

Poměr volných lehkých řetězců u pacientů s chronickým selháním ledvin

Kušnierová P.^{1,2}, Zeman D.^{1,2}, Michnová O.¹, Všianský F.¹, Stejskal D.^{1,2}, Bartoš V.^{1,2}, Jelínek T.³, Hájek R.³

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

²Katedra biomedicínských oborů, Lékařská fakulta, Ostravská univerzita

³Hematoonkologická klinika, Fakultní nemocnice Ostrava

SOUHRN

Úvod a cíl studie: Pacienti s chronickým onemocněním ledvin (CKD) často vykazují zvýšenou koncentraci volných lehkých řetězců (FLC) v séru, provázenou změnami v zastoupení obou jejich forem, tj. kappa i lambda řetězců, a v jejich důsledku pak změnou jejich vzájemného poměru (FLC ratio). Cílem této studie bylo ověření referenčních mezí tohoto poměru u pacientů s chronickým selháním ledvin, přičemž ke stanovení koncentrací FLC kappa a FLC lambda byly použity diagnostické prostředky firmy Binding Site.

Typ studie: Metodická studie.

Název a sídlo pracoviště: Ústav laboratorní diagnostiky, Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Ostrava.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno 150 pacientů s CKD a 17 kontrol. U všech byla stanovena koncentrace kreatininu, FLC kappa, FLC lambda v séru a z výsledků měření pak byly vypočteny odhad glomerulární filtrace dle CKD EPI (GF) a FLC ratio. Podle vypočtené hodnoty GF byli pacienti s CKD, v souladu s klasifikací KDIGO, rozděleni do skupin G2 až G5. K vyloučení monoklonální povahy FLC byla použita standardní elektroforéza sérových proteinů, imunofixační elektroforéza a izoelektrická fokusace v agarózovém gelu s následným afinitním imunoblottingem s protilátkami proti volným lehkým řetězcům kappa a lambda (IEF/AIB). Ke statistickému zpracování dat byly použity software Excel, MedCalc a Project R.

Výsledky: S rostoucím stupněm CKD byly pozorovány statisticky významné rozdíly mezi koncentracemi FLC kappa, FLC lambda i FLC ratio v jednotlivých skupinách ($P \leq 0,0001$). Tyto parametry také statisticky významně korelovaly s koncentrací kreatininu i s odhadem glomerulární filtrace dle CKD EPI ($P < 0,0001$). V souladu s pokynem CLSI EP28-A3C byly pro poměr FLC u pacientů s CKD určeny tyto referenční meze: dolní mez 1,01 a horní mez 3,65.

Závěr: Praktická aplikace referenčních mezí pro FLC ratio může zvýšit specifitu FLC testu pro detekci monoklonální produkce FLC u pacientů s CKD. Odhad mezí v této studii byl proveden s využitím diagnostických prostředků firmy Binding Site a nemusí být shodný v případě použití jiných diagnostik.

Klíčová slova: volné lehké řetězce imunoglobulinů, imunoturbidimetrie, kreatinin, enzymatické stanovení, odhad glomerulární filtrace, referenční meze, CKD.

SUMMARY

Kušnierová P., Zeman D., Michnová O., Všianský F., Stejskal D., Bartoš V., Jelínek T., Hájek R.: Free light chain ratio in patients with chronic renal failure

Objective: Patients with chronic kidney disease (CKD) often show an increased serum free light chains concentration (FLC) accompanied by changes in the representation of both forms, i.e., kappa and lambda chains, and consequently by changing their ratio (FLC ratio). The aim of this study was to verify the reference limits of this ratio in patients with chronic renal failure, determined by commercial IVD of Binding Site.

Design: Methodological study.

Settings: Institute of Laboratory Diagnostics, Department of Clinical Biochemistry, University Hospital Ostrava.

Material and methods: The study included 150 patients with CKD and 17 controls. The concentration of creatinine, FLC kappa, FLC lambda was determined, the estimate of glomerular filtration according to CKD-EPI and serum FLC ratio were calculated according to the KDIGO classification, divided into groups G2 to G5. To exclude the presence of monoclonal FLC, serum protein electrophoresis, immunofixation electrophoresis and isoelectric focusing in agarose gel followed by affinity immunoblotting with antibodies against free kappa and lambda light chains (IEF / AIB) were used. Excel, MedCalc and Project R software were used for statistical data processing.

Results: Statistically significant differences were observed between concentrations of FLC kappa, FLC lambda and FLC ratio in individual groups ($P < 0.0001$). These parameters also statistically significantly correlated with creatinine concentration and with the estimate of glomerular filtration according to CKD EPI ($P < 0.0001$). In accordance with CLSI guideline EP28-A3C, the following reference limits were established for the FLC ratio in patients with CKD: a lower limit of 1.01 and an upper limit of 3.65.

Conclusion: Practical application of reference limits for the FLC ratio may increase the specificity of the FLC test for the detection of monoclonal FLC production in patients with CKD. The limits in this study were estimated using Binding Site diagnostics and may not be the same for other diagnostics.

Keywords: Free light chains of immunoglobulins, immunoturbidimetry, creatinine, enzymatic determination, estimation of glomerular filtration, reference limit, CKD.

Úvod

Lehké řetězce imunoglobulinů jsou za fyziologických okolností produkovány B buňkami v nadbytku oproti těžkým řetězcům. To má za následek uvolnění přibližně 500 mg nenavázaných lehkých řetězců (volné lehké řetězce - FLC) do oběhu [1]. Monomerní FLC kappa s přibližnou molekulovou hmotností (M. h.) 25000 a převážně dimerní FLC lambda s M. h. 50000 jsou filtrovány v glomerulu a následně reabsorbovány a metabolizovány v proximálním tubulu s biologickým poločasem 2 až 4, resp. 3 až 6 hodin [2-4]. Díky dvojnásobně vyšší molekulové hmotnosti FLC lambda oproti FLC kappa dochází ke zpomalení jejich renální clearance. Za fyziologických okolností je tedy sérová koncentrace FLC kappa nižší než FLC lambda, což má za následek, že medián jejich poměru (FLC ratio) se pohybuje okolo 0,58, jeho fyziologické rozmezí mezi 0,26 až 1,65 [2]. Zvýšená koncentrace jednoho typu FLC v séru je typickým nálezem u mnohočetného myelomu a dalších plasmocelulárních dyskrázií. Zvýšená koncentrace FLC v séru může souviset i s autoimunitními onemocněními, nebo s glomerulární hyperfiltrací či tubulární dysfunkcí ledvin [5].

U pacientů s CKD se při snižování glomerulární filtrace (GF) snižuje renální clearance, což má za následek zvýšenou koncentraci FLC v séru. Za těchto okolností je větší podíl FLC odstraňován pinocytózou buněk retikuloendoteliálního systému. Protože retikuloendoteliální clearance není ovlivněna molekulovou hmotností FLC, dochází se zhoršující se funkcí ledvin ke sblížení biologických poločasů obou FLC, tj. kappa i lambda [6]. V souladu se stadiem CKD se musí zvyšovat i FLC ratio [7-8].

Cílem této studie bylo stanovení polyklonálních FLC u pacientů s CKD a ověření referenčních mezí FLC ratio za použití diagnostických souprav firmy Binding Site.

Metodika

Do studie bylo zařazeno 150 pacientů s chronickým onemocněním ledvin. Všechny vzorky séra byly na počátku studie testovány na přítomnost monoklonálních imunoglobulinů. V případě průkazu paraproteinů byl pacient z dalšího hodnocení vyloučen ($n = 9$). Výsledky pacientů s chronickým onemocněním ledvin byly porovnávány s kontrolní skupinou pacientů ($n = 17$) bez známek renálního či hematologického onemocnění. Soubor s CKD tvořilo 44 žen s průměrným věkem $67,8 \pm 17,1$ let a 97 mužů s průměrným věkem $65,9 \pm 18,1$ let. Soubor kontrolních vzorků tvořilo 10 žen s průměrným věkem $65,0 \pm 16,1$ let a 7 mužů s průměrným věkem $60,5 \pm 18,3$ let. Ve všech vzorcích byla stanovena koncentrace kreatininu na analyzátoru AU 5800 (Creatinine enzymatic, REF OSR61204, Beckman Coulter, Inc.), byl vypočten odhad glomerulární filtrace dle CKD-EPI [9] a stanoveny koncentrace FLC kappa a FLC lambda na analyzátoru SPA PLUS (Freelite Kappa SPA PLUS kit, REF LK016.L.S; Freelite Lambda SPA PLUS kit, REF LK018.L.S, The Binding Site Ltd.), následně vypočten FLC ratio (FLC kappa / FLC lambda). K vyloučení monoklonální povahy FLC byla použita standardní elektroforéza sérových proteinů (Hydragel 30 Protein

$\beta 1$ - $\beta 2$, kat. č.: S-4141, Hydrasys 2^{SCAN} Focusing, SEBIA) a imunofixační elektroforéza (Hydragel 4 IF, kat. č.: S-4804, Hydrasys 2^{SCAN} Focusing, SEBIA), doplněná o izoelektrickou fokusaci v agarózovém gelu s následným afinitním imunoblotingem s protilátkami proti volným lehkým řetězcům kappa a lambda (IEF/AIB, modifikovaná in-house metoda C. J. Sindica) [10].

V závislosti na vypočítané hodnotě odhadu GF ($\text{mL}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$) byli pacienti s CKD rozděleni do pěti skupin odpovídajících klasifikaci KDIGO [11, 12]: G2: lehce snížená GF (1,0-1,49) - 4 pacienti; G3a: lehce až středně snížená GF (0,75 - 0,99) - 22 pacientů; G3b: středně až výrazně sníženou GF (0,5 - 0,74) - 35 pacientů; G4: výrazně snížená GF (0,25 - 0,49) - 56 pacientů; G5: selhání ledvin (GF < 0,25) - 24 pacientů.

Referenční intervaly byly odhadnuty v souladu s pokynem CLSI EP28-A3C [13 14]. Závislost na věku a pohlaví byla posuzována pomocí Wilcoxonova a Kruskal-Wallisova neparametrického testu. Ke statistickému zpracování dat byl použit software Microsoft Excel (MS Office, verze 2016), MedCalc (MedCalc Software Ltd, Belgium verze 18.10) a program R (verze 4.0.1).

Studii schválila Etická komise Fakultní nemocnice v Ostravě (referenční číslo 13/2018).

Výsledky

Základní charakteristika studovaného souboru je uvedena v Tabulce 1. Medián koncentrace kreatininu v séru byl v souboru patientských vzorků s CKD $191 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, medián GF $0,44 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$, medián FLC kappa $56,32 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, medián FLC lambda $32,97 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a medián FLC ratio 1,80, v případě kontrolních vzorků byl medián FLC kappa $12,63 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, FLC lambda $12,47 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a FLC ratio 0,97.

Koncentrace FLC kappa byly významně vyšší u pacientů s CKD v kategorii G4 a G5 oproti kontrolní skupině; FLC kappa $71,43$ (15,83 až 245,74) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, resp. $119,355$ (33,44 až 241,80) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ versus $12,63$ (9,06 až 21,47) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a FLC lambda $38,43$ (12,81 až 135,96) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, resp. $60,36$ (16,34 až 338,69) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ versus $12,47$ (7,42 až 37,67), $P < 0,0001$). Kromě toho koncentrace FLC kappa i FLC lambda postupně rostly se stupněm CKD ($P < 0,0001$; obr. 1A - 1B). Současně s rostoucím stupněm CKD, resp. klesající hodnotou GF byl pozorován statisticky významný rozdíl i mezi FLC ratio v jednotlivých skupinách, ($P \leq 0,0001$); obr. 1C.

Koncentrace FLC kappa, FLC lambda i FLC ratio statisticky významně korelovala s koncentrací kreatininu i odhadem glomerulární filtrace z kreatininu dle CKD EPI ($P < 0,0001$); Tabulka 2.

Koncentrace FLC kappa a FLC lambda a FLC ratio vykazovaly statisticky významnou šikmost a špičatost, Tabulka 3.

Současně koncentrace FLC kappa, FLC lambda ani hodnoty FLC ratio nevykazovaly statisticky významnou závislost na věku ($P > 0,05$; Tabulka 4) a pohlaví ($P > 0,052$). Distribuci hodnot FLC kappa, FLC lambda a FLC ratio zachycuje obr. 2. Odhadnuté hodnoty referenčních mezí FLC ratio u pacientů s CKD byly pro dolní mez 1,01 a pro horní mez 3,65 podrobně viz Tabulka 5.

Table 1. Values of medians and 2.5th resp. 97.5th percentiles estimated in individual groups of CKD patients (percentiles are presented in parentheses)

Number of patients	G2	G3a	G3b	G4	G5
	4	22	35	56	24
Age (years)	41 (29.0–46.0)	66 (15.9–82.0)	70 (25.8–94.2)	76 (36.7–94.0)	70 (12.4–89.6)
Kreatinin (μmol.L ⁻¹)	125 (63.0–127)	131 (86.1–185)	156 (114–195)	214 (152–321)	393 (293–1112)
GF (mL·s ⁻¹ ·1.73 m ⁻²)	1.08 (1.00–1.47)	0.84 (0.75–0.98)	0.63 (0.50–0.73)	0.39 (0.26–0.44)	0.19 (0.03–0.24)
FLC kappa (mg.L ⁻¹)	36.3 (12.8–55.6)	32.5 (14.2–74.7)	48.5 (14.4–364)	71.4 (15.8–246)	119 (33.4–292)
FLC lambda (mg.L ⁻¹)	20.9 (10.6–45.9)	19.3 (8.56–62.3)	30.9 (12.0–155)	38.4 (12.8–135)	60.3 (16.3–339)
FLC ratio	1.43 (1.11–2.11)	1.57 (0.63–2.67)	1.70 (0.94–3.83)	2.01 (1.08–3.75)	2.02 (0.37–3.31)

GF, glomerular filtration

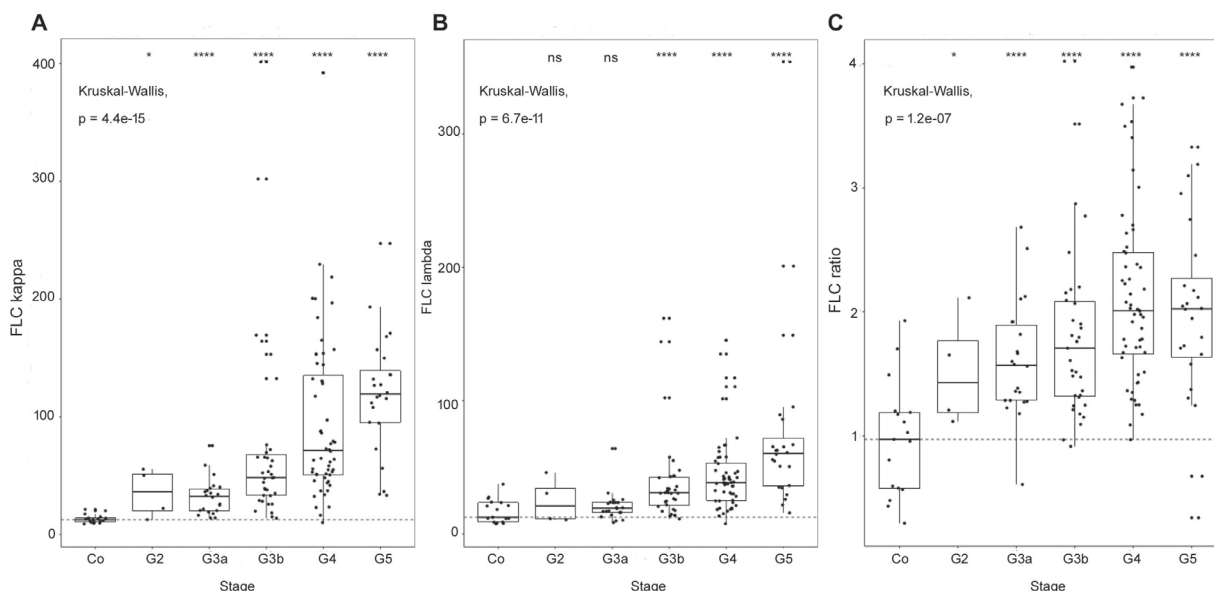


Fig. 1: Comparison of FLC in individual groups versus Control group by Kruskal-Wallis test. (A) FLC kappa, (B) FLC lambda and (C) FLC ratio increased with CKD stage ($P < 0.0001$).

Table 2 Spearman correlation coefficients for polyclonal serum FLC with serum creatinine and GF.

Parameters	FLC kappa	FLC lambda	FLC ratio
Krea-S	0.513	0.475	0.293
GF	-0.524	-0.482	-0.298

* All correlations significant at the $P < 0.01$ level; GF, glomerular filtration

Table 3 Skewness and kurtosis of FLC kappa, FLC lambda and FLC ratio.

	Skewness	Kurtosis
FLC kappa (mg.L ⁻¹)	1.966 $P < 0.001$	5.099 $P < 0.001$
FLC lambda (mg.L ⁻¹)	3.982 $P < 0.001$	21.765 $P < 0.0001$
FLC ratio	0.841 $P < 0.001$	0.657 $P = 0.1081$

Table 4 Evaluation of linear dependence of FLC kappa, FLC lambda and FLC ratio on age ($y = \text{Constant} + \text{Age} * x$).

Parameter	Terms	Coefficient	Std. Error	t	P
FLC kappa	Constant	47.00			
	Age (Slope)	0.366	0.221	1.652	0.101
FLC lambda	Constant	25.05			
	Age (Slope)	0.141	0.110	1.282	0.202
FLC ratio	Constant	1.534			
	Age (Slope)	0.006	0.003	1.900	0.060

Table 5 Renal reference limits for FLC kappa, FLC lambda and FLC ratio as the 2.5th and 97.5th percentile values and their confidence intervals (calculated by robust method, CLSI EP28-A3C).

Method	N	2.5 th	CI	97.5 th	CI	Outliers ^a
FLC kappa	141	13.20	11.20 to 15.78	297.40	244.3 to 351.4	-
FLC lambda	141	10.14	8.98 to 11.60	135.89	112.1 to 163.6	1
FLC ratio	141	1.01	0.96 to 1.08	3.65	3.33 to 4.01	4

CI - 90% confidence interval

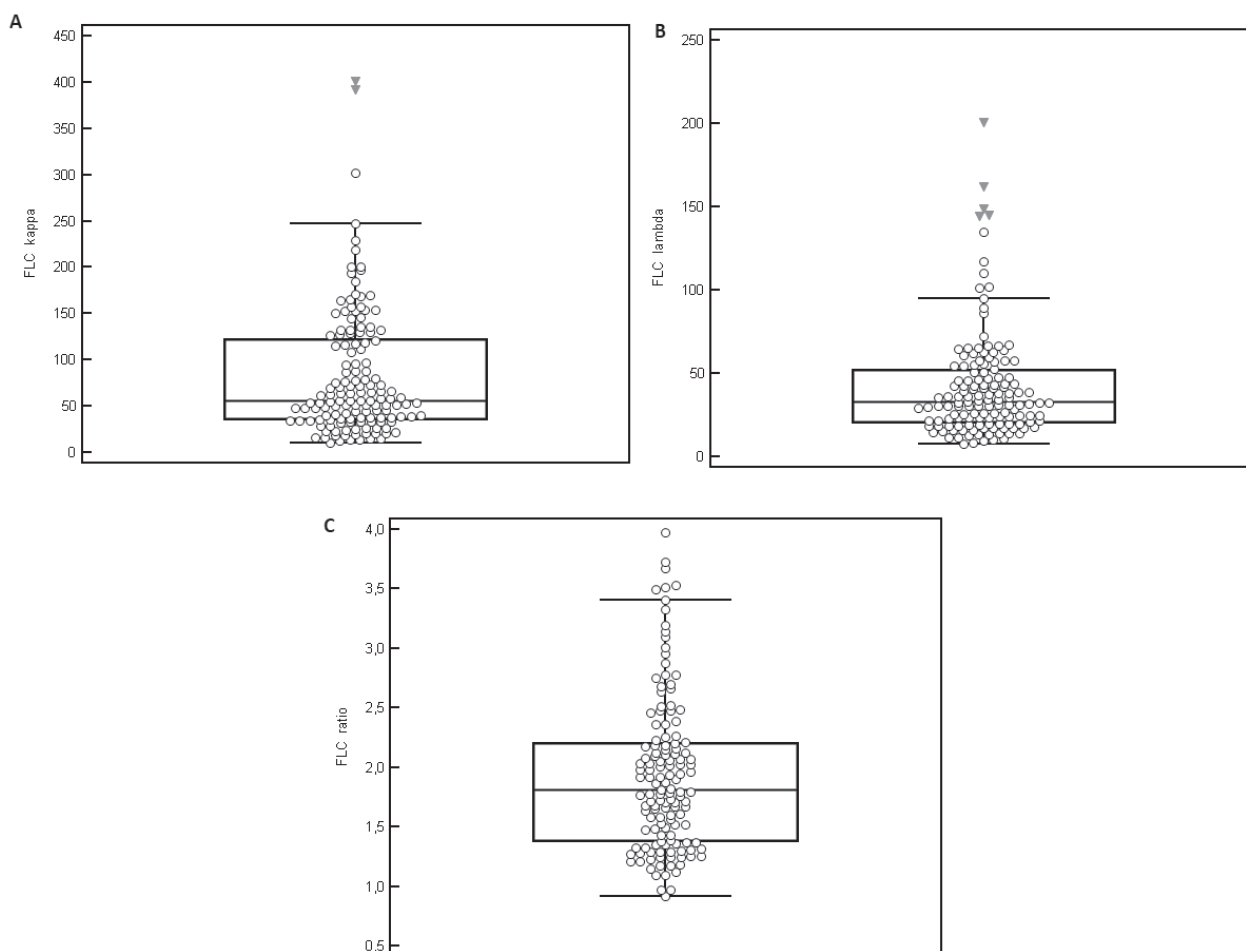


Fig. 2: Distribution of the FLC kappa, FLC lambda and FLC ratio.

Diskuse

Stanovení FLC a jejich poměrů je velmi důležitým krokem v rámci diferenciální diagnostiky monoklonálních gamapatií [15] a nález jejich patologických hodnot vede k vyslovení podezření na přítomnost těchto nemocí a často k indikaci biopsie kostní dřeně k definitivnímu

vyloučení nebo potvrzení suspektní nemoci [16]. Naším cílem proto bylo ověření referenčních mezí FLC ratio u pacientů s různým stupněm chronického selhání ledvin. Bohužel ale, vzhledem k problémům vyplývajícím z absence primárního standardu pro stanovení FLC v séru [17], užívání různých diagnostických souprav s rozdílnou standardizací a rozdílnými protilátkami, [18]

je úroveň harmonizace těchto vyšetření problematická [19]. Aplikace odhadnutých referenčních mezí je tak vhodná pouze při použití diagnostických souprav firmy Binding Site.

Při studiu závislosti referenčních mezí na věku a pohlaví nebyla prokázána statistická významnost, proto jsou prezentovány parametry bez tohoto zohlednění. Současně počty pacientů v jednotlivých skupinách byly relativně malé, a proto jsou prezentovány referenční meze jen pro celou skupinu pacientů s CKD, což je pro potřebný účel dostačující.

Poprvé se vylučováním polyklonálních FLC v závislosti na funkci ledvin zabývali ve své práci Nowrousian MR et al. [20], a to u skupiny pacientů s Bence-Jonesovou (BJ) proteinurií. Prokázali, že množství vylučovaných polyklonálních FLC se statisticky významně mění v závislosti na koncentraci kreatininu v séru, současně, že množství vylučovaných polyklonálních FLC je vyšší u pacientů s detekovatelnou BJ proteinurií v důsledku současně zvyšujícího se vylučování tubulárních proteinů v moči. Tento trend pozorovali nejen u koncentrací kreatininu zvýšených nad referenční rozmezí, ale také v něm, což naznačovalo, že zvýšené koncentrace kreatininu v séru jsou pozdními ukazateli zhoršené funkce ledvin.

Také Hutchison CA et al. [7] popisují změny v množství vylučovaných polyklonálních FLC v závislosti na koncentraci kreatininu v séru. U 334 pacientů s CKD různé etiologie a bez přítomného monoklonálního proteinu stanovili koncentraci kreatininu, cystatinu C a odhad glomerulární filtrace vypočetli podle rovnice Cockrofta - Gaulta. Došli k závěru, že koncentrace FLC kappa i lambda v séru se postupně zvyšují se stupněm CKD a silně korelují s markery renálních funkcí, včetně cystatinu C. Současně prokázali, že koncentrace FLC v séru se liší mezi různými renálními patologiemi, u pacientů dialyzovaných vs. predialyzovaných, nebo u pacientů s diabetem, kde byly koncentrace FLC mnohem vyšší než u pacientů s jinými diagnózami. Nález vysvětluje chronickým zánětem, který je sám o sobě spojen se zvýšenou produkcí polyklonálních FLC. Stejně tak i FLC ratio se zvyšoval se stádiem CKD, jimi stanovené tzv. „renální“ referenční rozmezí se pohybovalo mezi 0,37 až 3,1.

Tyto hodnoty jsou velmi blízké námi odhadnutým referenčním mezím FLC ratio. Ke stanovení FLC jsme podobně jako Rindlisbacher et al. [21] použili diagnostické soupravy Freelite firmy The Binding Site. Tato skupina autorů porovnávala výsledky FLC Freelite s výsledky získanými diagnostickými soupravami N Latex firmy Siemens. Srovnání prováděli jak u kontrolní skupiny, tak i u pacientů v různých stádiích renálního onemocnění. Došli k závěru, že mezi těmito soupravami existují statisticky významné rozdíly, které vyplývají z jejich různé reaktivity vůči monomerním a dimerním FLC. Souprava Freelite totiž detekuje pouze dimerní FLC lambda, zatímco souprava N Latex pouze monomerní FLC lambda. Vzhledem k jejich rozdílné reaktivitě proti FLC monomerům a dimerům jsou z hlediska poskytovaných výsledků obě soupravy nesrovnatelné [22]. Současně u skupiny pacientů s CKD pozorovali posun mediánu

FLC ratio o + 0,4 až + 0,7 k vyšším hodnotám oproti publikovaným datům autorského kolektivu Hutchison CA et al. [7]. Obdobné závěry vyplývají i z naší studie, v níž jsme pozorovali posun o + 0,2 až + 0,9. Současně Tate et al. [23] vyslovili podezření, že pacienti s konečným stádiem onemocnění ledvin mohou mít vyšší podíl monomerních FLC lambda. Toto tvrzení by bylo možné ověřit studiem monomerních, resp. dimerních forem FLC SDS elektroforézou, jak bylo popsáno ve studiích autorů Kaplan et al. [24-26].

Závěr

V této studii byly měřeny vzorky séra pacientů v různých stádiích chronického onemocnění ledvin dle CKD klasifikace. Abnormální poměr FLC vzhledem k běžně používaným referenčním mezím byl pozorován u 64 % testovaných vzorků, u kterých byla vyloučena přítomnost monoklonální gamapatie. Bylo zjištěno, že průměrné koncentrace FLC v séru statisticky významně korelují s hladinou kreatininu a odhadem glomerulární filtrace dle CKD-EPI. Byly odhadnuty referenční meze pro FLC ratio u pacientů s CKD (dolní mez 1,01 a horní mez 3,65). U pacientů se sníženou renální clearancí pod 1,5 mL·s⁻¹·1,73 m⁻², patologickým FLC ratio do 3,65 a negativní imunofixací lze pouze na základě těchto nálezů vyloučit potřebu provedení biopsie kostní dřeně.

Literatura

1. **Waldmann, T. A., Strober, W., Mogielnicki, R. P.** The renal handling of low molecular weight proteins. II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrome, or uremia. *J. Clin. Invest.*, 1972, 51/8, p. 2162–2174.
2. **Bradwell, A. R.** Biology of immunoglobulins. In: Serum Free Light Chain Analysis plus Hevylite, 7th Ed., edited by Bradwell A. R., Birmingham, *The Binding Site Ltd.*, 2015, p. 16–29, ISBN 978-0-9932196-0-3.
3. **Maack, T., Johnson, V., Kau, S. T., Figueiredo, J., Sigulem, D.** Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular-weight proteins: a review. *Kidney Int.*, 1979, 16/3, p. 251–270.
4. **Tichý, M., Vávrová, J., Friedecký, B., Maisnar, V.** Přehled metod na stanovení volných lehkých řetězců. *Klin. Biochem. Metab.*, 2008, 16/37, p. 93–96.
5. **Solomon, A.** Light chains of human immunoglobulins. *Methods Enzymol.*, 1985, 116, p. 101–121.
6. **Granátová, J., Bolková, M., Fantová, L., Hornová, L., Mašková, Z., Horák, J., Lánská, V.** Volné lehké řetězce imunoglobulinů u nemocných v renální insuficienci. *Klin. Biochem. Metab.*, 2008, 16/37, p. 106–110.
7. **Hutchison, C. A., Harding, S., Hewins, P., Mead, G. P., Townsend, J., Bradwell, A. R., Cockwell, P.** Quantitative Assessment of Serum and Urinary Polyclonal Free Light Chains in Patients with Chronic Kidney Disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008, 3/6, p. 1684–1690.
8. **Hutchison, C. A., Basnayake, K., Cockwell, P.** Serum free light chain assessment in monoclonal gammopathy and kidney disease. *Nat. Rev. Nephrol.*, 2009, 5, p. 621–628.

9. **Zima, T., Teplan, V., Tesař, V., Racek, J., Schüick, O., Janda, J., Friedecký, B., Kubíček, Z., Kratochvíla, J.** Doporučení České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie ČLS JEP k vyšetřování glomerulární filtrace. *Klin. Biochem. Metab.*, 2009, 17/37, p. 109-117.
10. **Zeman, D., Kušnierová, P., Švagera, Z., Všianský, F., Byrtusová, M., Hradílek, P., Kurková, B., Zapletalová, O., Bartoš, V.** 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, 15,11/11:e0166556. doi: 10.1371/journal.pone.0166556.
11. **Viklický, O.** Nová klasifikace chronických onemocnění ledvin. *Postgrad. Nefrol.*, 2013, 11/1.
12. **KDIGO 2012** Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *J Int. Soc. Nephrol.*, 2013, 3/1.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** EP28-A3c Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline-third edition. *Clin. Lab. Stand. Inst.*, 2010
14. **Pavlov, I. Y., Wilson, A. R., Delgado, J. C.** Resampling approach for determination of the method for reference interval calculation in clinical laboratory practice. *Clin. Vaccine. Immunol.*, 2010, 17, p. 1217-1222.
15. **Katzmann, J. A., Clark, R. J., Abraham, R. S., Bryant, S., Lymp, J. F., Bradwell, A. R., Kyle, R. A.** Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: Relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin. Chem.*, 2002, 48, p. 1437-1444.
16. **Hájek, R. (ed.) et al.:** Doporučení vypracované Českou myelomovou skupinou, Myelomovou sekcí České hematologické společnosti a Slovenskou Myelomovou Spoločnosťou pro diagnostiku a léčbu mnohočetného myelomu. *Transfúze. Hematol. dnes*, 2018, 24/1, p. 2-157.
17. **Nakano, T., Miyazaki, S., Takahashi, H.** Immunochemical quantification of free immunoglobulin light chains from an analytical perspective. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2006, 44/5, p. 522-532.
18. **Vávrová, J., Kušnierová, P., Maisnar, V., Šolcová, L.** Doporučení České společnosti klinické biochemie a České myelomové společnosti k laboratorní diagnostice monoklonálních gamapatií. *Klin. Biochem. Metab.*, 2020, 28/49, p. 26-34.
19. **Friedecký, B.** Validní referenční intervaly a rozhodovací limity zcela závisí na úrovni harmonizace výsledků laboratorních měření. *Klin. Biochem. Metab.*, 2014, 22/43, p. 114-115.
20. **Nowrousian, M. R., Brandhorst, D., Sammet, C., Kellert, M., Daniels, R., Schuett, P., Poser, M., Mueller, S., Ebeling, P., Welt, A., Bradwell, A. R., Buttkeireit, U., Opalka, B., Flasshove, M., Moritz, T., Seeber, S.** Serum free light chain analysis and urine immunofixation electrophoresis in patients with multiple myeloma. *Clin. Can. Res.*, 2005, 11, p. 8706-8714.
21. **Rindlisbacher, B., Schild, Ch., Egger, F., Bacher, V. U., Pabst, T., Leichtle, A., Andres, M., Sédille-Mostafaie, N.** Serum Free Light Chain Assay: Shift Toward a Higher κ/λ Ratio. *J Appl. Lab. Med.*, 2020, 5/1, p. 114-125.
22. **Caponi, L., Koni, E., Romiti, N., Paolicchi, A., Franzini, M.** Different immunoreactivity of monomers and dimers makes automated free light chains assays not equivalent. *Clin. Chem. Lab Med.*, 2018, 57/2, p. 221-229.
23. **Tate, J. R., Hawley, C., Mollee, P.** Response to article by Caponi et al. about serum free light chains. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2018, 57/2, p. 1-2.
24. **Kaplan, B., Aizenbud, B. M., Golderman, S., Yaskariev, R., Sela, B. A.** Free light chain monomers in the diagnosis of multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 2010, 229/1-2, p. 263-271.
25. **Kaplan, B., Livneh, A., Sela, B. A.** Immunoglobulin free light chain dimers in human diseases. *Sci. World J.*, 2011, 22/11, p. 726-735.
26. **Kaplan, B., Golderman, S., Yahalom, G., Yaskariev, R., Ziv, T., Aizenbud, B. M., Sela, B. A., Livneh, A.** Free light chain monomer-dimer patterns in the diagnosis of multiple sclerosis. *J. Immunol. Methods.*, 2013, 390/1-2, p. 74-80.

Studii podpořila Ostravská univerzita, Lékařská fakulta, Česká republika (číslo projektu SGS06 / LF / 2018-2019).

Střet zájmů: Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 6. 5. 2020

Adresa pro korespondenci:
RNDr. Pavlína Kušnierová, Ph.D.
Oddělení klinické biochemie, Ústav laboratorní diagnostiky
Fakultní nemocnice Ostrava
17. listopadu 1790/5, 708 52 Ostrava-Poruba
e-mail: pavlina.kusnierova@fno.cz