Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 174
proLékaře.cz | 10.11.2026

Standardizace biochemických laboratorních vyšetření u mnohočetného myelomu

Maisnar V.[1,2], Tichý M.[2,3], Hájek R.[2,4], Friedecký B.[3], Jarolímková E.[6], Vogtová D.[7], Kouřil F.[8], Ženková J.[9], Vávrová J.[3], Novotná H.[5], Benáková H.[6], Hachová L.[6], Kopřivová H.[7], Zábranská A.[8], Slabý P.[9], Palička V.[3], Čermáková Z.[5], Bezdíčková D.[6], Čechák P.[7]

[1]II. interní klinika – Oddělení klinické hematologie, LF UK a FN, Hradec Králové, [2]Česká myelomová skupina, [3]Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN, Hradec Králové, [4]Interní hematoonkologická klinika FN a LF MU, Brno – Bohunice, [5]Oddělení klinické biochemie a hematologie FN, Brno – Bohunice, [6]Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, VFN Praha, [7]Ústav biochemie a pathobiochemie, FN-KV, Praha, [8]Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc, [9]Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN Plzeň.

Souhrn

Cíl studie: **Standardizovat biochemická vyšetření v séru nemocných mnohočetným myelomem v souvislosti se zavedením nového mezinárodního prognostického indexu, který využívá jen dva laboratorní ukazatele, albumin a beta-2 mikroglobulin.** ***Typ studie:*** **Studie porovnává výsledky albuminu, beta-2 mikroglobulinu a částečně i koncentrace paraproteinu ze šesti hlavních spolupracujících center v rámci České myelomové skupiny, která koordinuje léčbu nemocných mnohočetným myelomem v ČR, za účelem harmonizace těchto vyšetření.** ***Materiál a metody:*** **K provedení studie byly vybrány laboratoře fakultních nemocnic – VFN Praha, Praha Vinohrady, FN Hradec Králové, FN Olomouc, FN Brno-Bohunice a FN Plzeň. Každý ze zasílaných vzorků sér byl rozdělen na 6 stejných dílů a zmražen při -80 °C. Transport vzorků do jednotlivých laboratoří byl proveden v chlazeném boxu a vzorky byly předány k uchování při nejméně –70 °C do dne stanovení. Celý projekt trval dva roky (2003–2005) a byl rozdělen na tři etapy. V první etapě byl standardizován albumin (metoda s bromkrezolovou zelení) a byla zjištěna nevhodnost stanovení beta-2 mikroglobulinu metodou RIA pro nesrovnatelnost získaných výsledků s ostatními metodami. Ve druhé etapě bylo standardizováno stanovení beta-2 mikroglobulinu, ale pro technické závady nebylo možné vzorky použít na stanovení koncentrace paraproteinů. Ve třetí etapě bylo rozesláno 12 vzorků sér vždy s jedním monoklonálním imunoglobulinem ke stanovení jeho koncentrace.** ***Výsledky:*** **Stanovení albuminu je dobře standardizováno, interval spolehlivosti pro 95 % se pohybuje mezi 5,9–6,1 % (toleranční limit je do 9 %). Metodickým sjednocením se podařilo dosáhnout srovnatelnosti výsledků stanovení beta-2 mikroglobulinu. Koeficient variace je ve všech stanoveních, kromě jednoho, do 15 % (toleranční limit je do 15,5 %). Stanovení koncentrace monoklonálních imunoglobulinů potvrdilo známou zkušenost, že toto stanovení nelze za stávajících metodik úplně sjednotit pro mnoho dílčích nejistých kroků. I přes tyto výhrady studie ukázala klinickou použitelnost a srovnatelnost výsledků z jednotlivých center u koncentrací nad 20 g/l.** ***Závěr:*** **Stanovení albuminu je dobře standardizováno a výsledky ze všech zúčastněných center jsou srovnatelné. Stanovení beta-2 mikroglobulinu, po metodickém sjednocení poskytuje srovnatelné výsledky bez významných rozdílů. Stanovení koncentrace monoklonálních imunoglobulinů poskytlo zejména ve vyšších koncentracích klinicky významných srovnatelné výsledky. Toto stanovení je nejvíce problematické, ale jde o sledování reaktivních změn každým pracovištěm, proto harmonizace výsledků není zatím aktuální ani reálná.**

Klíčová slova: mnohočetný myelom, monoklonální imunoglobulin, albumin, beta-2 mikroglobulin, standardizace

Summary

Maisnar V., Tichý M., Hájek R., Friedecký, B., et al.: The standardization of a biochemical laboratory determination of multiple myeloma

Objective: **The standardization of the biochemical measurement procedures in a blood serum of patients with multiple myeloma concerning an implementation of a new international prognostic index, which uses only two laboratory markers, albumin and beta-2 microglobulin.** ***Design:*** **The study compares results of albumin, beta-2 microglobulin and partly the concentration of paraproteins from six cooperative centers, which provide treatment of the multiple myeloma in the Czech Republic in order to integrate these investigations.** ***Material and Methods:*** **The laboratories of university hospitals – General University Hospital of Prague, University Hospital of Prague – Vinohrady, Hradec Králové, Olomouc, Brno – Bohunice and Plzeň have been chosen for the implementation of the study. Each control serum sample was divided into six same parts and was frozen at -80 °C. The transportation of the samples to the single laboratory was performed in a frozen box and the samples were stored at least at -70 °C till the date of determination. The whole project lasted two years and step by step it was divided into three periods (2003–2005). In the first period the determination of albumin was standardized and the unsuitability of the RIA method determination of beta-2 microglobulin with other methods was proofed. In the second period the determination of beta-2 microglobulin was standardized successfully, but because of some technical defects it was not possible to use the samples for the determination of paraproteins concentration. In the third period of the study 12 samples of blood serums were distributed, always with one monoclonal immunoglobulin to determine its concentration.** ***Results:*** **The determination of albumin is well standardized, a confidence interval for 95% is between 5.9–6.1% (tolerance limit for external quality assessments up to 9%). The unification of methods managed**

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 175
proLékaře.cz | 10.11.2026

a comparability of the results of beta-2 microglobulin. The variation coefficient is to the 15% (tolerance limit derived from biological variation of this analyte is up to 15.5%). The determination of monoclonal immunoglobulins concentration confirmed the known experience that it is impossible to consolidate the determination because of many partial uncertain steps. Nevertheless the study showed clinical usability and analytical comparability of the results from the single centers with the concentration of paraproteins over 20 g/l. ***Conclusion:*** **The determination of albumin is well standardized and the results from all laboratories are comparable. The determination of beta-2 microglobulin after a methodical unification provides comparable results without any significant differences. The determination of the monoclonal immunoglobulins concentration provided comparable results especially in concentrations higher than 20 g/l. This determination is mostly questionable, but it is concerned to monitor reactive changes by every laboratory, therefore the integration of the results has not been actual so far.**

Key words: multiple myeloma, monoclonal immunoglobulin, albumin, beta-2 microglobulin, standardization

Trans. Hemat. dnes, 12, 2006, No. 3, p. 174–179.

Úvod

V r. 2003 zahájila Česká myelomová skupina (CMG) standardizaci biochemických vyšetření u mnohočetného myelomu, jako reakci na zavedení nového mezinárodního prognostického indexu (IPI), který využívá pouze dva laboratorní parametry – albumin a beta-2 mikroglobulin.

Česká myelomová skupina je sdružení lékařů, vědeckých a odborných pracovníků, jejichž úkolem je výzkum, diagnostika a terapie nemoci zvané mnohočetný myelom. Byla založena v r. 2002 na podporu výzkumu a vývoje ve vymezeném úseku monoklonálních gamapatií. Organizuje společné studie, prosazuje moderní postupy v diagnostice a léčbě monoklonálních gamapatií do klinické praxe. Standardizace diagnostických postupů u mnohočetného myelomu patří k důležitým aktivitám České myelomové skupiny.

Protože klinické studie CMG běží v České republice v řadě center, ukázala se nutnost vyloučit možnost ovlivnění výsledků použitím různých laboratorních metodik. CMG ve spolupráci s Českou společností klinické biochemie se proto pokusila o standardizaci stanovení albuminu a beta-2 mikroglobulinu a o zjištění srovnatelnosti výsledků stanovení koncentrace monoklonálních imunoglobulinů (paraproteinů).

Metodika

Celý projekt standardizace biochemických laboratorních vyšetření u mnohočetného myelomu trval 2 roky (listopad 2003 – duben 2005) a postupně byl rozdělen do tří etap. Nejprve bylo zvoleno 6 center CMG, šlo o laboratoře fakultních nemocnic, FN Hradec Králové (A), VFN Praha (B), FN Praha Vinohrady (C), FN Olomouc (D), FN Brno Bohunice (E) a FN Plzeň (F). Ve všech fázích projektu byly vzorky krve standardně zpracované, každý z kontrolních vzorků séra byl rozdělen na 6 stejných dílů a stabilita byla zabezpečena jejich zmrazením na -80 °C. Transport vzorků do jednotlivých center byl proveden vždy ve stejném chlazeném polystyrenovém boxu (suchý led) do 3 hodin (měřeno od vytažení z boxu při -80 °C) a vzorky byly předány k uchování v jednotlivých centrech při nejméně -70 °C. Vzorky pak byly měřeny ve stejný den v duplikátech a případné interferenci fibrinu bylo zamezeno centrifugací séra před vlastní analýzou.

V první fázi projektu standardizace bylo do pěti center zasláno 11 blíže necharakterizovaných vzorků sér od nemocných mnohočetným myelomem k určení koncentrace albuminu a beta-2 mikroglobulinu.

K stanovení koncentrace albuminu v séru použily účastnické laboratoře fotometrickou metodu založenou na afinitě acidobazického indikátoru bromkrezolové zeleně (BCG) k specifickým vazebným místům albuminu při pH = 4,2. Tato metoda je standardizována již od r. 1972 (3).

Stanovení koncentrace beta-2 mikroglobulinu potvrdilo původní předpoklad, že výsledky budou ovlivněny použitím rozdílných metodik v jednotlivých spolupracujících centrech. Šlo o metody RIA (RadioImmunoAssay), MEIA (Microparticle Enzyme ImmunoAssay), LIA (LuminoImmunoAssay) a imunoturbidimetrii (TURB). Požadavek metodického sjednocení stanovení beta-2 mikroglobulinu vedl k organizaci 2. fáze projektu. Jako možné řešení bylo navrženo sjednocení analytických metod a zejména bylo doporučeno opustit metodu RIA na stanovení beta-2 mikroglobulinu. Ve 2. fázi projektu bylo rozesláno 25 vzorků sér pro lepší ověření srovnatelnosti jednotlivých center. Kromě určení koncentrace beta-2 mikroglobulinu bylo zadání doplněno ještě o stanovení koncentrace monoklonálního imunoglobulinu. Pro stanovení beta-2 mikroglobulinu 4 laboratoře fakultních nemocnic používají metodu LIA a přístroj Immulite 2000, jedna laboratoř používá metodu MEIA a přístroj AxSYM (Abbot) a ÚKBH FN Plzeň používá soupravy fy Roche, založené na imunoturbidimetrickém stanovení s měřením na přístroji Olympus AU 2700. Stanovení kvantity monoklonálních imunoglobulinů bylo pro technickou chybu při zadání vzorků nepoužitelné a vyvolalo potřebu 3. fáze standardizace biochemických vyšetření u nemocných mnohočetným myelomem. Kontrolní vzorky byly přesně definované, zásadně jen s jedním

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 176
proLékaře.cz | 10.11.2026

paraproteinem a rozesláno bylo celkem 12 vzorků sér. Metodicky bylo stanovení sjednocené na stanovení celkové bílkoviny séra s biuretovým činidlem s kvantitativním stanovením paraproteinu denzitometricky z elektroforézy bílkovin séra.

Výsledky

Stanovení albuminu, jak prokázala i 1. etapa našeho standardizačního projektu, je v České republice velmi dobře zajištěno. V České republice je prováděno externí hodnocení kvality stanovení koncentrace albuminu 6krát ročně, organizované SEKK s.r.o. Tomu odpovídá i úspěšné stanovení koncentrace albuminu v naší studii (tab. 1). Interval spolehlivosti pro 95 % se pohybuje mezi 1,3–3,0 % a koeficient variace mezi 2,4–5,8 %. Tyto výsledky ukazují, že stanovení albuminu odpovídá současným analytickým možnostem (toleranční limit je 9 %).

Výsledky beta-2 mikroglobulinu potvrdily původní podezření na možnost ovlivnění hodnot beta-2 mikroglobulinu různými metodami stanovení. Jako nesrovnatelná se ukázala metoda RIA (FN Hradec Králové), která dávala významně vyšší výsledky než LIA a MEIA (tab. 2).

Proto bylo rozhodnuto připravit nový cyklus kontrol o větším počtu vzorků a laboratořím bylo doporučeno nepoužívat ke stanovení beta-2 mikroglobulinu metodu RIA. Ve druhé fázi kontroly bylo rozesláno 25 vzorků sér od nemocných mnohočetným myelomem, na stanovení beta-2 mikroglobulinu a koncentrace paraproteinu. Pro technickou závadu nemohla být koncentrace paraproteinu hodnocena – pomíchané vzorky, vícečetné paraproteinemie, přítomnost monoklonálního kryoglobulinu.

Stanovení beta-2 mikroglobulinu (B2M) se podařilo v této 2. etapě metodicky sjednotit. Metoda RIA byla opuštěna a kromě FN Plzeň, která používá ke stanovení beta-2 mikroglobulinu imunoturbidimetrii (Roche), ostatní laboratoře používají CMG doporučené metody LIA a MEIA (VFN Praha).

Hodnoty koeficientu variace (CV%) ukazují, že výsledky beta-2 mikroglobulinu jsou ve všech spolupracujících centrech srovnatelné a vzájemně použitelné (tab. 3) a prakticky vždy jsou menší než toleranční limit 15,5 %, který odráží biologickou variabilitu tohoto analytu.

V březnu 2005 pak proběhla 3. fáze projektu standardizace, při které bylo rozesláno 12 vzorků sér nemocných monoklonálními gamapatiemi na stanovení koncentrace monoklonálních imunoglobulinů (tab. 4).

Tab. 1. Koncetrace albuminu (g/l).

Vzorek	A	B	D	E	F	x	SD	CV%	95%CI
1	22,0	22,5	23,1	22,8	21,4	22,4	0,67	3,0	1,3
2	49,2	47,9	50,8	51,2	49,8	49,8	1,31	2,6	3,0
3	46,8	46,4	49,1	48,3	50,2	48,0	1,58	3,3	2,9
4	35,1	34,6	36,6	35,8	36,4	35,6	0,84	2,3	2,1
5	48,6	47,4	50,6	49,6	51,0	49,3	1,19	2,4	3,0
6	43,0	42,7	44,6	45,4	45,9	44,2	1,42	3,2	2,7
7	48,8	47,5	50,7	51,3	53,5	50,1	2,93	5,8	3,0
8	42,5	41,8	44,8	42,7	44,8	43,2	1,39	3,2	2,6
9	48,3	47,9	51,1	49,7	51,3	49,5	1,56	3,1	3,0
10	39,3	38,8	41,8	40,9	41,8	40,4	1,40	3,4	2,4
11	40,5	40,0	42,8	41,8	41,8	41,3	1,12	2,7	2,5

Výsledky, průměrná hodnota, směrodatná odchylka (g/l), koeficient variace a interval spolehlivosti stanovení albuminu v zúčastněných laboratořích. (A = FN Hradec Králové, B = VFN Praha, D = FN Olomouc, E = FN Brno – Bohunice, F = FN Plzeň)

Tab. 2. Koncetrace beta-2 mikroglobulinu (mg/l).

Vzorek	A(RIA)	B(MEIA)	D(LIA)	E(LIA)	F(TURB)	x	SD	CV%	95%CI
1	9,75	5,3	7,05	5,52	7,43	7,01	1,60	22	1,40
2	2,2	1,24	1,88	1,35	1,64	1,66	0,35	21	0,31
3	1,83	1,02	1,45	1,07	1,4	1,35	0,29	19	0,26
4	4,71	2,57	3,49	2,98	3,97	3,54	0,75	21	0,66
5	8,21	4,84	6,13	4,89	6,58	6,13	1,24	20	1,09
6	2,47	1,4	1,95	1,54	2	1,73	0,38	22	0,33
7	1,98	1,05	1,7	1,3	1,64	1,53	0,32	21	0,28
8	5,81	3,21	4,05	3,23	4,64	4,18	0,97	23	0,85
9	3,63	2,16	2,92	2,21	2,99	2,78	0,55	20	0,48
10	10,7	5,9	6,77	6,05	7,71	7,42	1,76	24	1,54
11	3,2	1,74	2,24	1,83	2,45	2,29	0,52	23	0,46

Výsledky, průměrná hodnota, směrodatná odchylka (mg/l), koeficient variace a interval spolehlivosti beta-2 mikroglobulinu v laboratořích (1. fáze). (A = FN Hradec Králové, B = VFN Praha, D = FN Olomouc, E = FN Brno – Bohunice, F = FN Plzeň)

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 177
proLékaře.cz | 10.11.2026

Tab. 3. Koncentrace beta-2 mikroglobulinu (mg/l).

Vzorek	A (LIA)	B (MEIA)	C (LIA)	D (LIA)	E (LIA)	F (TURB)	x	SD	CV%	95%CI
1	1,85	1,54	1,77	1,84	1,67	2,27	1,82	0,23	12,6	0,18
2	4,65	4,51	4,48	4,48	3,75	5,55	4,57	0,53	11,6	0,42
3	2,27	2,06	2,10	2,09	1,86	2,75	2,19	0,28	12,8	0,22
4	1,95	1,69	1,99	1,98	1,49	2,36	1,91	0,27	14,1	0,22
5	3,70	2,93	3,38	3,06	2,88	4,10	3,34	0,44	13,2	0,35
6	5,00	4,23	4,72	4,39	3,79	5,64	4,63	0,59	12,7	0,47
7	4,50	3,83	4,13	3,90	3,34	5,13	4,14	0,56	13,5	0,45
8	2,27	2,02	2,34	2,11	1,91	2,82	2,24	0,29	12,9	0,24
9	2,02	1,71	1,86	1,84	1,58	2,32	1,89	0,24	12,7	0,19
10	3,16	2,59	2,99	2,78	2,32	3,66	2,92	0,43	14,7	0,34
11	2,32	1,89	2,12	2,01	1,68	2,68	2,12	0,32	15,1	0,26
12	4,32	4,09	3,89	3,78	3,18	4,80	4,01	0,50	12,5	0,40
13	3,91	3,88	3,69	3,77	3,14	4,81	3,86	0,49	12,7	0,39
14	2,19	1,63	2,27	2,35	1,80	2,83	2,18	0,39	17,9	0,31
15	1,55	1,28	1,49	1,44	1,20	1,70	1,44	0,17	11,8	0,13
16	1,77	1,46	1,80	1,63	1,54	2,99	1,86	0,18	9,7	0,14
17	1,47	1,17	1,46	1,41	1,16	1,46	1,35	0,14	10,4	0,11
18	2,30	1,92	2,21	2,20	1,84	2,83	2,22	0,32	14,4	0,26
19	2,74	2,40	2,76	2,62	2,14	3,38	2,67	0,38	14,2	0,31
20	4,92	3,96	4,39	4,13	3,54	5,15	4,35	0,55	12,6	0,44
21	3,79	3,52	3,64	3,71	2,93	4,62	3,70	0,50	13,5	0,40
22	1,77	1,29	1,60	1,52	1,39	1,76	1,55	0,18	11,6	0,14
23	3,21	2,88	2,96	2,68	2,42	3,62	2,96	0,38	12,8	0,31
24	2,97	2,74	2,97	3,04	2,51	3,58	2,97	0,33	11,1	0,26
25	3,12	2,58	2,99	2,82	2,46	3,51	2,91	0,35	12,0	0,28

Výsledky, průměrná hodnota, směrodatná odchylka (mg/l), koeficient variace a interval spolehlivosti stanovení beta-2 mikroglobulinu v laboratořích (2. fáze). (A = FN Hradec Králové, B = VFN Praha, D = FN Olomouc, E = FN Brno – Bohunice, F = FN Plzeň)

Tab. 4. Koncentrace monoklonálních imunoglobulinů (g/l).

Vzorek	A	B	C	D	E	F	x	SD	CV%	95%CI
1	6,00	3,70	9,10	6,40	13,10	10,00	8,05	3,60	44,7	2,45
2	6,33	4,60	5,50	4,90	8,00	7,30	6,1	1,24	20,3	0,99
3	9,51	7,60	7,80	8,10	11,10	9,90	9,0	1,27	14,1	1,02
4	9,82	6,70	6,50	4,20	8,10	9,10	7,4	1,86	25,1	1,49
5	16,38	18,90	16,70	15,50	18,50	18,50	17,4	1,28	7,3	1,02
6	20,83	16,10	12,30	11,10	14,30	17,20	15,3	3,23	21,1	2,58
7	22,76	21,30	20,90	21,10	21,10	23,20	21,7	0,90	4,1	0,72
8	24,22	25,50	19,30	20,70	23,80	22,30	22,6	2,12	9,4	1,70
9	31,15	26,70	22,40	20,50	27,60	27,10	25,9	3,51	13,5	2,81
10	35,00	32,50	36,40	35,70	36,20	38,90	35,8	1,90	5,3	1,52
11	37,32	34,90	37,20	36,00	36,40	39,60	36,9	1,45	3,9	1,16
12	43,88	42,60	42,60	39,00	45,10	45,00	43,03	2,06	5,15	1,65

Výsledky, průměrná hodnota, směrodatná odchylka (mg/l), koeficient variace a interval spolehlivosti stanovení monoklonálního imunoglobulinu v zúčastněných laboratořích. (A = FN Hradec Králové, B = VFN Praha, D = FN Olomouc, E = FN Brno – Bohunice, F = FN Plzeň)

Hodnoty do 20 g/l vykazují podle očekávání větší rozptyl. Výsledky koncentrací paraproteinů nad 20 g/l poskytly srovnatelné výsledky, což je důležité z pohledu potřeb diagnostiky MM pomocí stále používaných klasifikačních kritérií Durie-Salmona (4).

Diskuse

Monoklonální gamapatie jsou definovány jako velmi heterogenní skupina onemocnění, maligních i benigních, které jsou charakterizovány přítomností monoklonálního imunoglobulinu v séru a/nebo v moči (1, 9). Klinicky nejvýznamnější maligní monoklonální gamapatií je mnohočetný myelom (MM), jehož podstatou je maligní mutace B-lymfocytu. Prognóza nemocných mnohočetným myelomem je velmi variabilní. Medián přežití je mezi 3–4 roky s rozpětím od méně než 6 měsíců až do více než 10 let. Tato variabilita se odvíjí od heterogenity biologie myelomových buněk a od individuální variability každého nemocného. Znalost všech faktorů spojených s prognózou je rozhodující pro kritické zhodnocení one-

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 178
proLékaře.cz | 10.11.2026

mocnění, určení rizikových skupin a optimalizaci léčby nemocného. Po několik desetiletí jsou pro stanovení diagnózy MM a klinického stadia MM celosvětově používána kritéria podle Durieho a Salmona (4). V roce 2003 byla publikována nová verze diagnostických a prognostických kritérií podle International Myeloma Working Group (2, 5). Tato kritéria uvádí řadu nepříznivých prognostických faktorů klinických, rutinních laboratorních testů a speciálních testů. Z těchto faktorů pak Greipp, San Miguel a spolupracovníci (6) vybrali jako nejjednodušší a s největší výpovědní silou, kombinaci albuminu a B2M. Tento nový „International Staging System (ISS)" rozlišuje u MM tato stadia: I. B2M je pod 3,5 mg/l a albumin je vyšší než 35 g/l (medián přežití je 62 měsíců), II. hodnoty mezi stadii I. a III. (medián přežití je 44 měsíců), a III. B2M je vyšší než 5,5 mg/l (medián přežití je 29 měsíců). Zavádění tohoto nového stratifikačního systému do klinické praxe vedlo CMG, s ohledem na využití ISS pro potřebu srovnatelnosti výsledků jednotlivých spolupracujících center, k vypracování studie, která měla zjistit možnost ovlivnění výsledků použitím různých laboratorních metod, a tyto metody pokud možno sjednotit.

Stanovení koncentrace albuminu potvrdilo očekávání, že jde o jednu z nejlépe standardizovaných biochemických metod. Od r. 1994 je celosvětově zaveden certifikovaný referenční materiál BCR CR M-470, který zajistil, že jednotliví výrobci diagnostických souprav používají společně k odvození hodnot svých kalibrátorů právě tento materiál. Díky této skutečnosti jsou výsledky stanovení albuminu dobře srovnatelné v celosvětové dimenzi (11). V České republice je organizováno externí hodnocení kvality stanovení albuminu 6× ročně organizací SEKK s.r.o. V roce 2004 bylo pro koncentrace 31–46 g/l dosaženo mezilaboratorní reprodukovatelnosti v intervalu 3,1–3,9 %, s mediánem 3,3 % (http://www.sekk.cz). To svědčí o faktu, že srovnatelnost stanovení albuminu i v českých klinických laboratořích je na dobré úrovni. Ke stejnému závěru jsme dospěli i v naší studii, kdy albumin byl potvrzen jako bezproblémový již v první fázi standardizační studie.

B2M byl poprvé izolován v roce 1968 z moči nemocných Wilsonovou chorobou a otravou kadmiem. B2M je globulární protein, tvořený jednoduchým řetězcem složeným ze 100 aminokyselin s jedním disulfidickým můstkem a s molekulovou hmotností 11 800 daltonů. B2M tvoří lehký řetězec lidského leukocytárního antigenu HLA 1. třídy. Jeho sekvence a trojrozměrná struktura vykazují homologii s konstantní částí těžkého a lehkého řetězce imunoglobulinů. Zvýšená koncentrace v séru při normální glomerulární filtraci ukazuje na zvýšenou tvorbu nebo uvolňování B2M, které nacházíme u lymfoproliferativních onemocnění, tedy i u mnohočetného myelomu (8). Stanovení je prováděno za pomoci různých imunochemických metod – RIA, imunoturbidimetrií, LIA a MEIA. V první fázi standardizace se ukázalo, že původní podezření na možné ovlivnění výsledků použitou metodou je oprávněné. Jako naprosto nevhodná a s ostatními imunochemickými metodami dávající prakticky nesrovnatelné výsledky se v naší studii ukázala metoda RIA. Po metodickém sjednocení bylo v další fázi studie konstatováno, že výsledky B2M ze všech 6 zúčastněných center jsou srovnatelné a vzájemně použitelné.

V této druhé fázi projektu standardizace biochemických laboratorních vyšetření u MM byl učiněn pokus o stanovení koncentrace monoklonálních imunoglobulinů, který však ztroskotal na technických závadách a výsledky byly nepoužitelné. Přesto přinesl zajímavou zkušenost. V této sérii vzorků byl přítomen také monoklonální imunoglobulin IgG-kappa s kryoprecipitačními vlastnostmi a výsledky stanovení jeho koncentrace jsou velmi poučné. Jen dvě pracoviště zjistila, že jde o kryoglobulin a ošetřila séra před stanovením celkové bílkoviny a imunofixace merkaptoetanolem. Bez této úpravy byly stanoveny naprosto nesrovnatelné výsledky. Hodnota koncentrace celkové bílkoviny po ošetření merkaptoetanolem byla 124 g/l a monoklonálního imunoglobulinu 61 g/l. Použití nativního séra bez ošetření vedlo k získání asi poloviční hodnot koncentrace celkové bílkoviny. Hodnota koncentrace monoklonálního imunoglobulinu kolísala v rozpětí mezi 6–36 g/l. Všechna séra s paraproteinem by proto měla být screeningově před stanovením koncentrace monoklonálního imunoglobulinu vyšetřena na přítomnost kryoglobulinu (10). K tomu stačí séra ponechat přes noc v ledničce při 4–8 °C a následně prohlédnout na přítomnost kryoprecipitátu.

Ve třetí fázi projektu bylo rozesláno 12 vzorků vždy s jedním paraproteinem na stanovení jeho koncentrace. Po rozdělení výsledků na dvě skupiny, koncentrace paraproteinu do 20 g/l a nad 20 g/l se podle očekávání ukázalo, že výsledky nižších koncentrací jsou zatíženy větší chybou, než je tomu u koncentrací vyšších, přitom ale všechny jsou klinicky použitelné. Toto vyšetření nelze úplně sjednotit pro mnoho dílčích nejistých kroků. Problémy stanovení koncentrace monoklonálních imunoglobulinů můžeme shrnout: 1. do stanovení vstupuje nejistota měření celkové bílkoviny séra, 2. výsledky jsou ovlivněny zvolenou elektroforetickou metodou (agaróza, acetylovaná celulóza, kapilární elektroforéza), 3. významnou roli může hrát přístrojové vybavení – např. použitý denzitometr, 4. detekce M-gradientu je subjektivní, plně závisí na zvyklostech pracoviště a osobní zkušenosti odečítajícího pracovníka, a za 5. je to překrývání M-gradientu v elektroforeogramu s jinými proteiny v dané zóně, které mohou zkreslit výsledek stanovení (7).

Jsme si vědomi toho, že při sledování koncentrace paraproteinu jde především o monitorování dynamiky relativních změn a to je nutné provádět vždy na stejném pracovišti, stejnými osobami, pokud možno při stejném přístrojovém vybavení. I přes tyto výhrady však studie ukázala klinickou použitelnost výsledků kvantity paraproteinů, zejména u vyšších koncentrací. O určitou standardizaci stanovení koncentrace paraproteinů se snaží i kontrolní cyklus SEKK „Gamapatie", při kterém je ale toto stanovení nepovinné.

Standardizace biochemických vyšetřovacích metod

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 179
proLékaře.cz | 10.11.2026

u nemocných mnohočetným myelomem se ukázala jako velmi potřebná a užitečná. V šesti centrech léčby nemocných mnohočetným myelomem se podařilo během dvou let harmonizovat vyšetření albuminu a B2M v séru a získat cenné zkušenosti se stanovením a porovnatelností výsledků koncentrací monoklonálních imunoglobulinů.

Literatura

1. **Adam Z, Hájek R, Mayer J, Ščudla, V, Vorlíček, J.** Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie. Masarykova Univerzita, Brno 1999, p. 370, Vydání 1.
2. **Adam Z, Gregora E, Hájek R, et al.** Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu. Transf Hemat dnes 2003; 9(Suppl 1): 3–33.
3. **Doumas BT, Biggs HG.** Determination of serum albumin. Standard Methods. Clin Chem 1972; 7: 175–188.
4. **Durie BGM, Salmon SE.** A clinical staying system for multiple myeloma: Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment and survival. Cancer 1975; 36: 842–854.
5. **Greipp PR, San Miguel JF, Fonseca R, Avet-Loiseau H, Jacobson JL, Rasmussen E, Crowley JJ, Durie BGM.** Development of an international prognostic index (IPI) for myeloma: Report of the International myeloma working group. The Hematology Journal 2003; 4(Suppl I): S42–S44.
6. **Greipp PR, San Miguel JF, Durie BGM, et al.** International staging system for multiple myeloma. J Clin Oncol 2005; 23: 1–9.
7. **Králová E, Nováková H.** Problémy kvantitativního stanovení monoklonálních imunoglobulinů v séru. Klin Biochem Metab 1999; 7(28:): 149–152.
8. **Morell A, Riesen W.** Serum B_2-microglobulin, serum creatinine and bone marrow plasma cells in benign and malignant monoclonal gammopathy. Acta Haematol 1980; 64: 87–93.
9. **Tichý M, Urban P, Matěja F, Hrnčíř Z, Plíšková L, Mraček J.** Laboratorní analýza souboru 3049 monoklonálních imunoglobulinů (paraproteinů). Klin Biochem Metab 2002; 10(31): 257–261.
10. **Tichý M, Hrnčíř Z, Urban P, Matěja F.** Monoklonální kryoglobuliny. Klin Biochem Metab 2004; 12(33): 84–87.
11. **Whicker JT, Ritchie RF, Johnson AM, et al.** New International reference preparation for proteins in human serum. Clin Chem 1994; 40: 934–938.

MUDr. Vladimír Maisnar, Ph.D.
II. interní klinika – OKH LF UK a FN
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: maisnar@fnhk.cz

Došlo do redakce: 5. 5. 2006
Přijato: 17. 7. 2006

Tento článek byl již publikován v časopise Klinická biochemie, vzhledem k významu tématu byl přijat i redakcí časopisu Transfuze a hematologie dnes.

Clinical factors predictive of outcome with bortezomib in patiens with relapsed, refraktory multiple myeloma
Paul Gererd Guy Richardson, Bart Barlogie, et al. for the SUMMIT Investigators
Blood, 1 November 2005, Volume 106, Numer 9, p. 2977–2981

Prognostické faktory mohou být užitečné pro vyhledání vhodných pacientů s mnohočetným myelomem pro určité modality terapie. Předmětem této studie je analýza základních demografických a klinických dat u souboru nemocných s relaxujícím a refrakterním mnohočetným myelomem, kteří byli léčeni inhibitorem proteasomu – bortezomibem. Jde o otevřenou multicentrickou studii fáze II SUMMIT (Study of Uncotrolled Myeloma Manager with Proteasome Inhibitor Therapy). Do studie bylo zařazeno 202 pacientů s relaxujícím a refrakterním mnohočetným myelomem, kteří již byli intenzivně předléčeni v průměru 6 předchozími způsoby léčby, minimálně dvěma (rozmezí 2–15). 91 % bylo refrakterní na terapii předcházející podání bortezomibu. Hodnotitelných nemocných bylo 193. Monoterapie bortezomibem spočívala v podání dávky 1,3 mg/m^2 jako i.v. bolus 3 až 5 sekund a to 2x týdně po 2 týdny v 3týdenním cyklu až do 8 cyklů. Je uveden systém léčby a sledování v průběhu cyklů a hodnocení odpovědi podle kritérií Evropské skupiny pro krev a transplantaci dřeně. Univariantní analýzou je vyhodnocena významnost demografických faktorů, charakteristik nemoci a předchozí léčba ve vztahu k odpovědi na bortezomib (procento kompletní odpovědi a částečné odpovědi). Ke kompletní nebo částečné odpovědi došlo ve 27 % (53 ze 193 pacientů). Odpověď nebyla významně vázána na pohlaví, rasu, tělesný povrch, Karnofoskyho skóre, počet a typ dřívější terapie, typ myelomu, deleci chromosomu 13, hemoglobin nebo koncentraci beta-2-mikroglobulinu. V multivariantní analýze byly signifikantně spojeny s nižší četností odpovědi pouze na dva faktory – věk vyšší než 65 let a infiltrace kostní dřeně větší než 50 %. Střední doba do odpovědi v této studii byla 1,3 měsíce, přibližně 2 cykly. Při dalším sledování bylo střední trvání odpovědi 12,7 měsíců, střední doba do progrese u všech pacientů 7,0 měsíců a průměrné celkové přežití 17,0 měsíců. Statistická vyhodnocení dalších sledovaných parametrů zahrnutých do studie je podrobně uvedeno a podrobeno diskusi. I když starší pacienti měli nižší podíl odpovědi na bortezomib, trvání odpovědi a celkové přežití nebyly negativně ovlivněny. Další běžící studie (fáze 3, APEX – randomizovaná studie – Assessment of Proteasone Inhibitor for Extending Remissions) přinese další podklady ve vztahu k prognostickým faktorům nejen při terapii bortezomibem, ale také ve směru k racionálním kombinacím.

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.
FN Motol Praha