

Detekce monoklonálních volných lehkých řetězců imunoglobulinů metodou izoelektrické fokusace s následným afinitním imunoblottingem

Vilímová K.¹, Kušnierová P.^{1, 2}

¹ Ústav laboratorní medicíny, Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Ostrava, Ostrava

² Ústav laboratorní medicíny, Lékařská fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava

SOUHRN

Cíle práce: Cílem práce bylo posouzení základních analytických charakteristik metody (IEF/AIB) k detekci monoklonálních volných lehkých řetězců (FLC), vzájemné porovnání s rutinně dostupnými metodami a její využití při rozlišení monoklonálního, resp. oligoklonálního charakteru volných lehkých řetězců.

Metodika: Do studie bylo zařazeno celkem 94 vzorků séra a moči pacientů z různých odborných ambulancí Moravskoslezského kraje s podezřením na monoklonální gamapatie. K průkazu monoklonální komponenty byla využita elektroforéza sérových proteinů, imunofixační elektroforéza a IEF/AIF. Ke statistickému zpracování dat byl použit program MS Excel a MedCalc.

Výsledky: IEF/AIB je vysoce citlivá metoda, jejíž mez kvantifikace se pohybuje okolo 0,025 mg/L pro FLC kappa a 0,25 mg/L pro FLC lambda, na rozdíl od elektroforézy sérových proteinů a imunofixační elektroforézy. Při posuzování metod na základě shody klinické interpretace bylo 100% shody ($\kappa = 1,0$) dosaženo mezi metodami IMF a IEF/AIB pro průkaz monoklonálních volných lehkých řetězců v séru a 92,6%, resp. 94,4% shody pro průkaz monoklonálních volných lehkých řetězců kappa, resp. lambda v moči ($\kappa = 0,844$, resp. 0,886). Srovnáním výsledků pacientů s prokázaným oligoklonálním profilem volných lehkých řetězců kappa, resp. lambda metodou IMF s IEF/AIB bylo získáno 75%, resp. 68,8% shody ($\kappa = 0,215$, resp. 0,076), z čehož plyne, že metodou IEF/AIB se podařilo u 25 %, resp. 30,2 % vzorků prokázat monoklonální volné lehké řetězce v séru, které metodou IMF byly chybně interpretovány jako oligoklonální profil.

Závěr: Metoda izoelektrické fokusace s následným afinitním imunoblottingem je vysoce senzitivní metoda umožňující odhalit přítomný monoklonální imunoglobulin při negativitě elektroforézy sérových proteinů a imunofixační elektroforézy či rozlišit mezi monoklonálním a oligoklonálním profilem volných lehkých řetězců imunoglobulinů.

Klíčová slova: monoklonální imunoglobulin, oligoklonální profil, elektroforéza sérových proteinů, imunofixační elektroforéza, izoelektrická fokusace s následným afinitním imunoblottingem.

SUMMARY

Vilímová K., Kušnierová P.: Detection of monoclonal free light chains of immunoglobulins by the method of isoelectric focusing followed by affinity immunoblotting

Objective: The aim of the study was to assess the basic analytical characteristics of the isoelectric focusing followed by affinity immunoblotting (IEF/AIB) method for the detection of monoclonal free light chains (FLC), its comparison with routinely available methods and its use in distinguishing monoclonal or oligoclonal character of free light chains.

Methods: A total of 94 serum and urine samples of patients from various specialist outpatient clinics in the Moravian-Silesian Region with suspected monoclonal gammopathy were included in the study. Serum protein electrophoresis, immunofixation electrophoresis and IEF/AIF were used to detect the monoclonal component. MS Excel and MedCalc software were used for statistical data processing.

Results: The IEF/AIB is a highly sensitive method with a limit of quantification of around 0.025 mg/L for FLC kappa and 0.25 mg/L for FLC lambda, in contrast to serum protein electrophoresis and immunofixation electrophoresis. When assessing the methods on the basis of agreement of clinical interpretation, 100% agreement ($\kappa = 1.0$) was achieved between IMF and IEF/AIB methods for the detection of monoclonal free light chains in serum and 92.6% and 94.4% for the detection of monoclonal free light chains kappa and lambda in urine ($\kappa = 0.844$ respectively 0.886). Comparing the results of patients with a proven oligoclonal kappa and lambda free light chain profile by IMF with IEF/AIB, 75% respectively 68.8% agreement was obtained ($\kappa = 0.215$ respectively 0.076), indicating that the IEF/AIB method was able to detect monoclonal serum free light chains in 25 % respectively 30.2 % of samples, which were misinterpreted as oligoclonal profiles by the IMF method.

Conclusion: The method of isoelectric focusing followed by affinity immunoblotting is a highly sensitive method that can detect the presence of monoclonal immunoglobulin when serum protein electrophoresis and immunofixation electrophoresis are negative or distinguish between monoclonal and oligoclonal immunoglobulin free light chain profiles.

Keywords: monoclonal immunoglobulin, oligoclonal profile, serum protein electrophoresis, immunofixation electrophoresis, isoelectric focusing followed by affinity immunoblotting.

Úvod

Laboratorní diagnostika monoklonálních gamapatií zahrnuje mimo jiné elektroforetické a imunofixační metody sloužící k průkazu, kvantifikaci a typizaci monoklonálního imunoglobulinu. Tyto metody jsou doplňovány o imunonefelometrické či imunoturbidimetrické stanovení koncentrace volných lehkých řetězců imunoglobulinů κ (FLC kappa) a volných lehkých řetězců imunoglobulinů λ (FLC lambda) a dále o výpočet poměru volných lehkých řetězců kappa k volným lehkým řetězcům lambda, tzv. FLC ratio. Tyto metody umožňují na základě rozdílné citlivosti detekovat monoklonální imunoglobulin v různých stádiích onemocnění a současně jsou využívány k monitorování úspěšnosti terapie a samozřejmě i relapsu choroby [1]. Nicméně se občas setkáme se vzorky pacientů s negativním nálezem na elektroforeogramu či imunofixační elektroforéze, ale mírně zvýšeným poměrem FLC ratio. Zde nastává otázka, zda toto zvýšení souvisí s monoklonální gamapatií nebo s postižením funkce ledvin, u nichž byly publikovány vyšší hodnoty FLC ratio. Vysoce citlivou metodou umožňující odhalit monoklonální povahu zvláště volných lehkých řetězců imunoglobulinů se jeví izoelektrická fokusace s následným afinitním imunoblottingem.

Cílem této studie bylo posouzení základních analytických charakteristik metody izoelektrické fokusace s následným afinitním imunoblottingem (IEF/AIB) k detekci monoklonálních volných lehkých řetězců imunoglobulinů, vzájemné porovnání s rutinně dostupnými metodami a její využití při rozlišení monoklonálního, resp. oligoklonálního charakteru volných lehkých řetězců imunoglobulinů.

Materiál a metody

Do studie bylo zařazeno celkem 94 vzorků séra a moči pacientů z různých odborných ambulancí Moravskoslezského kraje. Byly vytvořeny dva soubory pacientů. První skupinu tvořili pacienti s podezřením na monoklonální gamapatií nejasného významu (MGUS) a mnohočetný myelom (MM), u nichž byly imunofixační elektroforézou v séru či moči detekovány monoklonální volné lehké řetězce (FLC kappa či FLC lambda). Druhou skupinu tvořili pacienti s již diagnostikovaným a léčeným MM, u nichž byl výsledek imunofixační elektroforézy uzavřen jako oligoklonální profil. Data byla zpracována se souhlasem etické komise číslo 261/2024.

Volné lehké řetězce imunoglobulinů byly detekovány s využitím elektroforézy sérových proteinů (Hydrigel 30 β 1- β 2, kat. č. S-4144, SEBIA Czech republic, s. r. o.) a imunofixační elektroforézy (HYDRAGEL 4 IF, kat. č. S-4304; SEBIA, Czech republic, s. r. o.) na analyzátoru Hydrasys 2Scan Focusing. IEF/AIF (in house metoda) byla provedena za použití přístroje EDC Flatbed Professional (Electrophoresis Development and Consulting, Tübingen, Německo) na polyakrylamidových gelech. Afinitní imunoblotting byl realizován tak, jak bylo popsáno dříve [2] (Zeman et al., 2016).

Ke zpracování naměřených dat byl využit program

MedCalc Statistical Software a MS Excel. Mez stanovitelnosti u dat naměřených pomocí nefelometrie a turbidimetrie byla stanovena přímým odečtem z kalibrační křivky. Shoda klinické interpretace výsledků elektroforézy, imunofixační elektroforézy a izoelektrické fokusace s následným afinitním imunoblottingem byla vyhodnocena na základě kappa statistiky.

Výsledky

Meze detekce a stanovitelnosti pro jednotlivé metody jsou uvedeny v Tabulce 1. V případě nefelometrického a turbidimetrického stanovení FLC kappa a FLC lambda byly hodnoty meze stanovitelnosti vypočteny přímou metodou z kalibrační křivky jednotlivých analytů. V případě elektroforézy bílkovin a imunofixace byla mez detekce stanovena pomocí komerčně dodané kontroly Native Human Kappa Light Chain (kat. č. PHP280, Bio-Rad, spol. sr. o.). V případě této kontroly je nutné vzít v potaz fakt, že tato kontrola na rozdíl od běžných (patientských) vzorků postrádala signál odpovídající polyklonálním imunoglobulinům. Meze detekce a stanovitelnosti uváděné výrobcí byly zjištěny z příbalových letáků dodaných reagentů.

Výsledky porovnání rutinních metod průkazu monoklonálních imunoglobulinů s vysoce citlivou metodou, izoelektrickou fokusací s následným afinitním imunoblottingem, jsou uvedeny v Tabulce 2, obr. 1-4. Metodou ELFO byl detekován monoklonální imunoglobulin pouze u 50 % vzorků séra a 42,6 % vzorků moči. Metodou IEF/AIB byl naopak monoklonální imunoglobulin detekován u 100 % vzorků. Příkladem je obr. 1. V případě elektroforézy séra pacienta nebyl detekován monoklonální imunoglobulin. Zároveň citlivější metoda IMF prokázala volné lehké řetězce lambda. Tyto výsledky byly potvrzeny metodou IEF/AIB, která rovněž prokázala přítomnost FLC lambda a současně absenci FLC kappa. Ve shodě s těmito výsledky je poměr lehkých řetězců kappa a lambda (FLC ratio), který je ve prospěch FLC lambda.

Příkladem, kdy můžeme pozorovat vyšší citlivost metody IEF/AIB oproti ELFO a IMF, je obr. 3. Negativní nálezy na ELFO moči. Současně byl v rámci IMF nalezen dvojitý gradient v zóně FLC lambda. Metodou IEF/AIB byla pozorována pozitivita FLC kappa i FLC lambda. Metoda IEF/AIB díky své vyšší citlivosti tak detekovala FLC kappa dříve, než metoda ELFO a IMF.

Při využití vysoce citlivé metody IEF/AIB v rozhodování o monoklonálním, resp. oligoklonálním profilu pacientů byl pozitivní výsledek prokázán u 44 z 96 testovaných vzorků, což odpovídá přibližně 46 %. Výsledky této analýzy jsou přehledně znázorněny v Tabulce 3.

Výsledky kvalitativní analýzy byly porovnány na základě shody klinické interpretace kappa statistiky. Při porovnání výsledků průkazu monoklonálních volných lehkých řetězců metodami IMF a IEF/AIB bylo dosaženo 100% shody, tedy výsledky pozitivní na IMF byly pozitivní i na IEF/AIB, a naopak výsledky negativní na

Table 1. Limit of detection and limit of quantification of selected methods used for the detection of monoclonal immunoglobulins.

Method	Limit of detection * and limit of quantification **	
	Diagnostic kit manufacturer's data	ILM, DCB, UHO
ELFO *, 1	210–440 mg/L	100 mg/L
IMF *, 1	120–250 mg/L	50 mg/L
IEF/AIB kappa *, 2	-	0.025 mg/L
IEF/AIB lambda *, 2	-	0.25 mg/L
FLC kappa T **	0.6 mg/L	2.88 mg/L
FLC lambda T **	1.3 mg/L	8.98 mg/L
FLC kappa N **	0.18 mg/L	0.025 mg/L
FLC lambda N **	0.48 mg/L	0.238 mg/L

ELFO, electrophoresis of serum proteins; IMF, immunofixation electrophoresis; IEF/AIB, isoelectric focusing; FLC, free light chains; T, turbidimetry; N, nephelometry; 1, detection limit may vary depending on the location of the monoclonal component, the level of polyclonal background in the gamma zone, and the dye used (amide black or acid violet); 2, in house method; *, limit of detection; **, limit of quantification; ILM, Institute of Laboratory Medicine; DCB, Department of Clinical Biochemistry; UHO, University Hospital Ostrava

Table 2. Summary of results of qualitative analysis of monoclonal free light chains in serum and urine.

Biological sample	ELFO (pos/neg)*	IMF (pos/neg)*	IEF/AIB (pos/neg)*
Serum (n = 40)	20/20	40/0	40/0
Urine (n = 54)	23/54	54/0	54/0

* pos, demonstration of monoclonal component; neg, monoclonal component not demonstrated

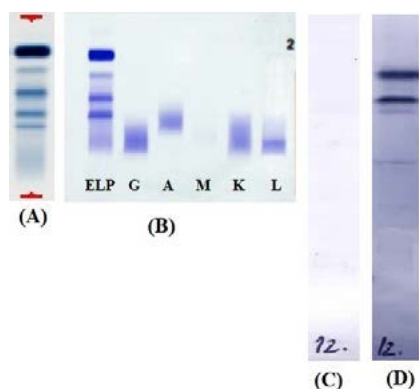


Fig. 1: Results of serum testing. (A) negative result of electrophoretic detection; (B) immunofixation detection of free lambda light chains (B); (C) negative finding on IEF/AIB for free kappa light chains; (D) presence of free lambda light chains. Serum FLC kappa 12.7 mg/L; serum FLC lambda 527.5 mg/L.

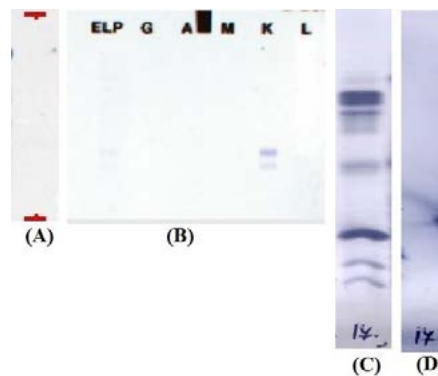


Fig. 2: The result of the urinalysis. (A) negative result of electrophoretic detection; (B) immunofixation detection of free kappa light chains (double gradient); (C) positive finding for IEF/AIB on detection of free kappa light chains; (D) negative finding for IEF/AIB on detection of free lambda light chains.

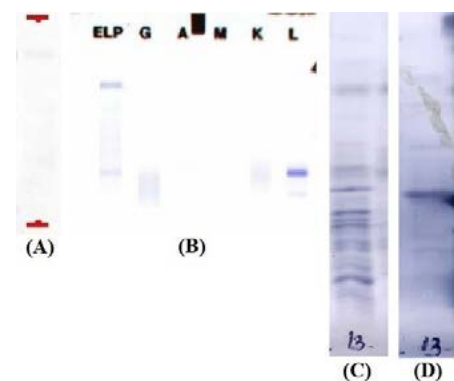


Fig. 3: The result of the urinalysis. (A) negative result of electrophoretic detection; (B) immunofixation detection of free lambda light chains (double gradient); (C) positive finding for IEF/AIB on detection of free kappa light chains; (D) positive finding for IEF/AIB on detection of free lambda light chains. CB (U) = 0.126 g/L.

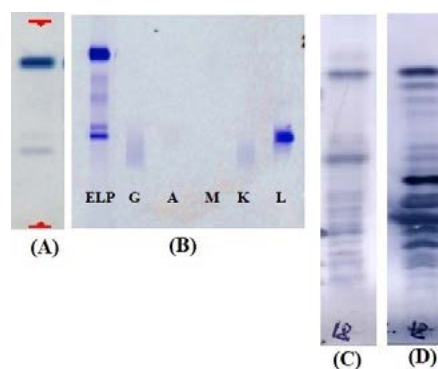


Fig. 4: The result of the urinalysis. (A) positive result on electrophoretic detection - paraprotein 0.15 g/L; (B) immunofixation demonstrated free lambda light chains; (C) positive finding on IEF/AIB on detection of free kappa light chains; (D) positive finding on IEF/AIB on detection of free lambda light chains. CB (U) = 1.904 g/L.

Table 3. Summary of results of qualitative analysis of oligoclonal profiles in serum.

Biological sample	ELFO (pos/neg)	IMF (pos/neg)	IEF/AIB (pos/neg)
Serum (n = 96)	0/96	0/96	44/96

IMF byly negativní i na IEF/AIB ($\kappa = 1,0$). Stejných závěrů bylo dosaženo srovnáním výsledků průkazu monoklonálních volných lehkých řetězců lambda metodami IMF a IEF/AIB ($\kappa = 1,0$). Srovnáním monoklonálních volných lehkých řetězců kappa, resp. lambda v moči metodami IMF a IEF/AIB bylo dosaženo 92,6%, resp. 94,4% shody, tedy výsledky pozitivní na IMF byly pozitivní i na IEF/AIB, nicméně některé výsledky negativní na IMF byly pozitivní na IEF/AIB ($\kappa = 0,844$, resp. 0,886). Shoda mezi výsledky získanými imunofixační elektroforézou séra/moči a izoelektrickou fokusací ukazuje, že v případě monoklonálních profilů jsou obě metody v rámci vyhodnocení shodné.

Srovnáním výsledků pacientů s prokázaným oligoklonálním profilem volných lehkých řetězců kappa, resp. lambda metodou IMF s IEF/AIB bylo získáno 75%, resp. 68,8% shody ($\kappa = 0,215$, resp. 0,076). I přesto, že výsledky kappa statisticky hovoří o nízké shodě těchto dvou metod, lze říci, že díky využití vysoce citlivé metody IEF/AIB se podařilo u 25 %, resp. 30,2 % vzorků prokázat monoklonální volné lehké řetězce v séru, které metodou IMF byly chybně interpretovány jako oligoklonální profily.

Diskuse

V této studii byly ověřovány meze detekce a meze stanovitelnosti metod užívaných v rámci diagnostiky monoklonálních gamapatií. Pomocí komerčních kontrolních materiálů byla verifikována mez detekce monoklonálních lehkých řetězců kappa metodou ELFO (100 mg/L) a IMF (50 mg/L). Výrobce stanovil mez detekce pro ELFO v rozmezí 210–440 mg/L a IMF 120–250 mg/L. Možná příčina námi zjištěných nižších hodnot mezi detekce oproti firemním údajům může souviset s odlišným spektrem testovaných proteinů ve vzorku. Metoda IEF/AIB je in-house metoda vyvinutá a optimalizovaná v naší laboratoři a její mez detekce se podle našich zjištění pohybuje okolo 0,025 mg/L pro FLC kappa a 0,25 mg/L pro FLC lambda. Ve srovnání s metodami ELFO a IMF je metoda IEF/AIB nejcitlivější metodou průkazu monoklonální komponenty. Vysokou citlivost pro průkaz monoklonálního imunoglobulinu má také kvantitativní stanovení FLC a z něj vypočítaný FLC ratio. Podobné výsledky popsal ve své práci z roku 2023 i Zeman a kol. [3], který rovněž testoval IEF/AIB jakožto citlivější metodu průkazu monoklonálního imunoglobulinu. V rámci jejich práce byl stanoven detekční limit pro FLC kappa v rozmezí 0,05–0,1 mg/L a pro FLC lambda 0,1–0,2 mg/L. Z praktických zkušeností vyplývá, že řada klinických pracovníků nemyslí na monoklonální gamapatie a neindikuje stanovení ELFO a případně IMF či stanovení FLC dostatečně často. Místo toho pacienti přicházejí s dlouhotrvajícími bolestmi zad na neurologickou kliniku, kde je jim proveden paralelně odběr mozkomíšního moku a vzorku séra,

v němž je touto vysoce citlivou metodou odhalena přítomnost monoklonálního imunoglobulinu, a to již většínou v pokročilé fázi onemocnění.

Všechny výše zmíněné metody jsou využívány za účelem průkazu monoklonálního imunoglobulinu, přičemž elektroforézu sérových bílkovin můžeme označit za screeningovou, levnou, rychlou a všude dostupnou metodu. Náklady na vyšetření séra elektroforézou činí zhruba 68 Kč (v závislosti na hodnotě bodu). Mez detekce v rozmezí 210–440 mg/L umožňuje včasné zachycení monoklonálního imunoglobulinu jak v séru, tak v moči (nativní či zahuštěné). Zmiňované elektroforetické metody byly prováděny v uspořádání na gelu. Nicméně existuje i možná alternativa, kapilární elektroforéza, která je v našich laboratořích taktéž využívána jako vysoce efektivní metoda. Na rozdíl od gelové elektroforézy vyniká svou rychlostí, účinnou separací a eliminuje možné chyby způsobené barvením a denzitometrickým hodnocením. Tato alternativa však i přes dostupné diagnostické soupravy není používána v případě imunofixační elektroforézy. Zde je preferována metoda na gelu s citlivostí 120–250 mg/L v závislosti na umístění monoklonální komponenty, úrovně polyklonálního pozadí v gama zóně a použité barvičce (amidočerní či kyselá violet) podobně jako u elektroforézy sérových proteinů. Tudiž monoklonální imunoglobuliny, které uniknou při detekci elektroforézou sérových bílkovin, jsou zachyceny imunofixační elektroforézou. Preference imunofixační elektroforézy na gelu před kapilární elektroforézou je důsledkem nedostupnosti antisér proti těžkým řetězcům δ a ϵ , současně volným lehkým řetězcům kappa a lambda pro kapilární elektroforézu. Využití kapilární elektroforézy je navíc pro stanovení monoklonální komponenty v moči velmi obtížné a pracné.

Třetí metodou, která dnes již patří do portfolia metod využívaných jako screeningové testy při podezření na mnohočetný myelom a testy, které mohou potvrdit diagnózu, je stanovení volných lehkých řetězců [4]. Tato metoda má oproti ELFO a IMF mnohem vyšší analytickou senzitivitu, nicméně ani tuto metodu není možné využívat např. při monitorování minimální residuální choroby. Tam je zapotřebí ještě mnohem citlivějších metod, např. průtokové cytometrie či hmotností spektrometrie.

Cílem této práce bylo posouzení analytické senzitivity metody IEF/AIB, která je rutinně využívána v průkazu oligoklonálních volných lehkých řetězců v rámci likvorové diagnostiky roztroušené sklerózy. Metoda se osvědčila, její mez stanovitelnosti se pohybuje okolo 0,025–0,25 mg/L (dle typu stanovovaných řetězců) a umožňuje zachytit a rozlišit polyklonální, oligoklonální a monoklonální profily imunoglobulinů, zvláště lehkých řetězců. Jednou z nevýhod této metody ve srovnání s metodami ELFO, IMF a FLC je nemožnost kvantifikace monoklonální komponenty, resp. v tomto okamžiku zatím není k dispozici žádný software, který by to umožnil. Výsledky této metody mohou být vydávány pouze jako pozitivní/negativní, eventuálně lze vyu-

žit semikvantitativní hodnocení (+, ++, +++). Takovéto hodnocení je bohužel méně vhodné pro sledování dynamiky v čase a rovněž jej nelze využít ke studiu klinicko-laboratorních korelací. Proti metodě hovoří rovněž i vyšší cena. Ta se pohybuje v závislosti na hodnotě bodu okolo 2 630 Kč pro jeden typ lehkého řetězce. Naopak výhodou této metody je malé množství vzorku potřebné k analýze, jen 20 µL, na rozdíl od tria ELFO/IMF/FLC, kde se potřebný objem dohromady pohybuje okolo 400 µL. Rovněž doba analýzy hovoří spíše proti metodě IEF/AIB. Samotná metoda trvá zhruba 1,5 dne (1. den příprava vzorků a membrán, 2. den izoelektrická fokusace, afinitní imunoblotting a vyhodnocení). Odezva metody je cca dva týdny v závislosti na počtu přijatých vzorků (metoda je nastavena k vyšetření 18 vzorků v jednom běhu). Celý tento proces by se dal značně zefektivnit modernizací postupu, respektive automatizací. Je nutné zdůraznit, že předmětem této práce byla pouze IEF/AIB lehkých řetězců kappa a lambda. Pro stanovení monoklonálního imunoglobulinu nám však nestačí vědět, že je pacient pozitivní v této oblasti. Pro identifikaci těžkých řetězců imunoglobulinů by bylo nutné provést IEF/AIB také s antiséry proti těžkým řetězcům α , μ , γ , δ a ϵ . Takovéto vyšetření by se značně prodloužilo, ale i prodražilo. Využití této metody má své opodstatnění například u pacientů s podezřením na monoklonální gamapatie, kde ostatní metody selhaly a poskytly negativní výsledek. Zároveň by budoucnost této metody mohla být právě v diagnostice pacientů v preklinickém stádiu. Brzké zachycení a včasná léčba mají jednoznačně pozitivní vliv na úspěšné léčení této choroby. Vliv věku na medián přežití byl zkoumán již v roce 2008. Studie na více než 10 000 pacientech prokázala pozitivní vliv nižšího věku při diagnostice a léčbě mnohočetného myelomu [5].

Další možnost využití této metody je u pacientů po autologní transplantaci kmenových buněk a dále pacientů léčených některými imunomodulačními léky (lenalidomid) či konvenční cytotoxickou terapií. U těchto pacientů je často na elektroforéze popisována migrační mikroheterogenita gama-fraze, na imunofixační elektroforéze oligoklonální profil (2 a více pásů v jednotlivých imunofixačních stopách), který může napovídat o úspěšnosti léčby, obnově produkce imunoglobulinů bez známek negativního klinického významu a relapsu onemocnění [6]. Metoda IEF/AIB nám díky své vysoké citlivosti může v těchto případech tyto domněnky potvrdit, či vyvrátit.

Falešně pozitivní výsledky mohou být popsány také u pacientů, jimž je terapeuticky podávána monoklonální protilátka, která vytváří na imunofixaci dojem, že pacient produkuje monoklonální imunoglobulin typu IgG kappa [7]. K rozlišení monoklonální protilátky užívané terapeuticky, například daratumumabu, od monoklonálního imunoglobulinu produkovaného pacientem, je dnes využívána imunofixační elektroforéza s antisérou proti daratumumabu. Možnou alternativou by opět mohla být metoda izoelektrické fokusace. Další možností je také využití systému hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF. Tato metoda má navíc vyšší analytickou senzitivitu pro detekci monoklonálního imunoglobulinu než elektroforéza a imunofixace [8].

Závěr

Metoda izoelektrické fokusace s následným afinitním imunoblottingem je vysoce senzitivní metoda umožňující odhalit přítomný monoklonální imunoglobulin při negativitě elektroforézy sérových proteinů a imunofixační elektroforézy. Díky své vysoké senzitivitě by mohla tato metoda být využívána při podezření na přítomnost monoklonálního imunoglobulinu, který ještě není detekovatelný pomocí rutinně dostupných metod (ELFO, IMF, FLC ratio). Současně je možné ji využít k odlišení oligoklonálních a monoklonálních volných lehkých řetězců. V budoucnu by své uplatnění mohla najít také u pacientů po autologní transplantaci kmenových buněk, pacientů léčených některými imunomodulačními léky či konvenční cytotoxickou terapií anebo u pacientů léčených monoklonálními protilátkami.

Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 12. 3. 2024

Adresa pro korespondenci:
Mgr. Karin Vilímová
Oddělení klinické biochemie, Ústav laboratorní medicíny
Fakultní nemocnice Ostrava
17. listopadu 1790/5, 708 52 Ostrava-Poruba
e-mail: karin.vilimova@fn.o.cz

Literatura

1. **Hussain, M., Yellapragada, S., Al Hadidi, S.** Differential Diagnosis and Therapeutic Advances in Multiple Myeloma: A Review Article. Online. *Blood Lymphat. Cancer*, 2023, 13, s. 33-57. [\[odkaz\]](#)
2. **Zeman, D., Kušnierová, P., Švagera, Z. et al.** Assessment of Intrathecal Free Light Chain Synthesis: Comparison of Different Quantitative Methods with the Detection of Oligoclonal Free Light Chains by Isoelectric Focusing and Affinity-Mediated Immunoblotting. *PLoS One*, 2016, 11(11), e0166556 [\[odkaz\]](#)
3. **Zeman, D., Štork, M., Švancarová, L. et al.** Isoelectric focusing followed by affinity immunoblotting to detect monoclonal free light chains in monoclonal gammopathies. Comparison with immunofixation electrophoresis and free light chain ratio. *Ann. Clin. Biochem.*, 2024, 45632231221439. [\[odkaz\]](#)
4. **Hájek, R. et al.** Doporučení vypracované Českou myelomovou skupinou, Myelomovou sekcí České hematologické společnosti a Slovenskou Myelomovou Spoločnosťou pro diagnostiku a léčbu mnohočetného myelomu. In *Transfúze Hematologie dnes*, 2018, 24(1), s. 2-157. [\[odkaz\]](#)
5. **Ludwig, H., Durie, B. G. M., Bolejack, V. et al.** Myeloma in patients younger than age 50 years presents with more favorable features and shows better survival: an analysis of 10549 patients from the International Myeloma Working Group. *Blood*, 2008, 111(8), s. 4039-4047. [\[odkaz\]](#)
6. **Larrea, C. F., Tovar, N., Cibeira, M. T. et al.** Emergence of oligoclonal bands in patients with multiple myeloma in complete remission after induction chemotherapy: association with the use of novel agents. *Haematologica*, 2011, 96(1), s. 171-173. [\[odkaz\]](#)

7. **Špička, I., Skácel, T.** Pokroky a současné možnosti v léčbě mnohočetného myelomu. *Medicina po promoci*, 2021, 22(2), s. 88-93. [\[odkaz\]](#)
8. **Wiedmeier-Nutor, J. E., Bergsagel, P. L.** Review of Multiple Myeloma Genetics including Effects on Prognosis, Response to Treatment, and Diagnostic Workup. *Life (Basel)*, 2022, 12(6), 812. [\[odkaz\]](#)