperkalcémie. U MM myelomové buňky infiltrují skelet a indukují jeho osteolýzu, a tím zvyšují hladinu vápníku v krvi (Adam et al., 2018).

V současnosti se měří hladina vápníku na automatických analyzátoch, které pracují na principu fotometrie, kdy různé komplexotvorné látky (o-kresoftaleinkomplexon, arsenazo III) a další metalochromní indikátory, vytváří s vápníkem komplexy, které jsou vhodné k fotometrickému stanovení (Nezbeda, 2018).

## **Stanovení hladiny močoviny**

Močovina se na našem ústavu stanovuje spektrofotometricky, kineticky nebo UV enzymovou metodou na přístroji Roche c702 (Rajdl, 2022, online).

Močovina (urea) jako konečný metabolit dusíku z AMK, je tvořena v játrech a vylučována ledvinami. Vysokou koncentraci v P/S pozorujeme u akutního či chronického selhání ledvin (Rajdl, 2022, online).

## **Stanovení kreatininu**

Stanovení kreatininu v séru nebo v plazmě se provádí metodou spektrofotometrie na přístroji Roche c702 (Rajdl, 2024, online).

Kreatinin vzniká z kreatinfosfátu a kreatinu ve svalech. Kreatinin jako nízkomolekulární látka je volně filtrována ledvinami – její sérová hladina je využívána k odhadu glomerulární filtrace (Rajdl, 2024, online).

## **Stanovení kyseliny močové**

Kyselina močová je konečným produktem metabolismu purinů (NK). Hyperurikémii (zvýšená hladina kyseliny močové) nacházíme při sníženém vylučování (selhání ledvin), při zvýšeném odbourávání NK (po plazmocytomu) a při zvýšeném příjmu purinů. Stanovuje se spektrofotometricky na přístroji Roche702 (Šolcová, 2024, online).

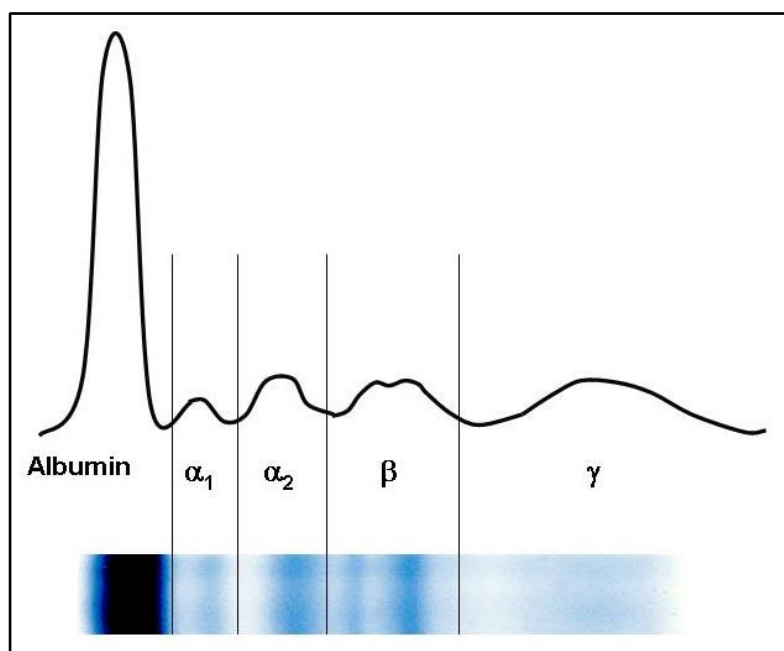
## Elektroforéza bílkovin (ELFO)

Řadí se mezi nejlepší laboratorní screeningové metody k průkazu paraproteinu. Jedná se o dostatečně citlivou, rychlou a levnou metodu (Tichý, Maisnar, 2006). Elektroforéza sérových bílkovin vychází z jejich fyzikálně-chemických vlastností. Bílkoviny jsou látky s charakterem amfolytů a při pH 8 – 9 v elektrickém poli směřují k anodě. ELFO se provádí na gelových nosičích sestavených z agarózového gelu nebo z gelu acetylované celulózy v alkalickém prostředí. V laboratorní praxi se uplatňují multikapilární elektroforetické přístroje. Výsledkem elektroforézy je rozdělení bílkovin krevního séra na 5 – 6 frakcí (obr. 3) (Beránek, Tichý, 2013).

V elektroforetickém obraze se paraprotein vyskytuje mezi gamaglobuliny až  $\alpha$ -2 globuliny a může se projevit jako ostrý M-gradient. V některých případech má charakter široké difúzní zóny nebo může splývat se zónou betaglobulinů – tyto frakce jsou běžnou elektroforézou obtížně odhalitelné. Jsou-li přítomny jen lehké řetězce kappa nebo lambda, M-gradient nemusí být ve výsledku elektroforézy přítomen (Tichý, Maisnar, 2006).

Kvantitativní stanovení hladiny paraproteinu se provádí denzitometrickou analýzou elektroforézy v agarózovém gelu. Následuje výpočet kvantity paraproteinu z hodnoty celkové bílkoviny (Tichý, Maisnar, 2006).

Na ústavu klinické biochemie a hematologie ve FN Plzeň se samotná elektroforéza bílkovin provádí na poloautomatickém přístroji Hydrasys 2<sup>scan</sup> od firmy Sebia (příloha 2)



Obrázek 3 Elektroforeogram – fyziologický nález (Zdroj: Čermáková, 2014, upraveno)

## **Imunofixace krevního séra**

Tipizace složení monoklonálního paraproteinu (určení třídy těžkých a lehkých řetězců). Imunofixace má hlavní význam v diagnostice MM a ostatních monoklonálních gamapatií. Toto vyšetření se provádí v séru, ale i v moči pro potvrzení výskytu VLŘ v moči (Bence Jonesova bílkovina) (Vostrý, 2024, online).

V biochemické laboratoři ÚKBH se vyšetření provádí na přístroji Hydrasys 2<sup>SCAN</sup> od firmy Sebia.

## **Bence Jonesova bílkovina v moči**

Jako Bence Jonesova bílkovina je označován paraprotein, který je tvořen lehkými řetězci monoklonálního imunoglobulinu. Může způsobit vážné poškození ledvin, jelikož krystaly tohoto proteinu se usazují v ledvinných tubulech (Vokurka et al., 2007).

## **Vyšetření volných lehkých řetězců v séru**

U řady nemocných bývá metodou volby kvantitativní stanovení volných lehkých řetězců imunoglobulinů (FLC) v séru při diagnostice monoklonálních gamapatií. Jeden z prvních projevů bývá patologický poměr  $\kappa/\lambda$  v séru. Patologický poměr může nastat i při fyziologické hladině koncentrací FLC. V ojedinělých případech nemusí být při imunofixaci séra patrný monoklonální gradient, koncentrace FLC může být mírně zvýšená, ale je přítomen patologický poměr  $\kappa/\lambda$ . Jedná se o dysregulaci syntézy imunoglobulinů, kterou je nutno sledovat, protože může dojít ke spontánní úpravě nebo k vývoji monoklonální gamapatie (Granátová et al. 2008).

Na ústavu klinické biochemie a hematologie FN Plzeň se vyšetření volných lehkých řetězců provádí metodou Freelite od firmy The Binding Site (součást Thermo Fisher) na automatickém analyzátoru Optilite (příloha 3).

### **2.7.3 Imunologické vyšetření**

#### **Stanovení imunoglobulinů**

Stanovení imunoglobulinů se nejčastěji provádí metodou nefelometrie nebo turbidimetrie na automatických analyzátorech.

## **Průtoková cytometrie plazmocytů (FACS/FC) KD ev. PK**

Průtoková cytometrie plazmocytů (Flow Cytometry, FC) se v dnešní době řadí mezi moderní metodu, která poskytuje přesné informace o analyzovaných buňkách. V rámci monoklonálních gamapatií a tedy i MM slouží ke stanovení počtu a fenotypu populací plazmatických buněk. Informace o plazmatických buňkách jsou důležité jak v době stanovení diagnózy, tak v období progresu/relapsu onemocnění a v neposlední řadě i po prodělané léčbě (Říhová, 2013).

Všechny plazmocyty exprimují na svém povrchu znaky CD38 a CD138. Pro ujasnění typu buněk je potřeba provést stanovení dalších znaků, aby mohly být odlišeny normální plazmocyty od klonálních plazmocytů (Říhová, 2013). Zdravé plazmatické buňky jsou CD19+CD56- a zralé myelomové buňky naopak CD19-CD56+ (Kovářová, 2008).

Největší výhodou FC je jednoznačné určení typu plazmatických buněk – zda jsou buňky normální či klonální a velký prognostický význam (Paiva et al., 2009).

Některé zahraniční studie ukazují, že kvantifikace plazmatických buněk KD pomocí multiparametrické průtokové cytometrie v době diagnózy, poskytuje prognostické informace. Přestože průtoková cytometrie obecně poskytuje nižší počet plazmatických buněk oproti konvenční morfologii, existuje mezi oběma metodami význaná pozitivní korelace. Počet plazmatických buněk získaných multiparametrickou průtokovou cytometrií řadíme mezi nezávislý prognostický faktor pro celkové přežití pacientů. Tento fakt začleňuje imunofenotypizaci průtokovou cytometrií do rutinního diagnostického hodnocení pacientů s MM (Paiva et al., 2009).

### **2.7.4 Genetické vyšetření**

#### **G-pruhování**

Mezi důležitý krok k vizualizaci a následné identifikaci chromozomů řadíme barvení chromozomů. Pomocí G-pruhování (G-banding) lze chromozomy rozdělit do skupin a vzájemně odlišit. Metoda sestává z působení trypsinu a následného obarvení roztokem Giemsa. Výsledkem jsou na chromozomu viditelné světlé a tmavé pruhy. Každý jednotlivý pruh má číslo, kterým popisujeme strukturální změny. K vyhodnocení výsledku využíváme počítačovou techniku, která umožňuje vizualizovat obarvené chromozomy (Kočárek et al., 2010).



G-pruhování se řadí mezi základní techniky cytogenetického vyšetření u MM, kdy výchozím materiálem je krátkodobě kultivovaná KD. Vzhledem k nízké infiltraci KD a k ložiskovému charakteru nemoci, řadíme cytogenetickou diagnostiku k poměrně složitým vyšetřením. Při cytogenetické analýze se klonální chromozové aberace vyskytují jen asi u 20 – 30 % pacientů s MM (Kuglík et al., 2006).

### **Fluorescenční in situ hybridizace (FISH)**

Metoda FISH využívá k detekci chromozových změn specifické DNA sondy a je schopna vazby jednořetězcové DNA s komplementárními úseky cílové DNA – ta je fixována na mikroskopickém preparátu (Kuglík et al., 2006).

V současnosti se využívají DNA sondy značené fluorescenčním barvivem, poté je možné preparáty pozorovat ve fluorescenčním mikroskopu. V dnešní době jsou k dispozici široká spektra DNA sond, které jsou speciálně určeny pro vyšetřování chromozových abnormalit u nemocných s MM (Kuglík et al., 2006).

U pacientů s MM se k vyššímu záchytu aberací využívá selektivní imunofluorescenční značení maligních plazmocytů v KD pomocí monoklonálních protilátek proti lambda a kappa řetězcům imunoglobulinů (cIg-FISH), nebo se může využít molekulárně cytogenetické vyšetření plazmocytů získaných magneticky aktivovanou separací buněk (MACS) (Kuglík et al., 2006).

Nejčastějším genetickým nálezem u pacientů s MM jsou pouze početní odchylky chromozomů (aneuploidie), které se vyskytují u 2/3 pacientů. Mezi nejčastější strukturní přestavbu u MM je chromozová translokace, který zahrnuje lokus pro těžký řetězec imunoglobulinu na 14. chromozomu (Kuglík et al., 2006).

#### **2.7.5 Histologické vyšetření**

Histologické vyšetření kostní dřeně poskytuje řadu informací. Imunohistochemické barvení nám umožňuje dobře identifikovat plazmocyty a stanovit kvantitativně, event. semikvantitativně jejich počet. Dále nám umožňuje stanovit podle exprese kappa a lambda řetězců klonalitu plazmatických buněk. Histolog může posoudit maligní infiltraci podle distribuce plazmatických buněk ve struktuře kostní dřeně. Histologické vyšetření velmi dobře odlišuje reaktivní plazmocytózu s polyklonálním zmnožením plazmatických buněk od klonální proliferace. (Adam et al., 2008).

## **2.8 Ostatní vyšetřovací metody**

Diagnostika mimo laboratoř sestává ze zobrazovacích metod, kam řadíme RTG, Low dose CT skeletu, PET/CT a MR skeletu. Zobrazovací metody využíváme ke znázornění případných osteolytických ložisek v kostní tkáni. Jednotlivé metody a jejich významy v diagnostice MM jsou popsány v následujících podkapitolách.

Zobrazovací metody zůstávají stále nejrozšířenějším způsobem určení míry poškození skeletu jak v rámci diagnostiky MM, tak pro stanovení klinického stádia a hodnocení vývoje tohoto onemocnění (Bačovský, Ščudla, 2004).

### **2.8.1 RTG snímky skeletu**

Při podezření na MM je nejprve snímkována bolestivá oblast. Pokud vznikne podezření, že by obtíže pacienta mohly souviset s MM je žádoucí indikovat zobrazení MR metodou nebo CT (Adam et al., 2008).

V současné době se screeningové snímky skeletu již nepoužívají, byly zcela nahrazeny zobrazovacími metodami, které jsou uvedeny níže.

### **2.8.2 Zobrazení skeletu metodou MR**

Magnetickou rezonanci (dále jen MR) řadíme mezi zobrazovací metodu stanovující časný rozsah onemocnění. Na MR je možno odlišit patologickou infiltraci KD od fyziologické KD dřívě, než vznikne vážnější poškození kostní struktury (Adam et al., 2008).

Při vyšetření MR jsme schopni rozlišit tři typy poškození KD myelomem. První a nejčastější nález nazýváme fokální typ, kdy jsou přítomny ložiskové léze. Druhý typ je difuzní, kdy je KD kompletně nahrazena myelomovou tkání – tento typ bývá méně častý. Posledním typem je pestrý obraz infiltrace dřevě podmíněný přítomností mnohočetných nádorových ložisek, tzv. nehomogenní pestrý typ (Bačovský, Ščudla, 2004).

K nevýhodám MR náleží celkově malá specifita. Neumožňuje odlišení myelomového poškození od ostatních infiltrativních procesů jiné etiologie. (Bačovský, Ščudla, 2004).

### **2.8.3 Klasické CT skeletu**

Klasické vyšetření pomocí výpočetní tomografie (dále jen CT) je citlivější než snímkování skeletu za použití RTG. Tato zobrazovací technika přesně zobrazuje mineralizaci kostí a je tak schopna detekovat i malá osteolytická ložiska. Při bolestivosti kostí, které nejsou na RTG snímcích dostatečně přehledné (lopatky, žebra, hrudní kost), je vhodné využít CT (Szeligová et al., 2017).

### **2.8.4 Low dose CT skeletu**

Celotělové CT s nízkou dávkou (WBLD-CT) se řadí mezi metody s difúzní územní dostupností, rychlým časem pořízení snímků, nízkou radiační zátěží a nízkými náklady. Celotělové CT vyšetření s nízkou dávkou se provádí bez přípravy a bez kontrastní látky. WBLD-CT slouží k lepšímu posouzení kostního poškození u pacientů s monoklonální plazmocelulární chorobou a v identifikaci osteolytických lézí, které odůvodňují léčbu u jinak asymptomatických pacientů. Tato metoda je rovněž užitečná pro hodnocení komplikací onemocnění (např. patologické zlomeniny) a pro hodnocení odpovědi na léčbu (Pierro, Posa et al., 2021).

### **2.8.5 PET/CT**

PET/CT neboli pozitronová emisní tomografie kombinovaná s výpočetní tomografií se řadí mezi metody důležité k diagnostice, staging, posouzení prognózy a k hodnocení léčebné odpovědi u pacientů s MM. Hybridní výkon PET/CT umožňuje posoudit přítomnost metabolicky aktivních patologických ložisek myelomu, charakter a rozsah postižení. Při posouzení odpovědi na léčbu dokáže sledovat změny metabolické aktivity v čase. Postupem času vyšetření PET/CT prokázal dobrou citlivost v detekci paramedulárních a extramedulárních lézí. K nevýhodě metody patří relativně nižší senzitivita u difúzního poškození páteře a pánve (Havel et al., 2023).

Výstup vyšetření by měl obsahovat posouzení přítomnosti patologických a metabolicky aktivních ložisek, uvedení počtu ložisek a jejich distribuce ve skeletu či mimo skelet. K dalším informacím vystupujícím z vyšetření, se řadí popis lytických ložisek a případných fraktur (Havel et al., 2023).

## 2.9 Léčba

Prognóza MM, jako druhého nejčastějšího hematologického onemocnění, se díky cílené a efektivní léčbě za posledních 20 let výrazně zlepšila. U nově diagnostikovaného myelomu může volba vhodného léčebného režimu zásadně ovlivnit pacientovu prognózu na další léta. Navzory poměrně vysoké účinnosti režimů využívaných v léčbě MM však většina nemocných relabuje a je třeba v léčbě pokračovat (Štork, 2020).

Nově cílená léčba výrazně zlepšila celkovou prognózu u pacientů s diagnostikovaným myelomem de novo, ale i při relapsu choroby. Cílená léčba zahrnuje inhibitory proteasomu, monoklonální protilátky a imunomodulační léky (Štork, 2020).

K dosažení co nejlepších výsledků léčby MM je zapotřebí nejhlubší odpověď na léčbu. K tomuto účelu jsou k dispozici intenzivní léčebné protokoly, v ideálním případě následované autologní transplantací KD. U nově diagnostikovaného myelomu zlepšuje léčebné možnosti tzv. udržovací léčba a monoklonální protilátky (Štork, 2020).

Nejvhodnějším cílem léčby je dosažení a udržení negativity minimální residuální nemoci v KD a to u všech nemocných (Štork, 2020).

### 3 Cíle práce a výzkumné otázky

#### Cíle práce

Cíl č. 1: Přehledně shrnout laboratorní vyšetřovací metody používané, v současné době, k diagnostice MM jako 2. nejčastějšího hematologického onemocnění.

Cíl č. 2: Zmapovat diagnostický postup při prvozáhytu MM na příkladu jednoho konkrétního pacienta.

Cíl č. 3: Poukázat na variabilitu tohoto onemocnění formou tří kazuistik.

Cíl č. 4: Využití dat z vlastního pracoviště ÚKBH FN Plzeň (laboratoř + hematologická ambulance).

#### Výzkumné otázky

Výzkumná otázka č. 1: *Jaké je zastoupení jednotlivých M-proteinů při diagnóze MM za uvedené období (r. 2023)?*

Výzkumná otázka č. 2: *Jaké je zastoupení MM dle pohlaví a věku v našem souboru dat?*

Výzkumná otázka č. 3: *Kolik % nemocných s MGUS spadají do níže rizikové skupiny s dobrou prognózou za uvedené období (r. 2023)?*

Výzkumná otázka č. 4: *Kolik % nemocných s MM má vyšší exces VLŘ s poměrně nízkou hladinou M-proteinu za uvedené období (r. 2023)?*

## **4 Metodika**

### ***4.1 Metodika výzkumného šetření***

K dosažení výsledků výzkumu, ve kterém byly využity data jednotlivých vyšetření z pracoviště, byl použit výzkum technikou retrospektivní analýzy dokumentů z LIS FN Plzeň. Požadovaná data byla následně exportována do MS Excel, kde se pomocí filtrů filtrovaly jednotlivé informace o výsledcích laboratorního vyšetření.

K sepsání jednotlivých kazuistik a kompletní diagnostiky pacienta byl využit kvalitativní výzkum technikou analýzy dokumentů z KIS a LIS FN Plzeň.

Dalším nástrojem, který byl použit k dosažení cílů této práce, byl KIS M4 a LIS Fons Open Lims od firmy STAPRO s. r. o. V těchto informačních systémech byly hledány výsledky klinických a laboratorních vyšetření u 4 pacientů, u kterých byla popisována celková diagnostika a průběh nemoci.

Na výzkumu se podílela i ostatní pracoviště nemocnice, která poskytla některá důležitá data k sepsání kompletní diagnostiky pacienta (HOO, ÚLG). Písemně nebo telefonicky byl osloven lékař příslušného oddělení, který poskytl požadované informace na základě přiloženého povolení sběru informací ve FN Plzeň (Příloha 1).

### ***4.2 Charakteristika výzkumného souboru***

Výzkumný soubor byl tvořen především pacienty FN Plzeň. Jednalo se o pacienty z různých oddělení s diagnózou MM, MGUS i jiných onemocnění, u kterých bylo požadováno laboratorní vyšetření ELFO, hladiny M-proteinu, imunofixace a VLŘ v séru. Celkem se jednalo o více než 40 000 vyšetření, které zahrnovaly jak pozitivní, tak i negativní nálezy. Výzkumné šetření probíhalo za jedno dané období – r. 2023.

## **5 Praktická část**

### **5.1 Diagnostický postup při prvozáchytu MM u konkrétního pacienta**

#### **5.1.1 První návštěva hematologické ambulance ÚKBH FN Plzeň**

##### **Muž , rok narození 1971:**

První hematologické vyšetření 23. 1. 2024.

##### **Anamnéza:**

Pacient trpí ICHS po IM z června roku 2019, má implantovány dva stenty do koronárních tepen. Dále je u pacienta přítomna arteriální hypertenze, dyslipidémie a DM 2. typu. Nekuřák, bez abusu alkoholu v anamnéze.

##### **Subjektivní hodnocení:**

Pacient udává silné bolesti v kříži, zejména vpravo, iradiace směrem nahoru. Problémy s močením a se stolicí nemá.

##### **Objektivní hodnocení:**

Pacient měří 175 cm a váží 71,5 kg. Pohmatem nebyla zjištěna periferní adenomegalie ani hepatosplenomegalie. Dolní končetiny jsou bez otoků.

##### **Resumé:**

V prosinci roku 2023 zjištěna vyšší hladina M-proteinu (29 g/L), lehká normocytární anémie s hemoglobinem 118 g/L. Bolesti zad trvající cca 6 měsíců, přítomné noční pocení a úbytek na váze kolem 10 kg od 11/2023. V zachycených lopátkách kosti kyčelních a sakru jsou přítomny rozsáhlejší osteolytické změny.

V hematologické ambulanci byla provedena sternální punkce. KD byla poslána na speciální vyšetření, které zahrnuje cytologii, cytogenetiku a molekulární genetiku. Z výsledků provedených vyšetření = suspektní mnohočetný myelom IgG lambda - diagnóza C900.

Pacient byl následně objednan do ambulance HOO FN Plzeň na 30. 1. 2024.

### 5.1.2 Vstupní laboratorní vyšetření

Byla indikována následující laboratorní vyšetření:

- krevní obraz + diferenciální rozpočet leukocytů;
- hemokoagulace (APTT, PT, TT, Fbg);
- biochemické metody + speciální biochemické metody (ELFO, VLŘ, B2M);
- moč chemicky + morfologie; Bence- Jonesova bílkovina v moči;
- humorální imunita (IgG, IgA, IgM).

Tabulka 5 Vstupní vyšetření

Metoda	Hodnota	Referenční meze	Jednotka
B-Hb	<b>110</b>	135 - 175	g/L
P/S-Vápník	2,31	2,2 – 2,6	mmol/L
P/S-Albumin	32,1	37 - 52	g/L
P/S-B2M	<b>5,67</b>	0,8 – 2,4	mg/L
S-M-protein	<b>27,9</b>	-	g/L
S-VLŘ lambda	<b>813,2</b>	5,7 – 26,3	mg/L
S-Poměr VLŘ	<b>49,28</b>	-	-
S-IgG	<b>34,60</b>	7 – 16	g/L
S-IgA	<b>0,32</b>	0,7 – 4	g/L
S-IgM	<b>0,26</b>	0,4 – 2,3	g/L

Zdroj: Vlastní

Je přítomna anémie, zvýšený B2M, což je tumorový marker ukazující zvýšenou proliferaci lymfoidních buněk. Dle vyšetření humorální imunity byla zjištěna imunoparéza.

### 5.1.3 Cytologie kostní dřeně

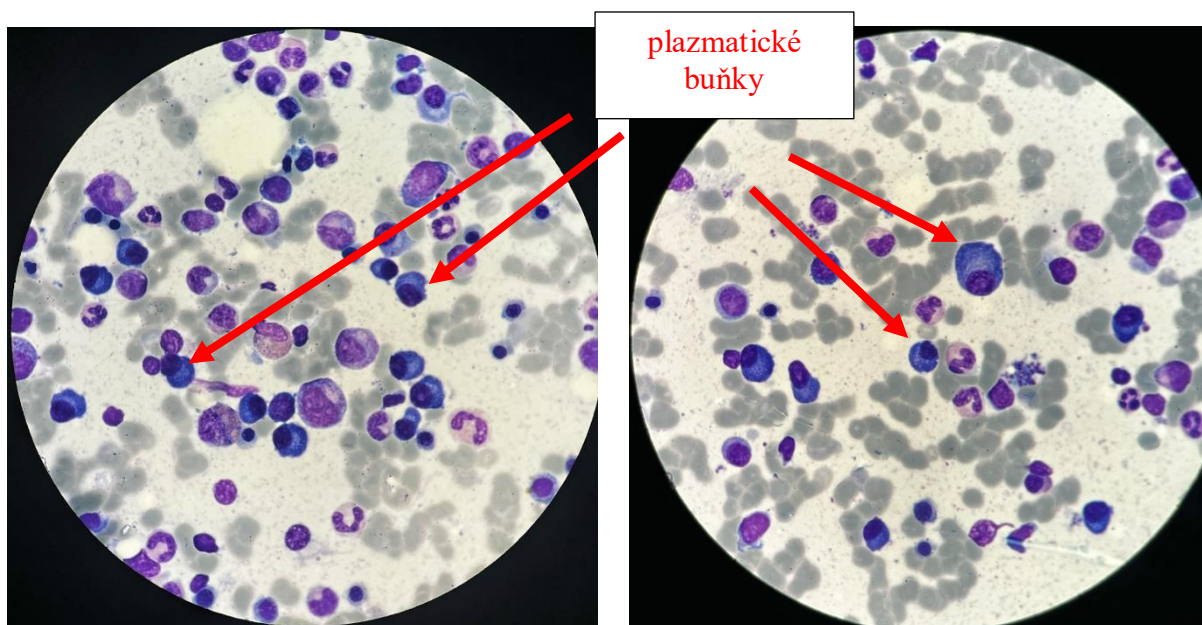
V hematologické laboratoři ÚKBH bylo provedeno cytologické hodnocení odebrané KD (myelogram) s následujícím výsledkem (tab. 6).



Tabulka 6 Myelogram KD

Populace	Hodnota	Referenční meze	Jednotka
BM-Granulopoéza	0,392	0,500 – 0,700	1
BM-Lymfopoéza	0,376		1
a) BM-Lymfocyty	0,136	0,050 – 0,200	1
b) BM-Plazmatické bb.	<b>0,240</b>	0,000 – 0,030	1
BM-Monocytopéza	0,016	0,000 – 0,030	1
BM-Erytropoéza	0,216	0,150 – 0,380	1

Zdroj: Vlastní



Obrázek 4 Plazmatické buňky nalezené v nátěru KD 1  
(Zdroj: Vlastní)

Obrázek 5 Plazmatické buňky nalezené v nátěru KD 2  
(Zdroj: Vlastní)

#### 5.1.4 Průtoková cytometrie (Flowcytometrické vyšetření)

Na hematologickém oddělení bylo provedeno vyšetření aspirátu KD průtokovým cytometrem Cytoflex XL/Navios. Vyšetření se provádí identifikací plazmocytů sekvenčním gatingem pomocí kombinace antigenů CD38, CD138, CD45 a scatter vlastností plazmatických buněk. Dále se stanovuje exprese antigenů na atypických nebo normálních plazmocycitech.

Tabulka 7 FC počet lymfocytů

Lymfocyty		
Vyšetření	Hodnota	Jednotka
Lymfocyty	11	%
CD19	4	%
Kappa/lambda na CD19	1,140	-

Zdroj: Vlastní

Tabulka 8 FC Počet plazmatických buněk

Plazmocyty celkem z leukocytů		
Vyšetření	Hodnota	Jednotka
Plazmocyty celkem	24,000	%
Polyklonální plazmocyty	1,0	%
Klonální plazmocyty	99,0	%
Imunofenotyp	CD138+/38+/19- /56+/81-/27- /117+/lambda	-

Zdroj: Vlastní

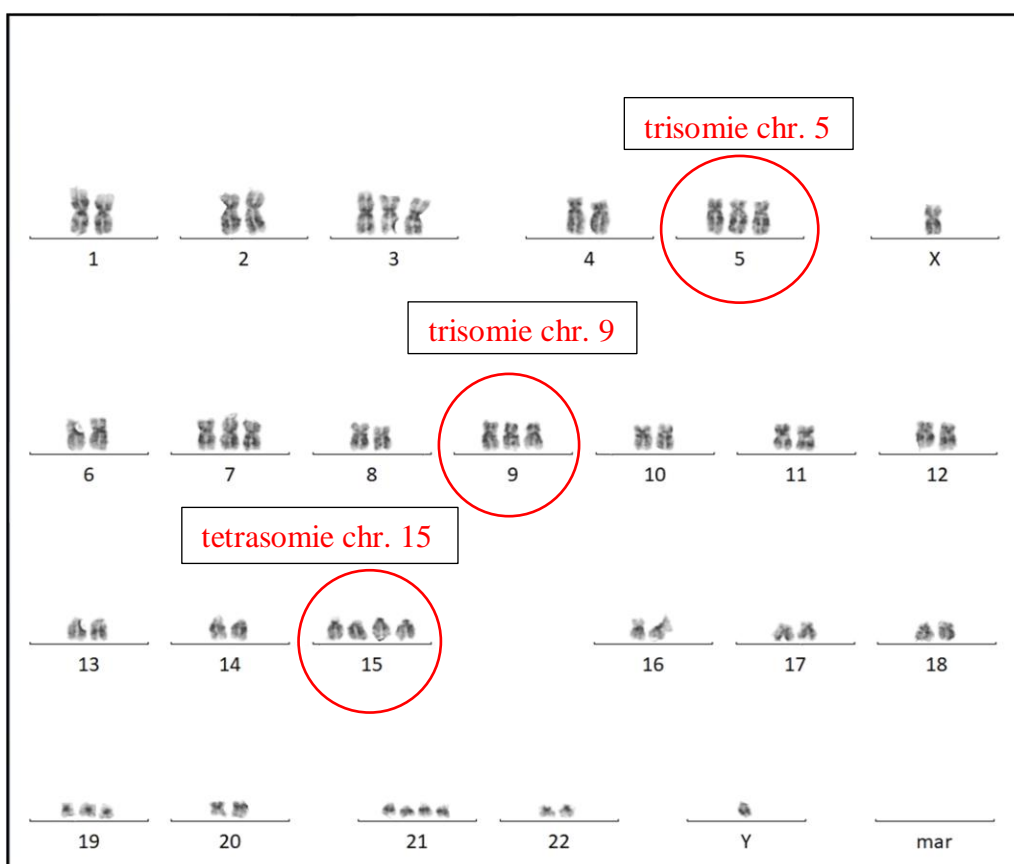
#### **Závěr flowcytometrického vyšetření:**

Flowcytometrické vyšetření prokázalo přítomnost plazmatických buněk s aberantním imunofenotypem a lambda excesem. Nález tedy odpovídá diagnóze mnohočetný myelom. Flowcytometrický nález je zobrazen v příloze 4.

#### **5.1.5 Cytogenetické vyšetření + nádorový karyotyp**

##### **Vyšetření karyotypu:**

G-pruhováním byly nalezeny dvě mitózy s patologickým hyperdiploidním karyotypem, které odpovídají nálezů ve FISH vyšetření. Dalších 20 mitóz mělo normální mužský karyotyp.



Obrázek 6 Výsledek G-pruhování (Zdroj: Vlastní)

### Wyšetření FISH:

Clg FISH byla ve 100 % hodnocených imunoznačených plazmocytech prokázána trisomie chromozomu 5 a 9. V 60 % plazmocyťů byla nalezena trisomie chromozomu 15 a ve 40 % plazmocyťů tetrasomie chromozomu 15 (obr. 6). Ve 20 % hodnocených imunoznačených plazmatických buněk byla pozorována delece genu CDKN2C (1p32).

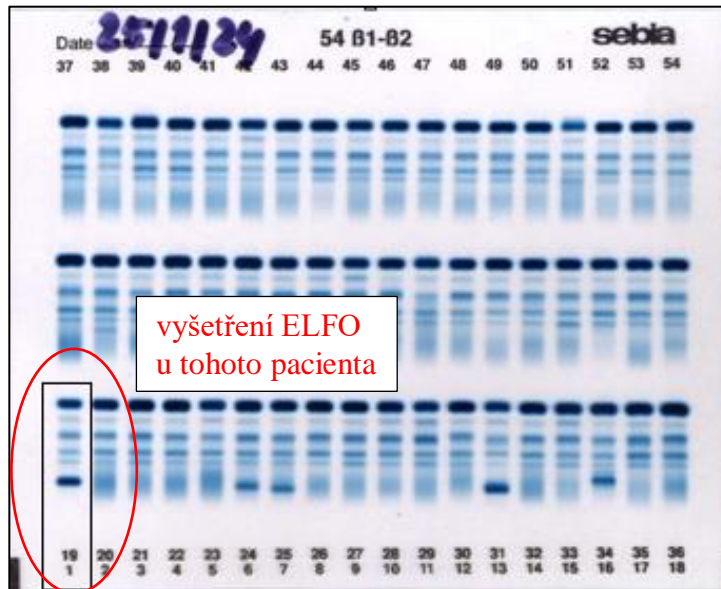
Cytogenetický nález hyperploidního patologického klonu má dobrou prognózu onemocnění, kterou by ovšem mohla zhoršovat delece 1p32 v malém procentuálním zastoupení i patologický nález v G-pruhování.

#### 5.1.6 Biopické vyšetření KD

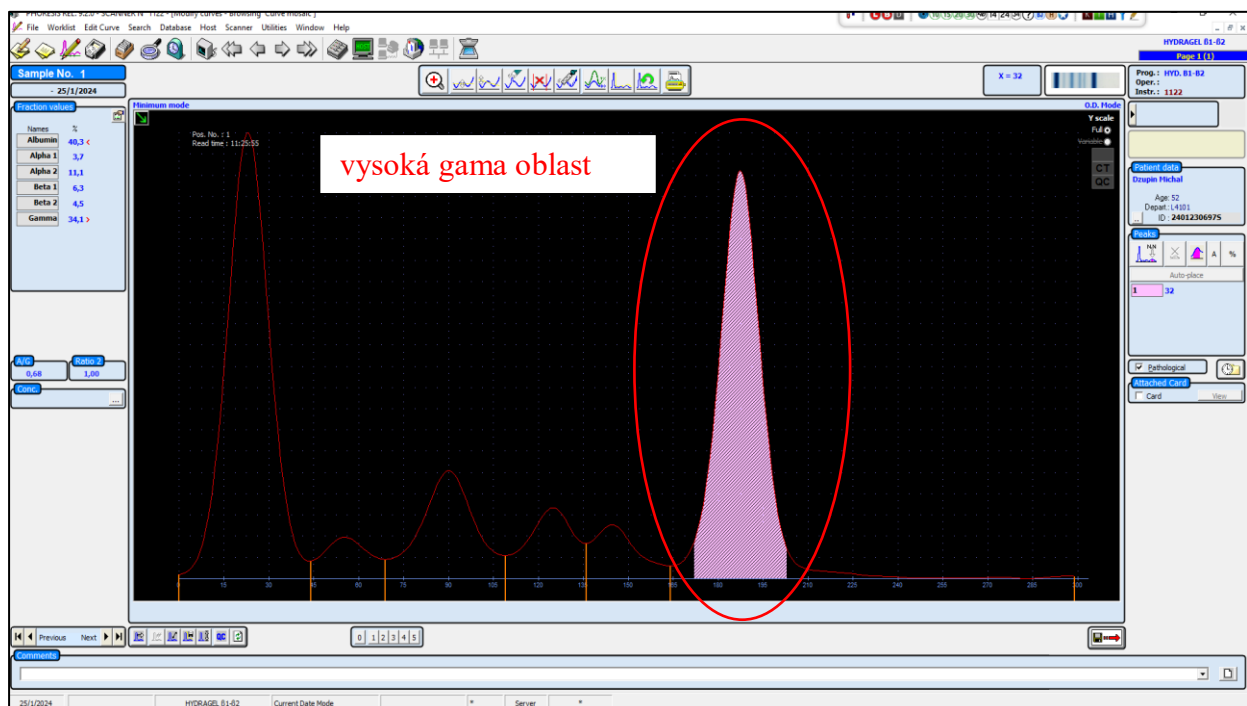
V krevním koagulu byly nalezeny fragmenty kostní dřene solidně intersticiálně infiltrované CD138+ plazmocyty s restrikcí lambda lehkého řetězce imunoglobulinu, představující až 80 % zaslaného objemu kostní dřene.

### 5.1.7 Elektroforetické vyšetření + imunofixace séra

Vyšetření ELFO bílkovin krevního séra bylo provedeno na přístroji Hydrasys 2<sup>SCAN</sup> s výsledkem (obr. 7), následovaným denzitometrickým vyhodnocením (obr. 8).



Obrázek 7 ELFO bílkovin (Zdroj: Vlastní)

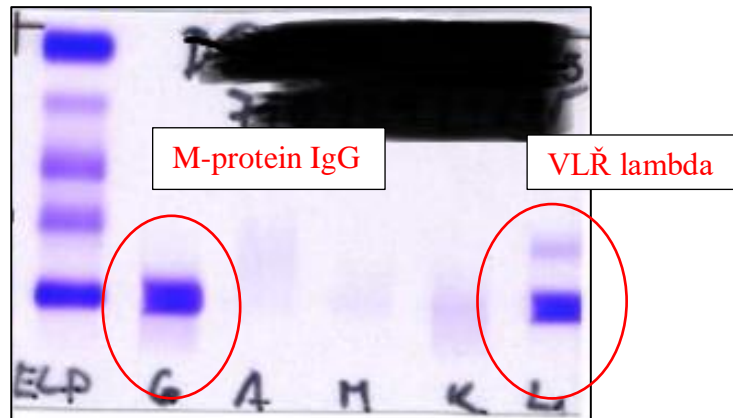


Obrázek 8 Denzitometrické vyhodnocení ELFO (Zdroj: Vlastní)

Vyšetřením bylo zjištěno vysoké zastoupení proteinů v gama oblasti změřeného elektroforeogramu.

Po ELFO krevních bílkovin byla provedena imunofixace krevního séra za účelem odhalení, které VLŘ jsou v séru přítomny.

Výsledkem vyšetření bylo, že je v séru zastoupen M-protein IgG typu lambda (obr. 9).



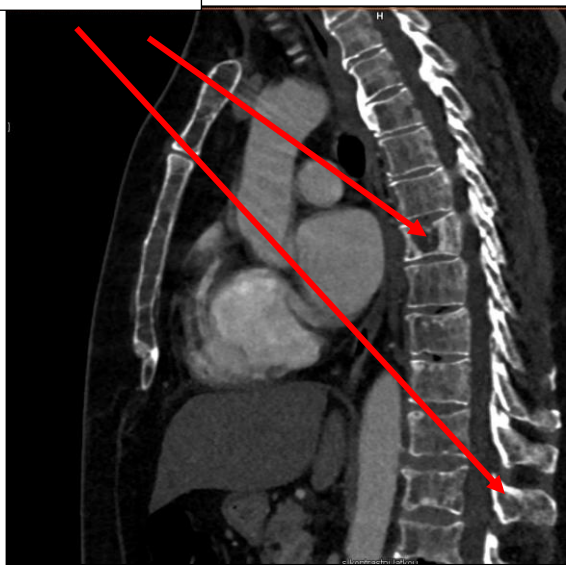
Obrázek 9 Imunofixace séra (Zdroj: Vlastní)

### 5.1.8 PET/CT trupu

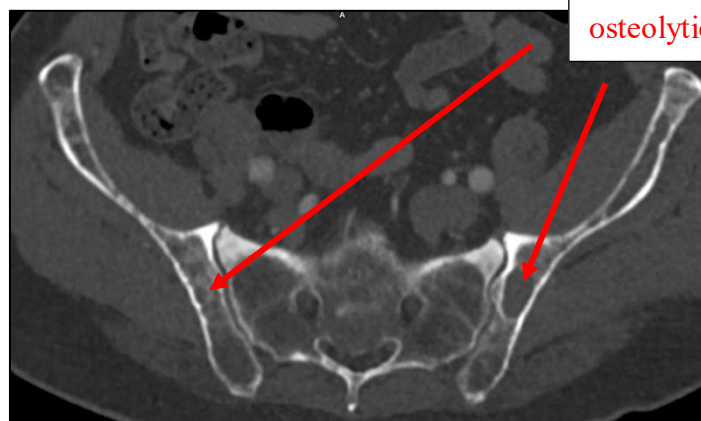
V celém zachyceném skeletu od baze lební po proximální femury jsou mnohočetná osteolytická ložiska, největší koncentrace v axiálním skeletu, největší ložiska přítomna v pánvi – v levé lopatě kosti kyčelní dosahuje léze velikosti až 54 mm (obr. 12 a 13).



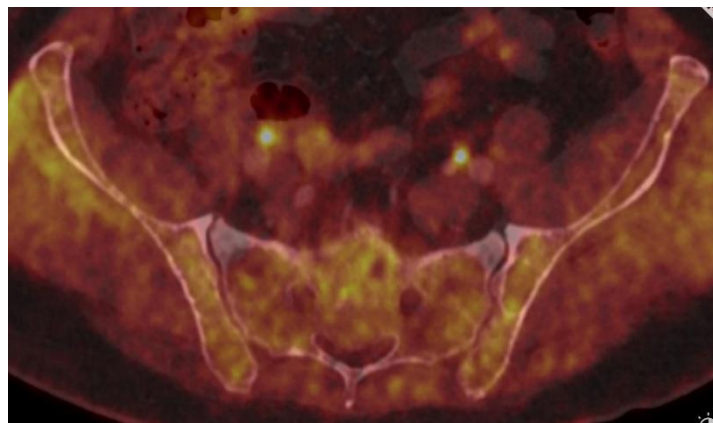
Obrázek 10 CT páteře (Zdroj: Vlastní)



Obrázek 11 PET páteře (Zdroj: Vlastní)



Obrázek 12 CT pánve (Zdroj: Vlastní)



Obrázek 13 PET pánve (Zdroj: Vlastní)

## Závěr PET/CT vyšetření:

Mnohočetná osteolytická ložiska s mírně zvýšenou metabolickou aktivitou v celém zachyceném skeletu s největší koncentrací v axiální oblasti – nález odpovídá mnohočetnému myelomu.

### 5.1.9 Vývoj laboratorního nálezu po zahájení léčby

U tohoto pacienta byla indikována okamžitá léčba (daratumumab + bortezomib).

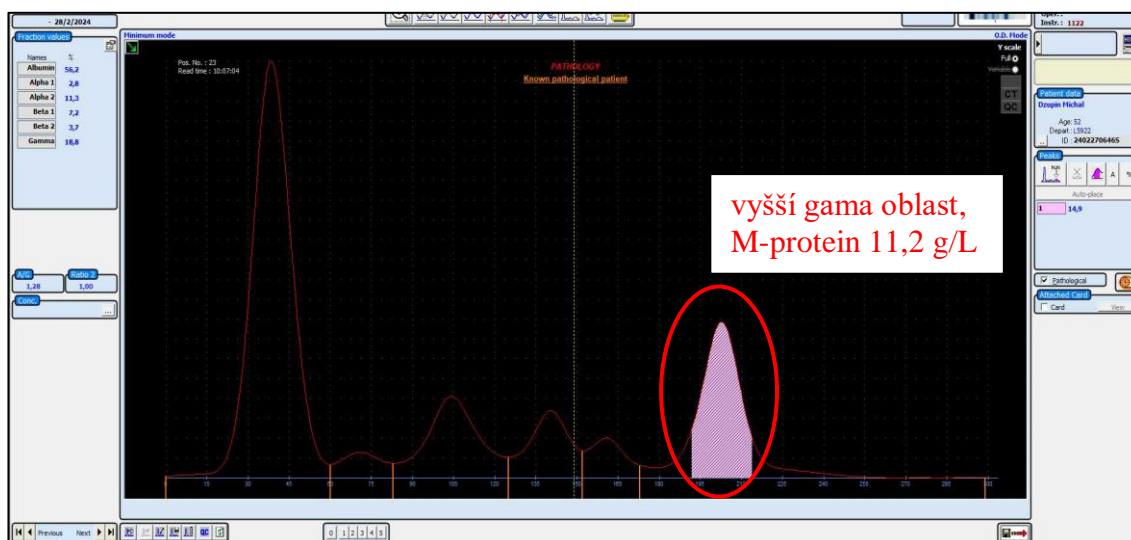
Kontrolní náběry 27. 2. a 26. 3. 2024 v HOO ambulanci + vstupní hodnoty při diagnostice.

Tabulka 9 Kontrolní náběry

Metoda	23. 1. 2024	27. 2. 2024	26. 3. 2024	Referenční meze	Jednotka
B-Hb	<b>110</b>	<b>116</b>	<b>125</b>	135 - 175	g/L
P/S- Vápník	2,31	2,34	2,25	2,2 – 2,6	mmol/L
P/S-Albumin	<b>32,1</b>	40,5	41,5	37 - 52	g/L
P/S-B2M	<b>5,67</b>	<b>2,65</b>	<b>3,26</b>	0,8 – 2,4	mg/L
S-M-protein	<b>27,9</b>	<b>11,2</b>	0,3+2,0	-	g/L
S-VLŘ lambda	<b>813,2</b>	<b>53,4</b>	14,0	5,7 – 26,3	mg/L
S-Poměr VLŘ	<b>49,28</b>	<b>3,10</b>	1,82	-	-
S-IgG	<b>34,60</b>	<b>17,40</b>	<b>5,01</b>	7 – 16	g/L
S-IgA	<b>0,32</b>	<b>0,32</b>	<b>&lt; 0,24</b>	0,7 – 4	g/L
S-IgM	<b>0,26</b>	0,45	<b>0,27</b>	0,4 – 2,3	g/L

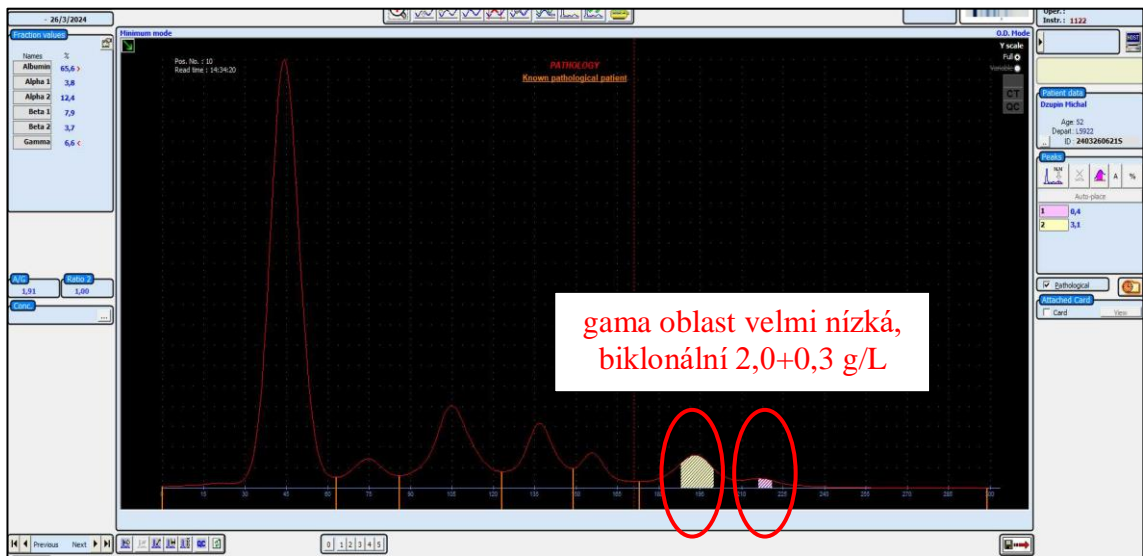
Zdroj: Vlastní

### Elektroforetické vyšetření s denzitometrickým vyhodnocením ze dne 27. 2. 2024:



Obrázek 14 Denzitometrické vyhodnocení ELFO, 27.2. 2024 (Zdroj: Vlastní)

## Elektroforetické vyšetření s denzitometrickým vyhodnocením ze dne 26. 3. 2024:



Obrázek 15 Denzitometrické vyhodnocení ELFO, 26.3. 2024 (Zdroj: Vlastní)

### 5.1.10 Závěr

Diagnostika MM byla u tohoto pacienta rychlá a nekomplikovaná, vzhledem k typickým nálezům ve výsledcích všech laboratorních i zobrazovacích metod. Byl sledován také pokles M-proteinu a VLŘ po 2 měsících léčby, která se zdá být velmi úspěšná.



## 5.2 Příklady variability MM formou kazuistik

### 5.2.1 Kazuistika 1

#### **Žena, rok narození 1944:**

Od roku 2001 sledována hematologem pro MGUS. V době provozáchytu M-proteinu jí bylo 57 let.

*Laboratorní nález:* monoklonální M-protein IgA kappa = 10 g/L, bez příznaků CRAB

Sledována 15 let bez progresse laboratorního nálezu, bez klinických potíží.

#### **7/2016** – progresse

*Laboratorní nález:* hladina M-proteinu vzrostla na 23 g/L, cytologické vyšetření KD prokázalo 30 % plazmocytů, cytogenetický nález ukázal zmnožení 1q21, monosomie chromozomu 13 a translokace t(4;14) má špatnou prognózu onemocnění, FACS vyšetření prokázalo přítomnost plazmocytů s aberantním imunofenotypem (20 % z leukocytů). Magnetická rezonance skeletu v r. 2016 neukázala žádné patologické změny.

#### **Závěr: progresse MGUS do asymptomatického myelomu (SMM).**

Pacientka byla s tímto závěrem předána do péče hematoonkologického oddělení FN Plzeň.

#### **5/2017** – další progresse

*Laboratorní nález:* anémie, hladina M-proteinu IgA > 32 g/L.

#### **Závěr: po roce progresse do symptomatického myelomu, indikováno zahájení léčby.**

**6/2017** – zahájena onkologická léčba, v jejím průběhu 2x další progresse onemocnění

#### **2/2020** – již 3. progresse MM

Navzdory pokračování dalším cyklem léčby, pacientka zemřela na progresi myelomu

**7/2020.**

Tabulka 10 Laboratorní vyšetření, kazuistika 1

	11/2005	7/2016	5/2017	12/2019	5/2020	Referenční meze	Jednotka
<b>B-Hb</b>	130	<b>118</b>	<b>106</b>	<b>119</b>	<b>114</b>	120 – 160	g/L
<b>P/S-B2M</b>	1,44	2,64	<b>3,65</b>	2,66	<b>4,19</b>	0,9 – 3	mg/L
<b>S-M-protein</b>	<b>4,3</b>	<b>23,6</b>	<b>32,1</b>	<b>1,6</b>	<b>13,3</b>	-	g/L
<b>S-VLŘ kappa</b>	8,9	13,6	<b>23,5</b>	<b>24,2</b>	<b>36,6</b>	3,3 – 19,4	mg/L
<b>S-Poměr VLŘ</b>	-	<b>2,83</b>	<b>6,18</b>	1,53	<b>5,08</b>	0,26 – 1,65	-
<b>S-IgG</b>	-	<b>2,91</b>	<b>2,03</b>	7,76	<b>5,10</b>	7 – 16	g/L
<b>S-IgA</b>	-	<b>25,80</b>	<b>45,30</b>	1,00	<b>14,60</b>	0,7 – 4	g/L
<b>S-IgM</b>	-	<b>0,15</b>	<b>0,17</b>	0,88	<b>0,28</b>	0,4 – 2,3	g/L

Zdroj: Vlastní

### Závěr:

V tomto případě se jedná o mnoho let pozvolna probíhající MGUS s progresí do SMM až po 15-ti letech sledování. Do symptomatického myelomu onemocnění progredovalo po 16-ti letech od prvního záchytu přítomnosti paraproteinu. Celkové přežití nemocné činilo 19 let od diagnózy MGUS a 4 roky od progresu do symptomatického MM. Pacientka zemřela v 75 letech v době hematologické léčby pro třetí progresi nemoci.

### 5.2.2 Kazuistika 2

#### Muž, rok narození 1957:

Dosud bez závažných onemocnění. 3/2023 udává silné zhoršující se bolesti zad (cca měsíc trvající). V ELFO prokázán M-protein, během několika dnů od jeho průkazu proběhlo 1. hematologické vyšetření.

*Laboratorní vyšetření:* anémie (Hb 121 g/L), známky akutního selhání ledvin (močovina 11,8 mmol/L, kreatinin 461 µmol/L), vysoký B2M 29,45 mg/L, zvýšený vápník 3,82 mmol/L, hladina M-proteinu poměrně nízká 13,6 g/L, extrémně vysoká hodnota VLŘ lambda 22 779 mg/L + vysoká hodnota poměru K/L 1 301,66.

Provedeno low-dose CT skeletu, které prokázalo mnohočetné osteolytické postižení zejména osového skeletu a pánve.

Splněna diagnostická kritéria symptomatického mnohočetného myelomu „CRAB“.

*Cytologické vyšetření:* hypercelulární KD s dominující infiltrací atypickými plazmocytami, které tvoří 40 % buněčnosti – cytologický nálezn odpovídá infiltraci KD mnohočetným myelomem v místě aspirace.

*Flowcytometrické vyšetření KD:* vyšetření prokazuje přítomnost plazmatických buněk s aberantním imunofenotypem a lambda excesem – nález odpovídá MM. Dále byla detekována přítomnost cirkulujících plazmocytů, které tvoří cca 157 buněk/mikrolitr.

*Cytogenetické vyšetření:* delece 1p, duplikace 1q, monosomie chromozomu 13.

Dle laboratorních vyšetření a provedení CT skeletu byl diagnostikován symptomatický MM, komplikovaný akutním renálním selháním a hyperkalcémií. Na základě výsledků provedených vyšetření byla u pacienta okamžitě zahájena onkologická léčba.

**7/2023** – dle regrese laboratorního nálezu dosaženo při léčbě parciální remise onemocnění

**11/2023** – kontrolní low-dose CT vyšetření skeletu

Osteolytické postižení skeletu oproti minulému vyšetření neprogreduje, naopak dochází ke sklerotickému ohraničování původních ložisek a k regresi při pozitivní reakci na léčbu.

Poslední návštěva ambulance HOO 2/2024: Pacient se cítí dobře, na bolesti nebere žádné léky, pokračuje v léčbě. Toho času velmi dobrá parciální remise onemocnění (VGPR).

*Tabulka 11 Laboratorní vyšetření, kazuistika 2*

	3/2023	3/2023	2/2024	Referenční meze	Jednotky
<b>B-Hb</b>	-	<b>121</b>	140	135 – 175	g/L
<b>P/S-Močovina</b>	-	<b>11,8</b>	4,2	3 – 8	mmol/L
<b>P/S-Kreatinin</b>	-	<b>461</b>	<b>108</b>	60 – 100	μmol/L
<b>P/S-Vápník</b>	-	<b>3,82</b>	2,40	2,2 – 2,6	mmol/L
<b>P/S-B2M</b>	-	<b>29,45</b>	2,06	0,9 – 3	mg/L
<b>S-M-protein</b>	<b>13,3</b>	<b>13,6</b>	-	-	g/L
<b>S-VLŘ lambda</b>	<b>10 926,0</b>	<b>22 779,0</b>	<b>&lt; 0,7</b>	5,7 – 26,3	mg/L
<b>S-Poměr VLŘ</b>	<b>1 150,11</b>	<b>1 301,66</b>	2,33	-	-
<b>S-IgG</b>	-	<b>20,90</b>	<b>3,56</b>	7 – 16	g/L
<b>S-IgA</b>	-	<b>0,34</b>	<b>&lt; 0,24</b>	0,7 – 4	g/L
<b>S-IgM</b>	-	<b>&lt; 0,19</b>	<b>&lt; 0,18</b>	0,4 – 2,3	g/L

*Zdroj: Vlastní*

### **Závěr:**

V tomto případě se jedná o rozvinutý a rychle progredující MM již v době prvozáchytu M-proteinu. Tento případ potvrzuje významný přínos biochemického laboratorního vyšetření VLR pro diagnostiku MM. Jedná se o MM s poměrně nízkou hladinou M-proteinu pod 15g/L, ale s extrémním excesem VLR typu lambda a vysokým poměrem L/K.

### **5.2.3 Kazuistika 3**

#### **Žena, rok narození 1983:**

Prvozáchyt M-proteinu v séru **8/2022** při hematologickém vyšetření pro anemii jiné etiologie.

*Laboratorní vyšetření:* hladina M-proteinu typu IgG kappa 6,8 g/L, bez excesu VLR.

Uzavřeno jako MGUS. IMWG riziko – nižší střední riziko MM.

**9/2022** – PET/CT vyšetření neukázalo postižení skeletu myelomem

**7/2023** – hladina M-proteinu lehce vzrostla, ale je stále nízká

*Laboratorní vyšetření:* hladina M-proteinu 11,3 g/L.

MGUS, IMWG riziko – trvá nižší střední riziko MM.

**12/2023** – zjištěn prudký nárůst M-proteinu s podezřením na progresi MGUS do MM

*Laboratorní vyšetření:* hladina M-proteinu 47,4 g/L, poměr VLR 69,21.

*Cytologické vyšetření KD:* plazmatické buňky početně převažují normu (cca 14 %). Ve většině případů tvoří atypické polymorfnní formy, místy i obrovské s několika jádry. Infiltrace KD atypickými plazmocyty (nad 10 %), která odpovídá MM.

*Flowcytometrické vyšetření:* vyšetření prokazuje přítomnost plazmatických buněk s aberantním imunofenotypem a kappa excesem – nález odpovídá MM.

*PET/CT trupu:* Nález odpovídá MM. Největší postižení zjištěno v kalvě, v os illium a v pravé polovině os sacrum. Dále přítomny výšečetná ložiska ve skeletu včetně sternu. Ve srovnání s předchozím PET/CT a CT je nález osteolytických ložisek zcela nový, nebyl přítomen, byť jen v incipientní fázi, ani při zpětném hodnocení předchozích snímků,.

*Cytogenetické vyšetření:* Clg FISH byla prokázána ve 100 % imunoznačených plazmocytů monosomie chromozomu 13 a nadpočetná kopie genu CKS1B (1q21). Cytogenetický nálezn klonálního vývoje se zmnožením 1q21 oproti minulému nálezu signalizuje nepříznivou prognózu onemocnění.

Pacientka byla předána do péče hematologů k zahájení léčby MM ve studii.

Tabulka 12 Laboratorní vyšetření, kazuistika 3

	8/2022	7/2023	12/2023	Referenční meze	Jednotka
<b>B-Hb</b>	<b>81</b>	<b>52</b>	<b>78</b>	120 – 160	g/L
<b>P/S-B2M</b>	-	<b>2,64</b>	<b>3,77</b>	0,8 – 2,4	mg/L
<b>S-M-protein</b>	<b>6,8</b>	<b>11,3</b>	<b>47,3</b>	-	g/L
<b>S-VLŘ kappa</b>	<b>45,1</b>	<b>76,2</b>	<b>332,2</b>	3,3 – 19,4	mg/L
<b>S-Poměr VLŘ</b>	<b>4,42</b>	<b>10,03</b>	<b>69,21</b>	0,26 – 1,65	-
<b>S-IgG</b>	15,40	<b>17,70</b>	<b>63,90</b>	7 – 16	g/L
<b>S-IgA</b>	1,10	<b>0,40</b>	<b>&lt; 0,26</b>	0,7 – 4	g/L
<b>S-IgM</b>	0,72	<b>0,29</b>	<b>&lt; 0,19</b>	0,4 – 2,3	g/L

Zdroj: Vlastní

#### Závěr:

U této nemocné se jedná o příklad prudké progresse monoklonální gamapatie do MM během 1,5 roku od prvozáhytu M-proteinu v séru. Jde o kazuistiku mladé pacientky s nepříznivou prognózou onemocnění.

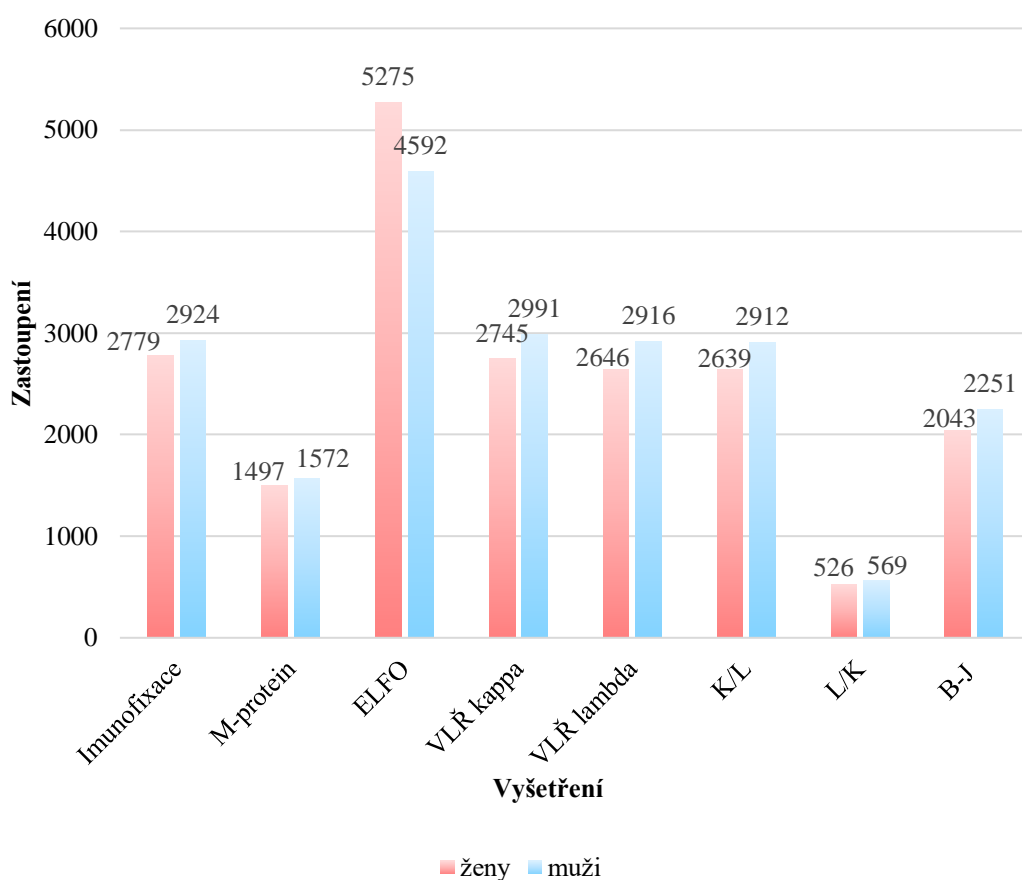
### 5.3 Výzkumné šetření

#### 5.3.1 Celkový počet vyšetření níže uvedených metod v laboratoři ÚKBH

Tabulka 13 Počet vyšetření uvedených metod ve FN Plzeň

Pohlaví	Vyšetření							
	Imunofixace	M-protein	ELFO	VLŘ kappa	VLŘ lambda	K/L	L/K	B-J
Ženy	2779	1497	5275	2745	2646	2639	526	2043
Muži	2924	1572	4592	2991	2916	2912	569	2251

Zdroj: Vlastní



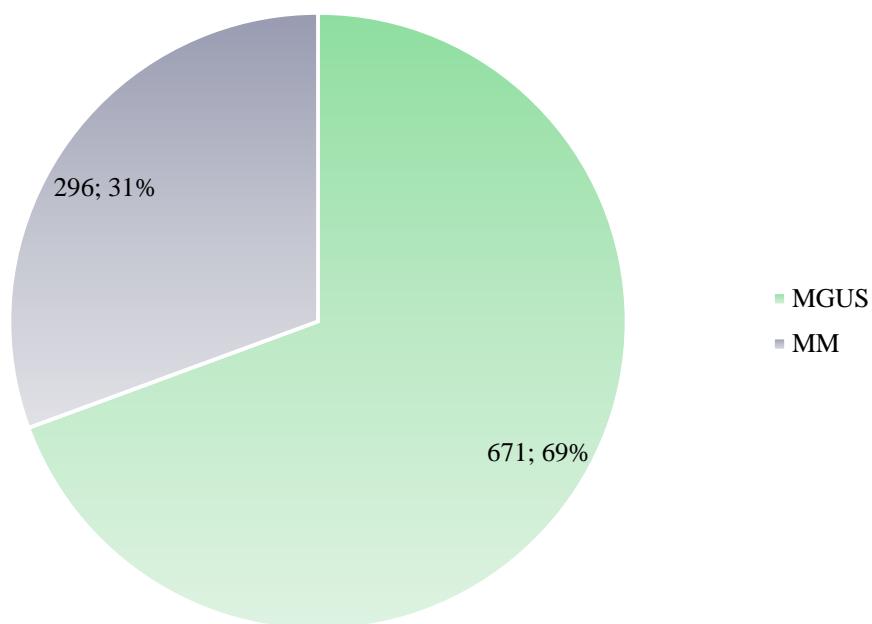
Obrázek 16 Graf zastoupení jednotlivých vyšetření ve FN Plzeň (Zdroj: Vlastní)

### 5.3.2 Zastoupení diagnózy MGUS a MM v hodnoceném souboru

Tabulka 14 Počet pacientů s MGUS a MM za r. 2023

	MGUS	MM
Zastoupení	671	296

Zdroj: Vlastní



Obrázek 17 Graf zatsoupení MGUS a MM (Zdroj: Vlastní)

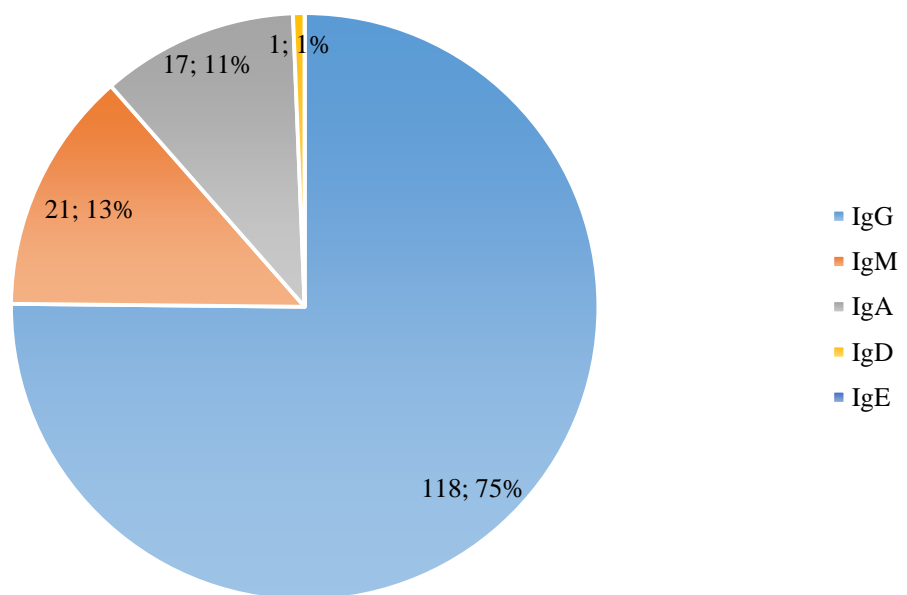
### 5.3.3 Odpověď na výzkumnou otázku č. 1

Jaké je zastoupení jednotlivých M-proteinů u diagnózy MM za uvedené období (r. 2023)?

Tabulka 15 Zastoupení jednotlivých M-proteinů

		Typ imunoglobulinu				
		IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
Zastoupení		118	21	17	1	0

Zdroj: Vlastní



Obrázek 18 Graf zastoupení jednotlivých M-proteinů (Zdroj: Vlastní)



### 5.3.4 Odpověď na výzkumnou otázku č. 2

Jaké je zastoupení MM dle pohlaví a věku v našem souboru dat?

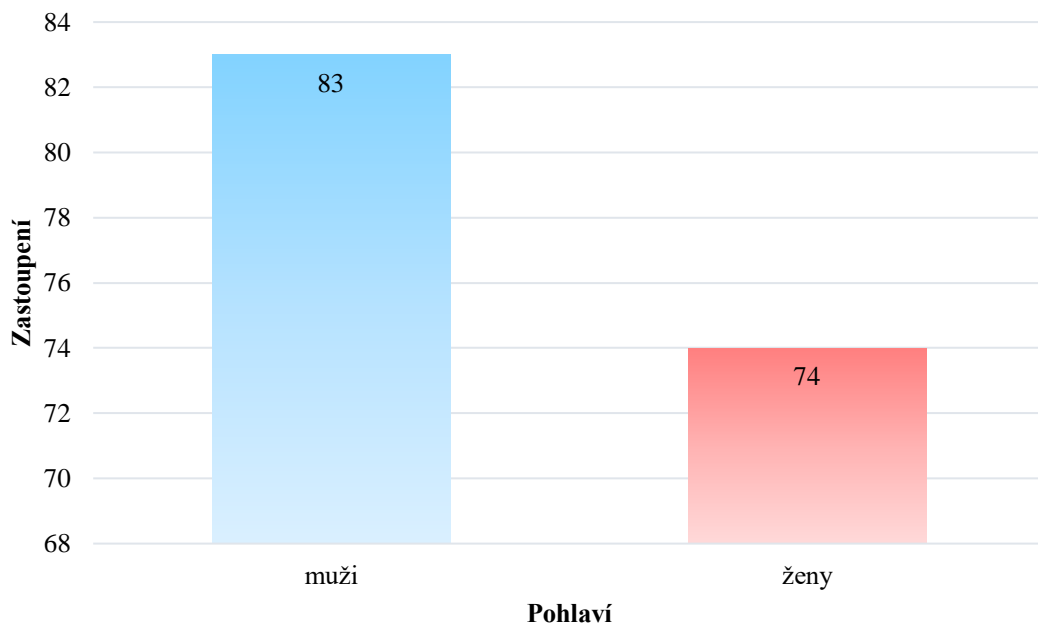
a) Zastoupení MM dle pohlaví

Tabulka 16 Zastoupení MM dle pohlaví

MM	
muži	ženy
83	74

Zdroj: Vlastní

Obrázek 19 Graf zastoupení MM dle pohlaví



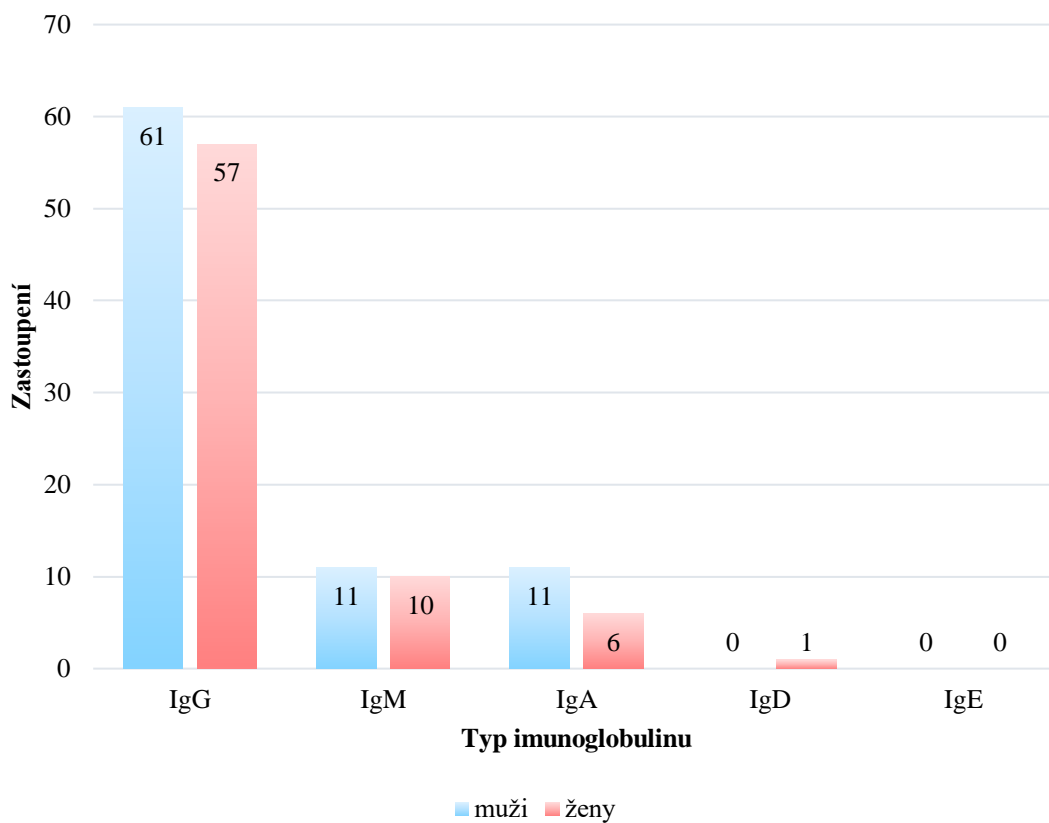
Obrázek 19 Graf zastoupení MM dle pohlaví (Zdroj: Vlastní)

b) zastoupení jednotlivých M-proteinů dle pohlaví

Tabulka 17 Zastoupení jednotlivých M-proteinů dle pohlaví

Pohlaví	Typ imunoglobulinu				
	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
Muži	61	11	11	0	0
Ženy	57	10	6	1	0

Zdroj: Vlastní



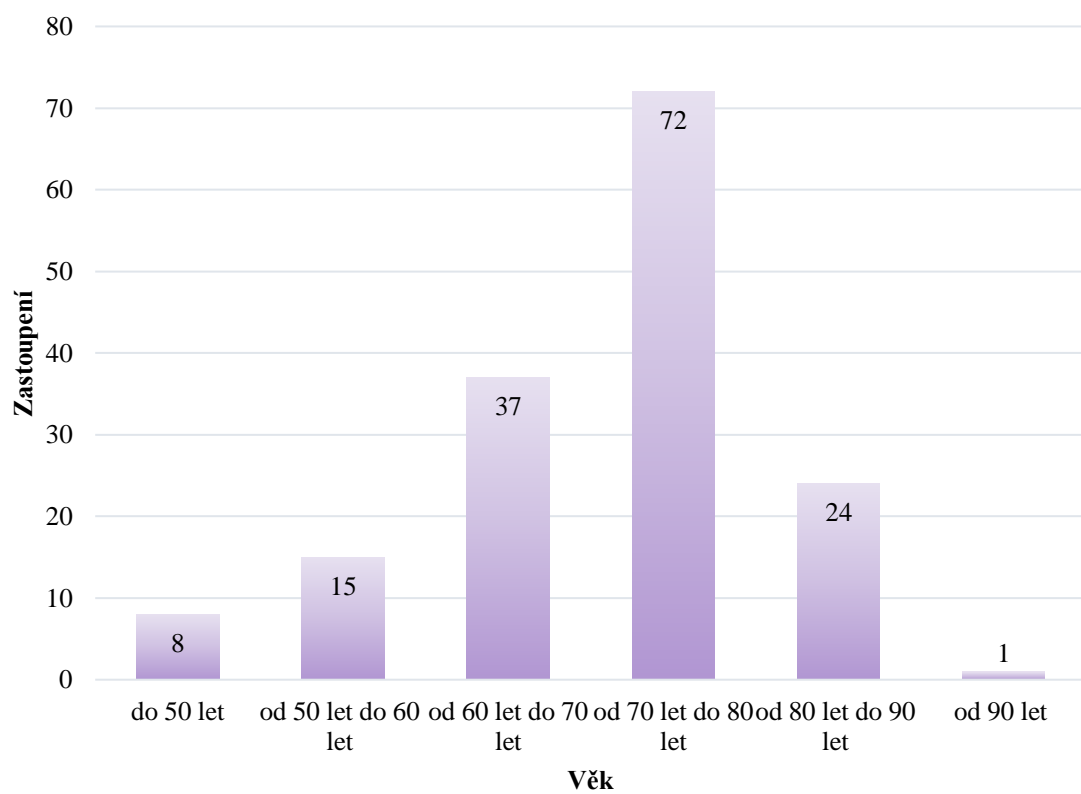
Obrázek 20 Graf zastoupení jednotlivých M-proteinů dle pohlaví (Zdroj: Vlastní)

c) Zastoupení MM dle věku

Tabulka 18 Zastoupení MM dle věku

Věk	Mnohočetný myelom
do 50 let	8
od 50 let do 60 let	15
od 60 let do 70 let	37
od 70 let do 80 let	72
od 80 let do 90 let	24
od 90 let	1

Zdroj: Vlastní



Obrázek 21 Graf zastoupení MM dle věku (Zdroj: Vlastní)

### 5.3.5 Odpověď na výzkumnou otázku č. 3

Kolik % nemocných s MGUS spadá do nízké rizikové skupiny s dobrou prognózou za uvedené období (r. 2023)?

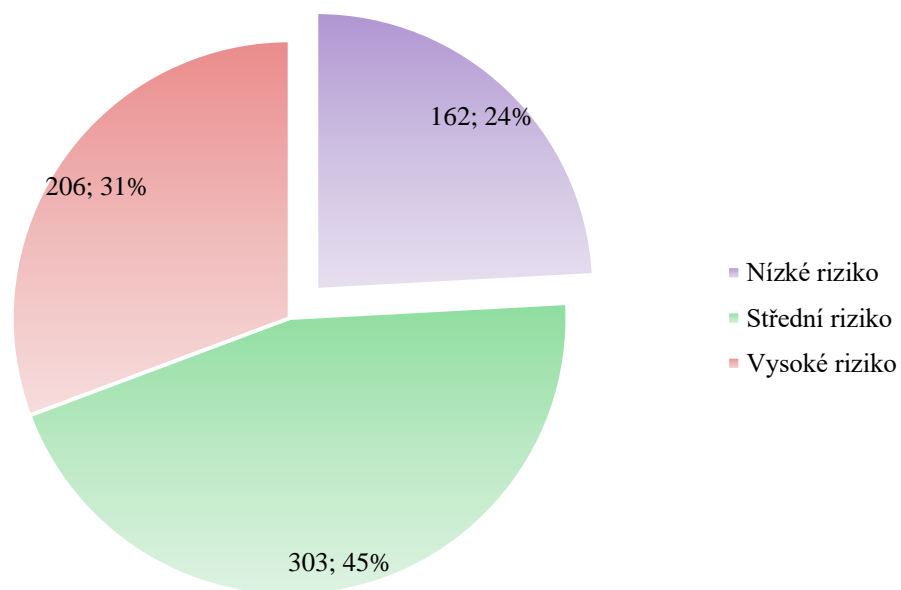
Nízké riziko rozvoje MM:

- M-protein: < 15 g/L;
- imunofixace: IgG ( $\kappa / \lambda$ );
- poměr VLŘ  $\kappa/\lambda$ : < 1,65.

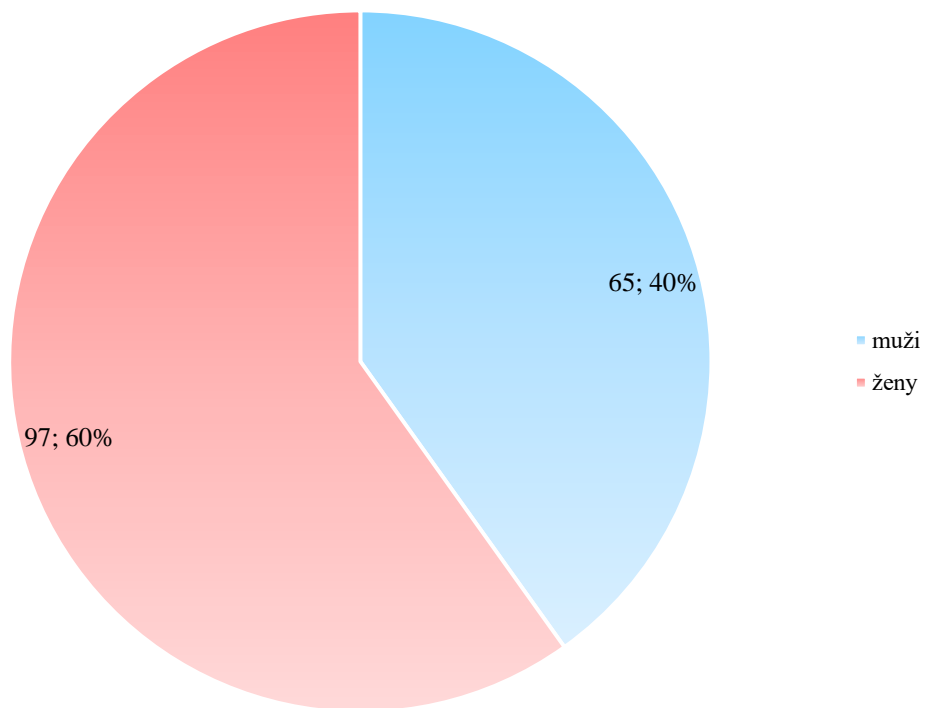
Tabulka 19 Zastoupení MGUS s vysokým, středním a nízkým rizikem

<b>MGUS</b> 671	
<b>Vysoké riziko</b> 206	
<b>Střední riziko</b> 303	
<b>Nízké riziko</b> 162	
<b>Muži</b> 65	<b>Ženy</b> 97

Zdroj: Vlastní



Obrázek 22 Graf zastoupení MGUS s vysokým, středním a nízkým rizikem (Zdroj: Vlastní)



Obrázek 23 Graf zastoupení MGUS s nízkým rizikem dle pohlaví (Zdroj: Vlastní)

### 5.3.6 Odpověď na výzkumnou otázku č. 4

Kolik % nemocných s MM má vyšší exces VLŘ s poměrně nízkou hladinou M-proteinu za uvedené období (r. 2023)?

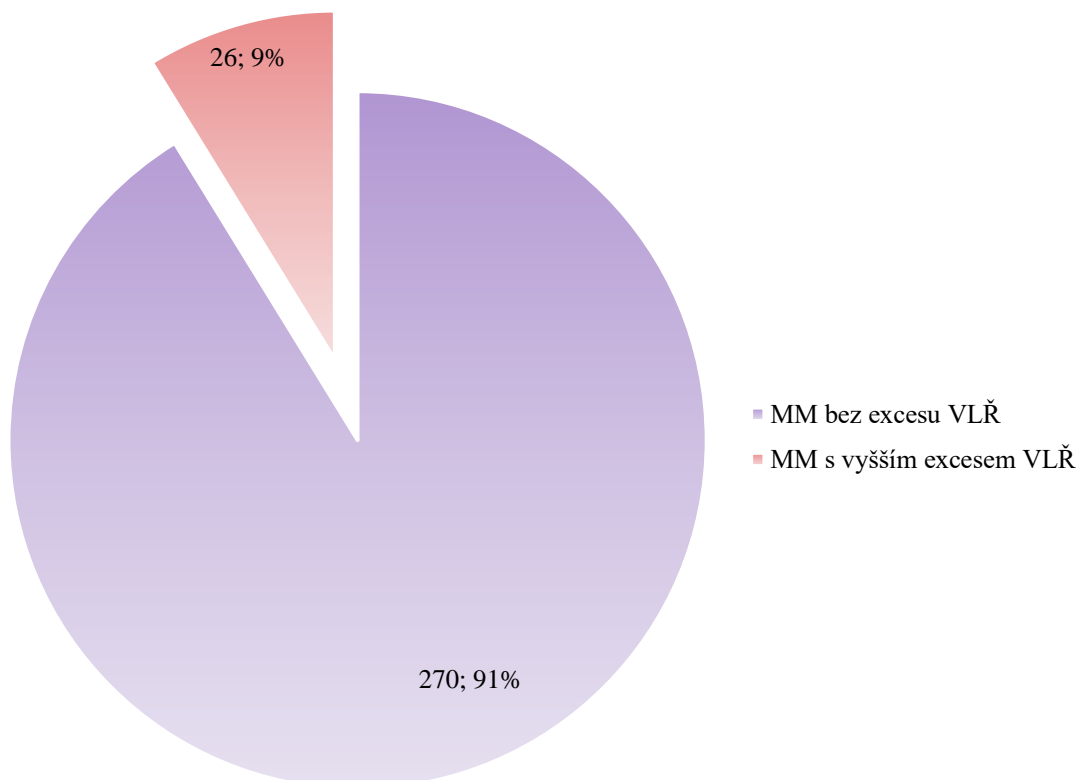
Kritéria:

- poměr VLŘ  $\kappa/\lambda$ : : > 100;
- poměr VLŘ  $\lambda/\kappa$ : > 100;
- M-protein: < 15 g/L.

Tabulka 20 Zastoupení MM s vyšším excesem VLŘ a nízkou hladinou M-proteinu

MM	$\kappa/\lambda > 100$ ; M-protein < 15 g/L	$\lambda/\kappa > 100$ ; M-protein < 15 g/L	Celkem
296	17	9	26

Zdroj: Vlastní



Obrázek 24 Graf zastoupení MM s vyšším excesem VLŘ (Zdroj: Vlastní)

## 6 Diskuze k výzkumným otázkám

Celkově za rok 2023 bylo ve FN v Plzni na ÚKBH provedeno 40 877 laboratorních vyšetření nutných k diagnostice MGUS a MM. Nejvíce vyšetření zaujímá elektroforetické stanovení plazmatických bílkovin krevního séra (9 867) následované imunofixací séra (5 703) a dále stanovením VLŘ kappa (5 736) a VLŘ lambda (5 562) v séru.

V mnou vybraném souboru dat se nacházelo 671 pacientů s diagnózou MGUS (D472) a 296 pacientů s diagnózou MM (C900). Na základě těchto dat byly definovány výzkumné otázky a jejich zodpovězení.

Výzkumná otázka č. 1: *Jaké je zastoupení jednotlivých M-proteinů při diagnóze MM za uvedené období (r. 2023)?* Ze souboru laboratorních dat výsledků ELFO séra, imunofixace séra a moči a VLŘ z laboratoří ÚKBH FN Plzeň za rok 2023 bylo zjištěno, že pro diagnózu MM (C900) bylo vyšetřeno 296 pacientů. Z tohoto souboru má 157 pacientů (53 %) v séru přítomný jeden monoklonální imunoglobulin a 139 pacientů (47 %) mělo v séru dva monoklonální imunoglobuliny (biklonální M-protein). Zhodnocení ukázalo, že nejvíce pacientů mělo v séru přítomný M-protein ve třídě IgG (118). Druhým nejčastějším byl M-protein ve třídě IgM (21), dále ve třídě IgA a nejméně byl v roce 2023 detekovaný M-protein IgD (1). M-protein ve třídě IgE nebyl v roce 2023 prokázán v žádném z vyšetřovaných vzorků. (tab. 15, obr. 18). Toto rozložení M-proteinů je v souladu s literárními údaji.

Výzkumná otázka č. 2: *Jaké je zastoupení MM dle pohlaví a věku v našem souboru dat?* Ze souboru dat byli vybráni pouze pacienti s MM, kteří měli v séru přítomný pouze jeden monoklonální imunoglobulin (157). Jednalo se o 83 mužů (53 %) a 74 žen (47 %). Dále byli pacienti rozloženi dle věku. 8 pacientů (5 %) bylo ve věku do 50 let 15 pacientů (10 %) ve věku od 50 do 60 let, 37 pacientů (23 %) ve věku od 60 do 70 let, 72 pacientů (46 %) ve věku od 70 do 80 let a 24 pacientů (15 %) ve věku od 80 let do 90 let. Ve věku nad 90 let byl 1 pacient (1 %). Nejčastěji je myelom přítomný u lidí ve věku od 70 – 80 let (tab. 18, obr. 21). Věkové rozložení našeho souboru odpovídá údajům v literatuře. Častěji je MM přítomný u mužů než u žen, nejčastější věkovou skupinou u MM je věk od 70 do 80 let. Nejmladšímu nemocnému v našem souboru bylo 23 let a nejstaršímu pacientovi bylo 91 let. Na příkladu velmi mladého pacienta s MM je vidět,

že se onemocnění posouvá k čím dát více mladší populaci. To může mít řadu důvodů (genetická predispozice, životní styl, účinky záření).

Výzkumná otázka č. 3: *Kolik % nemocných s MGUS spadá do nízké rizikové skupiny s dobrou prognózou za uvedené období (r. 2023)?* Ve výzkumném souboru dat bylo přítomno 671 pacientů s MGUS. V této otázce byly zároveň definována kritéria nízkého rizika rozvoje MM (M-protein < 15 g/L; imunofixace: M-protein ve třídě IgG ( $\kappa / \lambda$ ); poměr VLŘ  $\kappa / \lambda < 1,65$ ). Vysoké riziko rozvoje MM mělo 206 pacientů (31 %). Střední riziko MM mělo 303 pacientů (45 %). Nízké riziko mělo 162 pacientů (24 %). Pacienti s nízkým rizikem byli dále rozděleni dle pohlaví. Nízké riziko má 65 (40 %) mužů a 97 žen (60 %). Z výzkumu vyplývá, že 31 % pacientů má vyšší riziko přechodu MGUS do MM a 24 % pacientů má nízké riziko přechodu MGUS do MM (tab. 19, obr. 22). Pacienti s vyšším rizikem přechodu MGUS do MM musí být pravidelněji kontrolováni, aby se včas zachytil případný náhlý přechod do symptomatického myelomu.

Výzkumná otázka č. 4: *Kolik % nemocných s MM má vyšší exces VLŘ s poměrně nízkou hladinou M proteinu za uvedené období (r. 2023)?* V této otázce byla definována následující kritéria (poměr VLŘ  $\kappa / \lambda > 100$ ; poměr VLŘ  $\lambda / \kappa > 100$ ; M-protein < 15 g/L). Ze souboru dat pacientů s MM (296) mělo 17 pacientů vysoký poměr VLŘ  $\kappa / \lambda$  a 9 pacientů vysoký poměr VLŘ  $\lambda / \kappa$ . Celkem mělo poměr VLŘ nad 100 26 pacientů (9 %). Zbýlých 270 pacientů (91 %) mělo bezvýznamný nebo menší exces VLŘ (tab. 20, obr. 24). Tato výzkumná otázka potvrzuje důležitost biochemického laboratorního vyšetření volných lehkých řetězců v séru, jinak by nemocní s nízkou hladinou kompletního M-proteinu mohli uniknout pozornosti při časném záchytu myelomu.



## 7 Závěr

Prvním splněným cílem bakalářské práce s názvem „Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu“ bylo přehledně shrnout laboratorní vyšetřovací metody, používané v současné době, k diagnostice MM jako 2. nejčastějšího hematologického onemocnění.

V teoretické části práce jsem vypracoval ucelený přehled laboratorních vyšetřovacích metod nutných k diagnostice myelomu. Detailně jsem popsal biochemické laboratorní metody, kam řadíme elektroforézu bílkovin krevního séra, imunofixaci krevního séra a moči, stanovení volných lehkých řetězců v séru, stanovení vápenatých iontů, hladiny močoviny, kreatininu a v neposlední řadě laboratorní stanovení B2-mikroglobulinu jako nádorového markeru myelomu a dalších lymfoproliferací. Popsal jsem také hematologické laboratorní metody k diagnostice MM, kam řadíme především cytologické vyšetření KD, dále stanovení krevního obrazu společně s diferenciálním rozpočtem leukocytů. Imunologická diagnostika zahrnuje stanovení hladin imunoglobulinů a průtokovou cytometrii plazmatických buněk. K dalším důležitým laboratorním vyšetřením patří také histologické a genetické vyšetření kostní dřeně.

Ke splnění druhého cíle, tedy zmapování vstupních diagnostických vyšetření u MM, jsem vybral konkrétního nemocného z ambulantní části našeho pracoviště. U pacienta jsem podrobně popsal jednotlivé výsledky laboratorních vyšetření, vysvětlil jejich význam a závěrečné zhodnocení výsledků. Výsledky jsou zdokumentovány i ve formě obrazových příloh. Nakonec jsem přidal i výsledky ELFO bílkovin a hodnoty dalších laboratorních vyšetření po 2 měsících léčby, která se v tomto případě zdá velmi úspěšná.

Pro splnění třetího cíle je variabilita MM prezentována na 3 nemocných. Jedná se o odlišné laboratorní nálezy při úvodních vyšetřeních v průběhu sledování. První pacientkou byla žena, která byla 15 let sledována pro MGUS. Až po této dlouhé době onemocnění progredovalo nejdříve do asymptomatického a po roce do symptomatického myelomu. Naopak u druhé ženy se jednalo o prudkou progresi MGUS do myelomu během 1,5 roku. U této pacientky byla detekována genetická abnormalita, která určuje špatnou prognózu nemoci. U prezentovaného muže, se již při prvozáchytu M-proteinu jednalo o rychle progredující MM, kdy hladina kompletního M-proteinu byla poměrně nevýznamná a sama o sobě by nebudila podezření na toto onemocnění. Následně zjištěná extrémní elevace volných lehkých řetězců v séru i moči již jasně svědčila pro MM, jako

příčinu bolestí skeletu a selhávání ledvin. Zejména tato poslední kazuistika a také 9 % zastoupení nemocných s velkým klonálním excesem VLŘ při nízké hladině kompletního M-proteinu v séru v námi sledovaném souboru výsledků za rok 2023, ukazuje na důležitou úlohu stanovení VLŘ při časně diagnostice myelomu. Bez včasného vyšetření ELFO a VLŘ není MM diagnostikován včas a často je toto onemocnění rozpoznáno až v pokročilém stadiu, spojeném se závažným poškozením skeletu (patologické zlomeniny obratlů, žeber, dlouhých kostí) nebo při selhání ledvin vlivem paraproteinu.

Pro splnění čtvrtého výzkumného cíle jsem využil data z vlastního pracoviště ÚKBH FN Plzeň (laboratoř + hematologická ambulance) a stanovil 4 výzkumné otázky. Výsledky jsem podrobně popsal ve výše uvedené diskuzi (kapitola 6).

Časný záchyt M-proteinu v ELFO a excesu VLŘ v séru může odhalit MM ještě před rozvojem závažného postižení skeletu či ledvin. Časnou diagnózou a zahájením léčby je pak možno zlepšit kvalitu života a celkovou prognózu těchto nemocných.

Tato práce by mohla sloužit jako studijní materiál pro zdravotní laboranty a analytiky biochemických i hematologických laboratoří, dále jako souhrnný přehled laboratorních metod, které vedou ke správné diagnóze MM. Vzhledem k tomu, že MM je druhým nejčastějším hematoonkologickým onemocněním, setkávají se s touto diagnózou v každodenní praxi.

## **8 Seznam příloh, tabulek a obrázků**

### **8.1 Seznam příloh**

Příloha 1: Povolení sběru informací ve FN Plzeň.

Příloha 2: Analyzátor Hydrasys 2<sup>SCAN</sup>

Příloha 3: Analyzátor Optilite

Příloha 4: Flowcytometrické vyšetření, diagnostický postup při prvozáchytu MM u konkrétního pacienta

### **8.2 Seznam tabulek**

Tabulka 1: Diagnostická kritéria dle Salmona a Durie

Tabulka 2: Revidovaná IMWG (International Myeloma Working Group) kritéria

Tabulka 3: Klinická stádia dle Salmona a Durie

Tabulka 4: Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu

Tabulka 5: Vstupní vyšetření

Tabulka 6: Myelogram KD

Tabulka 7: FC počet lymfocytů

Tabulka 8: FC počet plazmatických buněk

Tabulka 9: Kontrolní náběry

Tabulka 10: Laboratorní vyšetření, kazuistika 1

Tabulka 11: Laboratorní vyšetření, kazuistika 2

Tabulka 12: Laboratorní vyšetření, kazuistika 3

Tabulka 13: Počet vyšetření uvedených metod ve FN Plzeň

Tabulka 14: Počet pacientů s MGUS a s MM za r. 2023

Tabulka 15: Zastoupení jednotlivých M-proteinů

Tabulka 16: Zastoupení MM dle pohlaví

Tabulka 17: Zastoupení jednotlivých M-proteinů dle pohlaví

Tabulka 18: Zastoupení jednotlivých M-proteinů dle věku

Tabulka 19: Zastoupení MGUS s vysokým, středním a nízkým rizikem

Tabulka 20: Zastoupení MM s vyšším excesem VLŘ a nízkou hladinou M-proteinu

### **8.3 Seznam obrázků**

Obrázek 1: Plazmatické buňky (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 2: Struktura imunoglobulinu (zdroj: Kodíček, 2007, upraveno)

Obrázek 3: Elektroforeogram – fyziologický nálezn (Čermáková, 2014, upraveno)

Obrázek 4: Plazmatické buňky nalezené v nátěru KD 1 (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 5: Plazmatické buňky nalezené v nátěru KD 2 (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 6: Výsledek G-pruhování (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 7: ELFO bílkovin (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 8: Denzitometrické vyhodnocení ELFO (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 9: Imunofixace séra (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 10: CT páteře (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 11: PET páteře (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 12: CT pánve (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 13: PET pánve (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 14: Denzitometrické vyhodnocení ELFO, 27. 2. 2024 (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 15: Denzitometrické vyhodnocení ELFO, 26. 3. 2024 (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 16: Graf zastoupení jednotlivých vyšetření ve FN Plzeň (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 17: Graf zastoupení MGUS a MM (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 18: Graf zastoupení jednotlivých M-proteinů (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 19: Graf zastoupení MM dle pohlaví (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 20: Graf zastoupení jednotlivých M-proteinů dle pohlaví (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 21: Graf zastoupení MM dle věku (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 22: Graf zastoupení MGUS s vysokým, středním a nízkým rizikem (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 23: Graf zastoupení MGUS s nízkým rizikem dle pohlaví (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 24: Graf zastoupení MM s vyšším excesem VLŘ (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 25: Analyzátor Hydrasys 2<sup>SCAN</sup> (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 26: Analyzátor Optilite (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 27: FACS 1 (Zdroj: Vlastní)

Obrázek 28: FACS 2 (Zdroj: Vlastní)

## Příloha 1: Povolení sběru informací ve FN Plzeň



Vážený pan  
Jakub Černý, DiS  
Student oboru Laboratorní diagnostika  
Zdravotně sociální fakulta  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

### Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF Fakultní nemocnice Plzeň **uděluji souhlas** se získáváním / zpracováním anonymizovaných informací o laboratorních metodách / analýzách / výsledcích těchto metod, včetně jejich statistického zpracování, používaných na pracovišti *Ústavu klinické biochemie a hematologie (ÚKBH) FN Plzeň*. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „*Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu*“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborant *ÚKBH* souhlasí s Vaším šetřením.
- Vaše šetření osobně povedete.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.**, o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být zcela anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět pod odborným vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je **paní Lavičková Alena, MUDr., vedoucí lékařka ÚKBH FN Plzeň**.

Po zpracování Vámi zjištěných údajů **poskytnete** zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

**Mgr. Bc. Světluše Chabrová**  
Manažerka pro vzdělávání nelékařů  
Útvar náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF

Fakultní nemocnice Plzeň  
Edvarda Beneše 1128/13, 301 00 Plzeň  
Tel: 377 401 663  
E-mail: [chabrovass@fnplzen.cz](mailto:chabrovass@fnplzen.cz)

9. 8. 2023

Příloha 2: Analyzátor Hydrasys 2<sup>SCAN</sup>



Obrázek 25 Analyzátor Hydrasys 2<sup>SCAN</sup> (Zdroj: Vlastní)

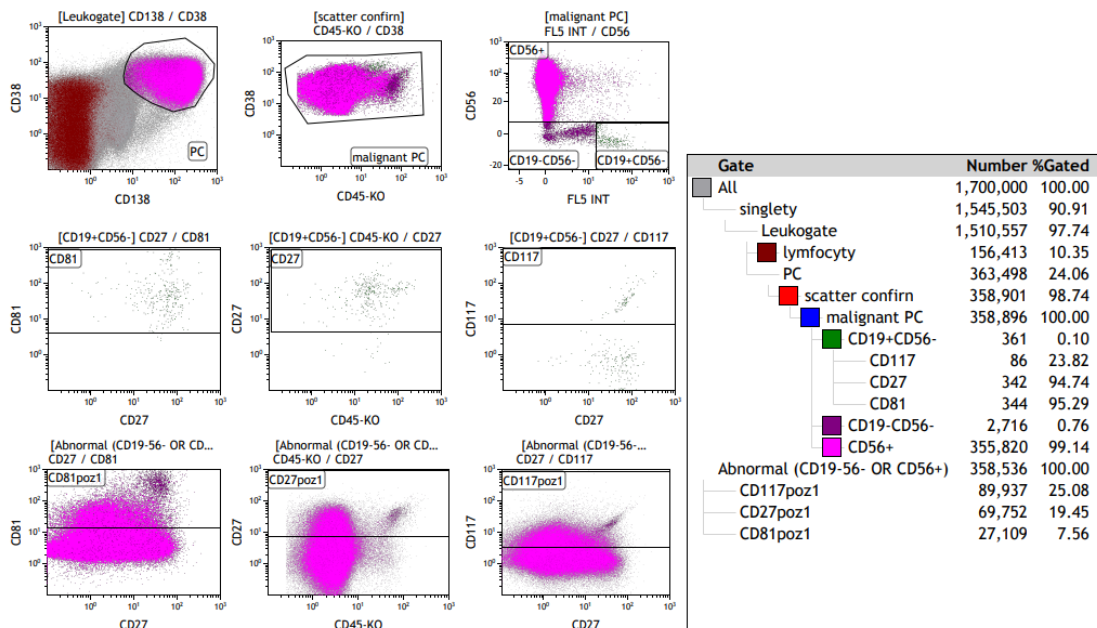
Příloha 3: Analyzátor Optilite



*Obrázek 26 Analyzátor Optilite (Zdroj: Vlastní)*

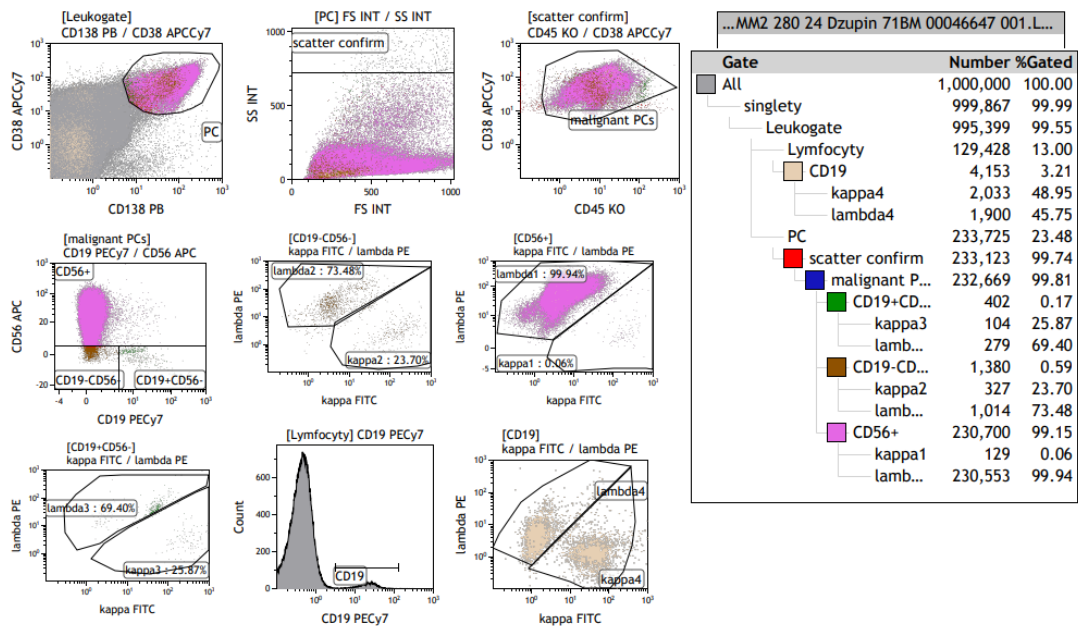


Příloha 4: Flowcytometrické vyšetření, diagnostický postup při prvozáchytu MM u konkrétního pacienta



Page 1 of 1

Obrázek 27 FACS 1 (Zdroj: Vlastní)



Obrázek 28 FACS 2 (Zdroj: Vlastní)

## 9 Zdroje

1. ADAM, Z., et al., 1993. *Terapie mnohočetného myelomu*. Brno. Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně. ISBN 80-210-0831-8.
2. ADAM, Z., KREJČÍ, M., VORLÍČEK, J., 2008. *Hematologie: přehled maligních hematologických nemocí*. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-2502-4.
3. ADAM, Z., MAISNAR V., et al., 2009. *Mnohočetný myelom, jak včas rozpoznat tuto nemoc a jak s ní žít*. Informace pro nemocné a jejich blízké. 3. přepracované a doplněné vyd. Brno: MÚ. 73 s. ISBN 987-80-210-4680-1.
4. ADAM, Z., STARÝ, K., et al., 2018. *Zvýšená hladina kalcia může být prvním příznakem mnohočetného myelomu, ale může mít i jiné příznaky*. *Transfuze a hematologie dnes*, 24 (4), 238-252. ISSN 1213-5763.
5. BAČOVSKÝ, J., ŠČUDLA, V., 2004. *Současné možnosti vyšetření skeletu u mnohočetného myelomu*. *Interní medicína pro praxi*, 6 (8), 385-388. ISSN 1212-7299.
6. BERÁNEK, M., TICHÝ, M., 2013. *Vybrané kapitoly z klinické biochemie: pro studijní program Zdravotnická bioanalýtika*. Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-2186-9.
7. BULIKOVÁ, A., MIKULENKOVÁ, D., 2017. *Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřene* [online]. Praha: Česká hematologická společnost ČLS JEP [cit.2023-10-09]. Dostupné z: [https://is.muni.cz/el/med/jaro2017/MBKH081p/Postupy\\_pro\\_vysetreni\\_kostni\\_drene\\_-\\_Mgr.pdf](https://is.muni.cz/el/med/jaro2017/MBKH081p/Postupy_pro_vysetreni_kostni_drene_-_Mgr.pdf)
8. ČERMÁKOVÁ, Z. 2012. *Metody stanovení specifických bílkovin a jejich efektivní využití v klinické diagnostice monoklonálních gamapatií*. Brno. Disertační práce. Masarykova univerzita. Lékařská fakulta.
9. ČIHÁK, R., 2016. *Anatomie*. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3817-8.

10. FABER, E., 2012. *Základy hematologické diagnostiky*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 978-80-244-2935-9.
11. FABER, E., HÁJEK, R., 2019. *Diagnostika a léčba Waldenströmovy makroglobulinemie*. *Transfuze a hematologie dnes*, 25 (1), 7-33. ISSN 1213-5763.
12. GRANÁTOVÁ, J., BOLKOVÁ, M., FANTOVÁ, L., MAŠKOVÁ, Z., HORÁK, J., LÁNSKÁ, V., 2008. *Volné lehké řetězce imunoglobulinů u nemocných s renální insuficiencí*. *Klin. Biochem. Metab.*, 16(37), 106-110.
13. HAVEL, M., JELÍNEK, T., et al., 2023. *Standardizace PET/CT u pacientů s mnohočetným myelomem – Společné doporučení České myelomové skupiny a České společnosti nukleární medicíny*. *Transfuze a hematologie dnes*, 29(2), 148-152.
14. JELÍNEK, T., PLONKOVÁ, H., HÁJEK, R., 2013. *Plazmocelulární leukémie*. *Transfuze a hematologie dnes*, 19 (3), 152-162. ISSN 1213-5763.
15. JÍLEK, P., 2019. *Imunologie: stručně, jasně, přehledně*. 2., doplněné vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-0595-3.
16. KAČÍRKOVÁ, P., CAMPR, V., 2007. *Hematoonkologický atlas krve a kostní dřeně*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-1853-8.
17. KOČÁREK, E., PÁNEK, M., NOVOTNÁ, D., 2010. *Klinická cytogenetika I: úvod do klinické cytogenetiky*. 2. vydání. Praha: Karolinum. 134 s. ISBN 978-80-246-1880-7.
18. KODÍČEK, K., 2007. *Imunoglobuliny* [online]. VŠCHT Praha: Biochemické pojmy: výkladový slovník [cit.2024-01-23]. Dostupné z: [http://vydavatelství.vscht.cz/knihy/uid\\_es-002/ebook.html?p=imunoglobuliny](http://vydavatelství.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=imunoglobuliny)
19. KOVÁŘOVÁ, L., 2007. *Flowcytometrická analýza dendritických buněk osob s monoklonální gamapatií a mnohočetným myelomem*. *Klinická onkologie* 2008; 21: 249-252.
20. KUGLÍK, P., FILKOVÁ, H., et al. *Význam a současné možnosti diagnostiky cytogenetických změn u mnohočetného myelomu*. *Vnitřní lékařství*, 52(S2), 76-78. ISSN 0042-773X.

21. MAISNAR, V., HÁJEK, R., 2008. *Změny v diagnostických kritériích léčebné odpovědi u mnohočetného myelomu*. *Transfuze a hematologie dnes*, 14 (3), 119-123. ISSN 1213-5763.
22. MIKULENKOVÁ, D., et al., 2021. *Příprava a barvení nátěru periferní krve a aspirátu kostní dřeně včetně kontrolní činnosti: Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP* [online]. Praha: Česká hematologická společnost ČLS JEP [cit.2023-10-09]. Dostupné z: [https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporuceni\\_LS\\_CHS\\_CLS\\_JEP-Barveni\\_nateru\\_v01\\_rev01.pdf](https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Barveni_nateru_v01_rev01.pdf)
23. NEZBEDA, P., 2018. *Vápník, hořčík, fosfor, železo a stopové prvky*. *PO>STUDIUM* [online], Dostupný z [www: https://postudium.cz/course/view.php?id=447](http://www.postudium.cz/course/view.php?id=447). [cit. 2024-01-28]. ISSN 1803-8999.
24. PAIVA, B., VIDRIALES, MB., PÉREZ, JJ. et al., 2009. *Multiparameter flow cytometry quantification of bone marrow plasma cells at diagnosis provides more prognostic information than morphological assessment in myeloma patients*. *Haematologica*. 94(11):1599-1602. ISSN 0390-6078.
25. PECKA, M., 2006. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: FINIDR. ISBN 80-86682-02-1.
26. PENKA, M., SLAVÍČKOVÁ, E., et al., 2011. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3459-0.
27. PIERRO, A., POSA, A., et al. *Whole-Body Low-Dose Multidetector-Row CT in Multiple Myeloma*. *Guidance in Performing, Observing, and Interpreting the Imaging Findings*. *Life (Basel)*. 2021;11(12):1320. doi: 10.3390/life11121320. PMID: 34947851; PMCID: PMC8707516.
28. RACEK, J., c2006. *Klinická biochemie*. 2., přeprac. vyd. Praha: Galén. ISBN 80-7262-324-9.

29. RAJDL, D., 2022. *Močovina (P/S)*. Ústav klinické biochemie a hematologie [online]. Plzeň: FN Plzeň. [cit. 2024-04-07]. Dostupné z: <https://ukbh.fnplzen.cz/cs/node/988>
30. RAJDL, D., 2024. *Kreatinin (P/S)*. Ústav klinické biochemie a hematologie [online]. Plzeň: FN Plzeň. [cit. 2024-04-07]. Dostupné z: <https://ukbh.fnplzen.cz/cs/node/988>
31. RAJKUMAR, S, V., 2017. *Updated Diagnostic Criteria and Staging System for Multiple Myeloma*. American Society of Clinical Oncology Educational Book., e418-e423.  
doi: 10.1200/EDBK\_159009. PMID: 27249749.
32. ŘÍHOVÁ, L., 2013. *Přínos vyšetření klonality plazmocytů u monoklonálních gamapatií pomocí polychromatické průtokové cytometrie*. PO>STUDIUM [online], Dostupný z [www: https://postudium.cz/mod/data/view.php?d=13&mode=single&page=238&rid=219&filter=1](https://postudium.cz/mod/data/view.php?d=13&mode=single&page=238&rid=219&filter=1). [cit. 2024-01-23]. ISSN 1803-8999.
33. SANDECKÁ, V., POUR, L., ADAM, Z., KREJČÍ, M., ŠTORK, M., ŠEVČÍKOVÁ, S., KRÁL, Z., 2018. *Monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS)*. Klinická onkologie, 31(4), 270-276. ISSN 0862-495X.
34. *Serum Free Light Chain Analysis Plus Hevylite. Seventh*. Birmingham: The Binding Site Group Ltd, 2015. ISBN 978-0-9932196-0-3.
35. ŠÁLEK, T., 2008. Laboratorní diagnostika mnohočetného myelomu. *Kontakt*. 10 (9), 407-409. ISSN 1212-7299.
36. ŠČUDLA, V., ADAM, Z., 2006. *Diagnostický význam a úskalí hodnocení roztěrového preparátu kostní dřeně u mnohočetného myelomu*. Vnitřní lékařství, 52(S2), 55-66. ISSN 0042-773X.
37. ŠČUDLA, V., MINAŘÍK, J., et al., 2017. *Diferenciální diagnostika monoklonálních gamapatií z pohledu klinické praxe I. Maligní monoklonální gamapatie*. Interní medicína pro praxi, 19(5), 274-278. ISSN 1212-7299.

38. ŠOLCOVÁ, M., 2024. *Kyselina močová (P/S)*. Ústav klinické biochemie a hematologie [online]. Plzeň: FN Plzeň. [cit. 2024-04-07]. Dostupné z: <https://ukbh.fnplzen.cz/cs/node/988>
39. ŠPIČKA, I., c2005. *Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie*. Praha: Galén. ISBN 80-7262-330-3.
40. ŠTORK, M., 2020. *Novinky v léčbě mnohočetného myelomu*. Farmakoterapie, 16(3), 277-283. ISSN 1801-1209.
41. TICHÝ, M., MAISNAR, V., 2006. *Laboratorní průkaz monoklonálních imunoglobulinů*. Vnitřní lékařství, 52(S2), 41-45. ISSN 0042-773X.
42. VOKURKA, M., et al., 2007. *Velký lékařský slovník*. 7. vydání. Praha : Maxdorf. ISBN 978-80-7345-130-1.
43. VOSTRÝ, M., 2024. *Imunofixace (M-protein) (S)*. Ústav klinické biochemie a hematologie [online]. Plzeň: FN Plzeň. [cit. 2024-04-07]. Dostupné z: <https://ukbh.fnplzen.cz/cs/node/988>

## 10 Použité zkratky

B-J	Bence-Jonesova bílkovina
B2M	$\beta_2$ -mikroglobulin
clg-FISH	Selektivně imunofluorescenční značení pomocí protilátky
cm	Centimetr
CT	Výpočetní tomografie
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
ELFO	Elektroforéza sérových bílkovin
FACS/FC	Průtoková cytometrie
FLC	Volné lehké řetězce (Free Light Chains)
FN Plzeň	Fakultní nemocnice Plzeň
g	Gram
g/L	Gram na litr
Hb	Hemoglobin
HNO <sub>3</sub>	Kyselina dusičná
HOO	Hematoonkologické oddělení
IgA	Imunoglobulin typu A
IgD	Imunoglobulin typu D
IgE	Imunoglobulin typu E
IgG	Imunoglobulin typu G
IgM	Imunoglobulin typu M

ICHS	Ischemická choroba srdeční
IM	Infarkt myokardu
IMWG	International Myeloma Working Group
K/L	Poměr volných lehkých řetězců kappa/lambda
K <sub>2</sub> EDTA	Didraselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové
K <sub>3</sub> EDTA	Tridraselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové
KD	Kostní dřev
kg	Kilogram
KIS	Klinický informační systém
KO	Krevní obraz
L/K	Poměr volných lehkých řetězců lambda/kappa
LIS	Laboratorní informační systém
M-IgA	Monoklonální imunoglobulin typu A
M-IgG	Monoklonální imunoglobulin typu G
M4	Klinický informační systém Medicalc4
MACS	Magneticky aktivovaná separace buněk
MG	Monoklonální gamapatie
mg/L	Miligram na litr
MGUS	Monoklonální gamapatie nejasného významu
mL/min	Mililitr za minutu
MM	Mnohočetný myelom
mmol/L	Milimol na litr



MRI/MR	Magnetická resonance
Na <sub>2</sub> EDTA	Disodná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové
NK	Nukleové kyseliny
PET/CT	Pozitronová emisní tomografie kombi. s výpočetní tomografií
PK	Periferní krev
RTG	Rentgenové vyšetření
S-	Sérový-
S-Ca	Hladina vápníku v séru
SMM	Asymptomatický myelom (doutnající)
ÚKBH	Ústav klinické biochemie a hematologie
B	Plná krev (blood)
P/S	Plazma/sérum
BM	Kostní dřen (Bone marrow)
ÚLG	Ústav lékařské genetiky
VGPR	Velmi dobrá částečná odezva (Very Good Partial Response)
VLŘ	Volné lehké řetězce
μmol/L	Mikromol na litr