

Monoklonal Gamopatilerin Tanısında Serum Protein Elektrofrezisi

Serum Protein Electrophoresis in Diagnosing Monoclonal Gammopathies

Özgür Aydın* İsmail Ertürk**

* Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı, Antalya, Türkiye

** Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Başvuru Tarihi: 07 Ağustos 2022

Kabul Tarihi: 29 Ağustos 2022

ÖZET

Serum protein elektrofrezisi (SPE), monoklonal gamopatiler başlığı altındaki multipl myelomun da dahil olduğu geniş bir hastalık grubunun tanısındaki ilk sıra laboratuvar testidir. Hastanın klinik, radyolojik ve laboratuvar bulgularının birlikte değerlendirilmesini ve testi isteyen klinik ile koordine olunmasını gerektiren SPE, klinik biyokimya uzmanının "klinik" sıfatına en uygun testlerden biridir. Testin rapor edilmesinde standardizasyon ve harmonizasyon sorunu hem ülkemizde hem de dünyada devam etmektedir. Bu yazı bu konuda bir minimal gereklilikler zemini oluşturmayı hedeflerken burada Türk Hematoloji Derneği'nin Multipl Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzu yol gösterici olarak kabul edilmiştir. Ayrıca testi çalışan laboratuvar uzmanları için SPE değerlendirmesinde bir akış şeması önermek amacıyla literatür yanı sıra kişisel deneyimler de paylaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Serum protein elektrofrezisi, monoklonal gamopatiler, multipl myelom, M protein, paraprotein, monoklonal protein, monoklonal bant

ABSTRACT

Serum protein electrophoresis (SPEP) is the first line test in the diagnosis of a wide range of diseases including multiple myeloma, that are classified as monoclonal gammopathies. The test is one of the best fitting to the "clinical" title of the clinical biochemists as it urges the complete evaluation of clinical, radiologic and laboratory tests of the patient and a close relationship with the clinicians who request SPEP. Standardization and harmonization in reporting SPEP is a current problem in both Turkey and the World. This paper followed the "Diagnosis and Management of Multiple Myeloma Guide" by Turkish Hematology Association in order to compose a minimal requirements background in reporting the test. Personal experiences were shared besides the literature in order to offer a flowchart for the laboratory specialist in evaluating SPEP.

Key Words: Serum protein electrophoresis, monoclonal gammopathies, multiple myeloma, M protein, paraprotein, monoclonal protein, monoclonal band

Özgür Aydın : <https://orcid.org/0000-0002-6123-6186>
İsmail Ertürk : <https://orcid.org/0000-0001-6835-0988>

Yazışma adresi: Özgür Aydın
Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı,
Antalya, Türkiye
E-mail: belozgur@hotmail.com

GİRİŞ

Kemik iliğinin plazma hücrelerinin malign ve benign neoplastik gelişimleri monoklonal gamopatiler (MG) olarak adlandırılan hastalık grubunu oluşturmaktadır. Multipl myelom (MM) malign plazma hücre hastalıklarının en sık şeklidir. Tüm kanserlerin %1'ini ve hematolojik kanserlerin %10'unu oluşturur (1). Ülkemizde her sene yaklaşık 7.500 hastanın MM tanısı alacağı ve her sene 3.000 kişinin bu hastalık nedeni ile hayatını kaybedeceği tahmin edilmektedir. Yaşlı popülasyonun hastalığı olarak bilinmekte olup hastalığın ortanca tanı yaşı 66-70 yaş aralığındadır. Hemen tüm MM'lu hastalar için Önemi Belirsiz Monoklonal Gamopati (MGUS) olarak adlandırılan asemptomatik bir premalign evre söz konusu olup her yıl MGUS'lu hastaların %1'inin MM'a ilerlediği gözlenmektedir. Yeni ilaçların kullanıma girmesi ile birlikte 5 yıllık genel sağ kalım % 49-56'lara kadar yükselmiş olsa da MM halen tedavi edilebilir bir hastalık olarak kabul edilmemektedir (2).

Oldukça heterojen ve dinamik bir grup olan MG klinik ve laboratuvar bulguları birbiri ile örtüşebilen bir dizi hastalığı barındırmaktadır. 2003 yılında Uluslararası Myelom Çalışma Grubu bu hastalıkları "Multiple Myelom ve İlişkili Hastalıklar" başlığı altında sınıflandırmıştır (3). Tanı kriterleri ve isimlendirmelerindeki hareketliliğe rağmen bu hastalıkların tümünün laboratuvar tanısındaki ortak nokta geçerliliğini korumaktadır: M (Myelom) protein. Neoplastik plazma hücreleri hastaların kan ve idrarında tespit edilebilen, normal plazma hücrelerinin fizyolojik fonksiyonlarına benzer şekilde immünooglobulin yapısında proteinler üretme kabiliyetindedir. Elbette bu proteinler normal plazma hücrelerinin ürettiği normal immünooglobulinlerden yapı ve fonksiyon olarak tümüyle farklıdır (4). M proteini olarak adlandırılan bu yapılar normal immünooglobulinlere son derece benzer ağır ve hafif zincir kombinasyonlarından oluşabileceği gibi bazen sadece hafif zincirlerden ve daha nadiren sadece ağır zincirlerden ibaret olabilir. Normale en yakın olanları dahi çeşitli aminoasit dizilim farklılıkları ile normal

immünooglobulinlerden ayrılırlar (5). Yüzde 2 gibi az miktar malign plazma hücre hastalıkları (non-sekretuar MM) hariç neoplastik plazma hücresi öngörülemez her türlü çeşitlilikte M protein üretme potansiyeliyle kabul edilmelidir. M proteininin serum protein elektrofrezisi (SPE) ile tespiti MG için doku biyopsisi ile birlikte öncelikli tanısal test olarak kabul edilmektedir (6,7,8). Test, klinik doktoru tarafından özellikle halsizlik, bel ve sırt ağrısı olan, kilo kaybı, B semptomları gibi şikayetleri olan hastalarda laboratuvar ve klinik görüntülemelerde litik kemik lezyonları, artmış serum total globulin konsantrasyonu, albumin-total protein diskordansı, böbrek yetmezliği, açıklanamayan polinöropati, amiloidoz, açıklanamayan anemi, hiperkalsemi gibi hastalığın sık görülen bulguları nedeniyle, gerek tarama gerekse tanısal amaçlı istenebilmektedir.

Türk Hematoloji Derneği belli aralıklarla güncellediği Multipl Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzu'nun son versiyonunu Mart 2020'de yayınlamıştır (2). Kılavuz klinik dallar kadar laboratuvarlar için de yol göstericidir. Kılavuzda MM tanısı, tedavi ve takip protokollerine yer verilmektedir. Buradaki bilgiler ışığında: ilk defa tanı alacak hastanın gerek ilk tanı aşamasında gerekse tedavi ve takibini belirleyecek alt tiplendirmesinde pozitif SPE testi ve SPE raporundaki bilgilerin belirleyiciliği görülmektedir. İlk defa SPE testi istenmiş, tanı almamış hastanın testini değerlendiren laboratuvar uzmanı açısından potansiyel hasta, o aşamada genel anlamda "şüpheli MG hastası" olarak kabul edilmelidir. Kılavuzun bütününde gerek tanı aşamasında gerekse tanı almış hastanın tedavi ve takibinde yoğun olarak laboratuvar testlerinin kullanıldığı görülmektedir. Bu noktada laboratuvarların önceliği kılavuzdaki tanı ve tedavi aşamalarını destekleyecek nitelikte test sonucu raporu oluşturmak olmalıdır.

Poliklonal mi, monoklonal mı? İşte bütün mesele

Monoklonal gammopati hastalıklarının tek bir hücreden köken aldığı bilinmektedir, yani monoklonaldırlar. Ancak bazı ender durum-

larda malign plazma hücre klonlarının çeşitli olması nedeni ile biklonal veya trikonal olabileceği gibi, çok daha nadiren M proteini üretmeyen (non-sekretuar) tipte olabilecekleri de akılda tutulmalıdır. Plazma hücrelerinin non-neoplastik/reaktif oluşumları ise çok sayıda uyarana karşı gelişmiş poliklonal süreçlerdir. Dolayısı ile hastalık şüphesi taşıyan olgularda pratik anlamda en önemli nokta monoklonal/poliklonal immünooglobulin ayırımı doğru şekilde yapmaktır. Hastasından SPE isteyen klinik doktorun ana beklentisi hastasının MG yönünden araştırılmasının gerekip gerekmediğinin belirlenmesidir.

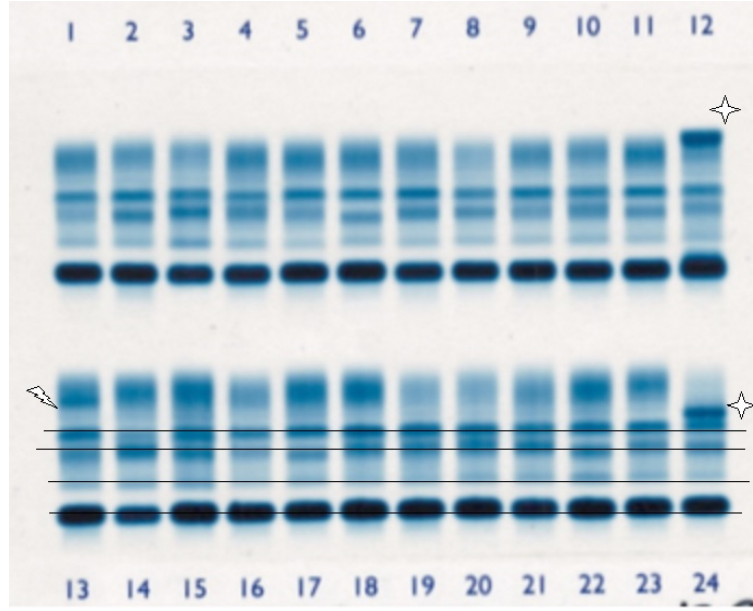
Neoplastik dokunun ürettiği M proteininin kanda tespiti klinik olarak şüpheli hastanın MG açısından ileri tetkikleri ve kesin tanısı için yönlendiricidir (6,7,8). Serum numunesinde M proteini tespiti elektroforez testi ile hasta kanındaki immünooglobulinlerin monoklonal/poliklonal ayırımının yapılabilmesi prensibine dayanmaktadır. 75 yıllık bir teknik olan protein elektroforezi yüklü moleküllerin elektriksel bir alanda göç etmesi olarak tanımlanır. Sıvı veya katı bir ortama elektrik akımı uygulanması ile yüklü moleküllerin ayırımı ve analizi için kullanılan bir tekniktir. Serum için uygulandığında binlerce klon plazma hücresi tarafından kana salınmış poliklonal nitelikteki immünooglobulinler Gaussian dağılımları nedeniyle elektroforez jeli üzerinde gama alanında bir sürüntü görünümünde izlenirken, tek bir klon tarafından üretilmiş monoklonal immünooglobulinler gama alanına sınırlı olmamak kaydıyla elektroforez jeli üzerinde düzgün sınırlı net bantlar oluştururlar (Şekil 1).

SPE değerlendirmesi

SPE değerlendirmesi, boyalı elektroforez jelinin, bu jel üzerindeki her numune kolunun dansitometrik tarama sonucu oluşturulan grafiğinin görsel değerlendirmesini ve grafik altı alanlardan hesaplanan değerlerin yorumlanmasını içerir. Modern SPE uygulamalarında tek jelde birden fazla numunenin sonucu izlenebilmektedir (Şekil 1). Bu durum numunelerin birbiri ile kıyaslanması avan-

tajını sunmaktadır. Bu testin değerlendirilmesinde üç aşamalı bir yol öneriyoruz. İlk aşamada elektroforez jeli kör değerlendirme diyebileceğimiz, hiçbir bilgiye sahip olmaksızın değerlendirilmelidir. Burada anodal uçtan katodal uca metodik bir inceleme yapılmalıdır. Sırasıyla albumin, alfa-1, alfa-2, beta ve gama alanları tüm hastaları birbiriyle karşılaştırarak dikkatlice incelenmelidir. Her alandaki şüpheli görünümeler not edilmelidir. Bu aşamada bariz olarak saptanan monoklonal bantlar ve şüpheli bulgular işaretlenebilir. Daha sonra elektroforez jeli 90 derece çevrilerek tekrar incelenmelidir. Aynı şekilde şüpheli ve kesin buluntular işaretlenmelidir. Alanları sırasıyla ve tüm hastaları birbiriyle karşılaştırmada metoda sadık kalmak son derece önemlidir. Klinik yönlendirmelerden uzak bu ilk değerlendirme çok kıymetlidir.

Monoklonal bantlar sıklıkla gama alanında bulunmalarına rağmen sadece bu alana odaklanmak yanlış olacaktır. Beta alanı hiç de nadir olmayarak monoklonal bantları barındırırken, teorik olarak tüm alanları şüpheli olarak kabul etmek gerekir. Monoklonal IgA gamopatisi olgularının yaklaşık %30'u beta alanında bulunurlar (9). Sıklıkla monoklonal bantları barındıran gama alanında yoğun poliklonal zemin monoklonal bantın görülmesine engel olabilir. Bu olgular daha detaylı değerlendirme için not edilmelidir. Gama alanının normalin altında protein içermesi ise başlı başına dikkat edilmesi gereken bir bulgudur. Bu durum bir yandan hastada immün yetmezlik durumları için uyarıcı olabilirken diğer yandan hastada baskılanmış kemik iliğini telkin ettiğinden MG yönünden şüpheli bir bulgudur. Bu olgularda net bir monoklonal bant saptamazsa ileri tetkik olarak immünfiksasyon elektroforezi düşünülebilir. Beta ve alfa alanlarında reaktif artışlar monoklonal bantları gizleyebilir. Bu olgular dikkatle incelenip jel üzerindeki diğer numunelerle karşılaştırıldığında nispeten daha geniş beta ve alfa bantları veya gama, beta, alfa alanlarında M protein nedeniyle birleşmeler gözlenebilir. Bu olguların dansitometrik grafikleri dikkatle



Şekil 1. 24 numuneli agaroz jel protein elektrofrez plağı

Figure 1. Agarose gel protein electrophoresis plate with 24 samples

Elektrofrez jelleri genel olarak birden fazla numune sonucunu birlikte değerlendirme olanağı sağlamaktadır. Jel metodik olarak, sırasıyla albumin, alfa-1, alfa-2, beta ve gama alanları ve tüm numuneleri birbiriyle karşılaştırarak değerlendirilmelidir. İlk değerlendirmede kesin monoklonal bantlar (12. ve 24. numuneler), şüpheli monoklonal bantlar (13. numune) ve dikkati çekici tüm bulgular (14. numunede albumin bandında, 16. numunede tüm bantlarda, 19. 20. numunelerde gama bandında düşüklük gibi) not edilmelidir. 2. aşamada olguya dair klinik, radyolojik ve laboratuvar verileri toplandıktan sonra üçüncü aşamada jel tekrar değerlendirilerek raporlanır. (24 numuneli 5 bantlı agaroz jel protein elektrofrez, Asit mavi ile boyalı, SAS 1 SP-24, Helena Laboratuvarları, Birleşik Krallık)

incelendiğinde M protein varlığının, reaktif olgulara kıyaslandığında, doğal piklerde asimetri ve düzensizlikler oluşturduğu saptanabilir. Bir diğer önemli nokta bir numunede birden fazla patolojinin birlikte olabileceği gerçeğidir. Örneğin, gama alanında monoklonal bant içeren bir numunenin diğer alanlarını dikkatle incelememek eşlik eden bulguları gözden kaçırmaya neden olacaktır. SPE alfa-1 anti-tripsin eksikliği, akut veya kronik inflamasyon, nefrotik sendrom, siroz gibi pek çok patoloji için tipik morfolojiler gösterebilir. Bunların nefrotik sendrom veya siroz gibi büyük çoğunluğu klinik ve diğer laboratuvar testleri ile tanı almış olgular olabilirken alfa-1 anti-tripsin eksikliği gibi bazı bulgular hastanın erken tanı almasına öncülük edebilecek değerli bilgilerdir (10). SPE'ni değerlendiren laboratuvar uzmanı bu bulguları rapora eklemekte kendi kararını verecektir.

SPE jeli değerlendirmesinde ikinci aşama detaylı ve dikkatli bir araştırmayı gerektirmektedir. Buradaki ana kural karar vermeden önce karara katkı verecek tüm bilgiyi toplamaktır. Laboratuvar uzmanı hastane bilgi işlem sistemi vasıtası ile tüm klinik verilere, radyoloji raporlarına, patoloji raporlarına ve diğer laboratuvar dallarının test sonuçlarına ulaşabilmelidir. Bir hastanın sonucunu değerlendirmeye başlarken hastanın tanı almış tedavi/takip sürecinde bir monoklonal gamopati hastası mı, yoksa monoklonal gamopati şüphesi olan yeni hasta mı olduğu bilgisi mutlaka bilinmelidir. Bu iki durumun değerlendirmesi birbirinden son derece farklı olup bu bilgiye sahip olunmadan değerlendirme problemlere neden olacaktır. Daha önce tanısı olmayan yeni hastaya yaş ve cinsiyet bilgileri ile başlanır. Hastalığın yaşlı popülasyonda sık olduğu bilinmektedir. 40 yaşın altında

görülme oranı ise % 2'dir (2). Dolayısı ile bu yaşın altındaki hastalarda temkinli olunmalıdır. Çok genç hastalarda SPE'de monoklonal bant saptandığında raporlamadan önce mutlaka klinik doktoru ile temasa geçilmelidir. Erkekler kadınlara oranla daha sık bu hastalığa yakalanmaktadır. Bundan sonra numunenin gönderildiği bölüm ve mümkünse test istem nedeni öğrenilmelidir. Konsültasyon notları, radyoloji raporları özellikle karar aşamasında arada kalınan olgularda faydalı olacaktır. Hastalığın doğası gereği özellikle radyoloji raporları son derece önemlidir. Hastalığı telkin eden radyolojik bulgular pozitif bir olguyu daha güvenle raporlamayı sağlarken, şüpheli bir SPE sonucunu yorumlarken ileri tetkikler önermede etkili olabilir. Hasta popülasyonu genelde yaşlı olduğundan hali hazırda tanı alınmış diğer hastalıkların bilgileri dikkate alınmalıdır. Hematolojik ve romatolojik hastalıklarda saptanan monoklonal bantlar mutlaka klinik doktoru ile birlikte değerlendirilmelidir. Hastaların kullandığı ilaçlar da son zamanlarda önem kazanmıştır. Monoklonal antikor tedavileri SPE çalışmalarında bilinen interferans kaynaklarıdır (11). Pek çok tıp dalında gittikçe daha sık kullanılan bu ilaçlar sadece tanıda değil tedavi ve takipte de sorun yaratabilir. Hastanın tüm laboratuvar testleri dikkatle incelenmelidir: anemi, hiperkalsemi, total proteinde albumin ile orantısız artış, böbrek fonksiyon testlerinde bozulma gibi hastalığın sık belirtilerinin varlığı veya yokluğu değerlendirmede yönlendirici olabilir. Bu testler içinde serum serbest hafif zincir testleri özel bir öneme sahiptir. Serum serbest hafif zincir oranının korunmuş veya bozulmuş olması son derece önemlidir. Bu testi değerlendirirken testin "serbest" hafif zincir miktarını ölçtüğünden emin olunmalıdır (8,12). Hafif zincirlerin miktarından ziyade birbirine oranları belirleyicidir. Bu test ile SPE sonucu arasında çelişkiler dikkate alınmalıdır. İmmüfiksasyon testi ile doğrulama noktasında serum serbest hafif zincir oranındaki bozulma SPE testinde şüpheli monoklonal bant görmek kadar değerlidir. Sadece hafif zincir üreten MG hiç de nadir değildir. Bunların tüm

olgular içinde %15'e yakın bir oranda olması dikkate alınması gereken bir bilgidir(13). Bu tip M protein, molekül ağırlığı düşük olduğundan dolaşımdan hızla temizlenir. Dolayısı ile hasta kanında SPE testinde saptanamayacak kadar düşük konsantrasyonda olabilir. SPE'in yetersiz kaldığı bu olgularda serum hafif zincir oranındaki bozulma sonraki doğrulama immüfiksasyon testi için uyarıcı olacaktır (8).

Kesin pozitif, kesin negatif, şüpheli

Üçüncü aşamada toplanılan tüm veriler ışığında SPE jeli tekrar değerlendirilir. Bir kısım olgular ilk kör değerlendirmede monoklonal bant pozitif olarak değerlendirildikten sonra ikinci aşamada klinik, radyolojik ve laboratuvar testler ile hastalık varlığı desteklenir. Bu olgular güvenle pozitif olarak rapor edilebilirler. Bir kısım olgular ise ilk değerlendirmede monoklonal bant negatif olarak değerlendirildikten sonra ikinci aşamada klinik, radyolojik ve laboratuvar testleri ile bu sonuç desteklenir. Bu olgular da güvenle negatif olarak rapor edilebilirler. Üçüncü grup bu ikisi dışında kalan oldukça heterojen bir gruptur. Pratik anlamda SPE istenen her hasta klinik, radyolojik ve laboratuvar testleri ile hastalık yönünden riskli görülmüş kabul edilir; dolayısı ile bariz monoklonal bant saptanan tüm olgular kesin pozitif gruba dahildir. Bu noktada sorunlu bir grup belirsiz monoklonal bantların görüldüğü olgulardır. Bu olgular mutlaka klinik ile istişare edilerek, ikinci aşamada toplanan bilgilerin ışığında yorumlanarak rapor edilmelidir. Şüpheli olgularda her test gibi SPE'in de interferans riski akılda tutulmalıdır. Numunede fibrinojen varlığı, hemoliz, yüksek C-reaktif protein, yüksek C3, yüksek transferin başta olmak üzere bir dizi etken monoklonal M protein bandını taklit edebilecek interferans kaynaklarıdır. SPE aşamasında oluşturdukları şüpheli bantlar doğrulama immüfiksasyon elektroforezi çalışmasında negatif sonuç vereceğinden dikkatli olunduğunda sorun olmayacaklardır (11). Bazı durumlarda bu interferansların immüfiksasyon elektroforezinde anti-IgA antikorları ile pozitif reaksiyon verebilecekleri akılda

tutulmalıdır (14). Diğer bir sorunlu grup ilk aşamada negatif olarak değerlendirilen ancak ikinci aşamada toplanan bilgiler ile hastalık şüphesi kuvvetlenen olgulardır. Bunlar da yine klinik ile istişare edilerek rapor edilmelidir. Bu son iki grup için şüpheli monoklonal bandın takibi amacıyla belli bir süre sonra SPE tekrarı uygun olacaktır. Türk Hematoloji Derneği Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzunda bu durumlar için bir süre önerilmemiştir.

SPE raporlama

Monoklonal gamopati taramasında SPE kilit testtir. Pozitif olgular kemik iliği biopsisi, akım sitometri ve genetik testler gibi ileri tetkikler ile tanı alırlar (2). Testten edinilen bilgiler ilk tanı dışında hastalığın alt tiplendirmesinde de belirleyicidir. Öyle ki bu klinik sınıflandırmaya göre sonraki süreçte tedavi ve takip prosedürleri belirlenir. Türk Hematoloji Derneği Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzunda tarif edildiği haliyle Önemi Bilinmeyen Monoklonal Gamopati (MGUS), Smoldering Myelom, Multipl Myelom skalasında her hastanın konumu belirlenir. Bu konuma göre sınıflandırmanın bir ucunda MGUS olarak değerlendirilen hastalar herhangi bir tedavi almadan takip edilirken, ilerlemiş MM hastaları ileri tetkik ve tedavi sürecine girerler. Hasta sağlığı için son derece kritik bu sürecin belirleyicisi olarak SPE testi Türk Hematoloji Derneği Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzu gereklerini karşılayacak şekilde rapor edilmelidir.

Doğal olarak ön plandaki konu monoklonal M protein bandının hastaya ait numunede mevcut olup olmadığıdır. Üç aşamalı değerlendirmede pozitif olarak saptanan olgular bu şekilde rapor edilir. Raporlama formatı konusunda çeşitli kaynaklar tarafından önerilen farklı şekiller mevcuttur (8,10,15,16). Ancak SPE raporlamasında ulusal bir standardizasyon da belli bir gerekliliktir. Bizim önerdiğimiz pozitif, negatif ve şüpheli olgu raporları sırasıyla aşağıdaki gibidir:

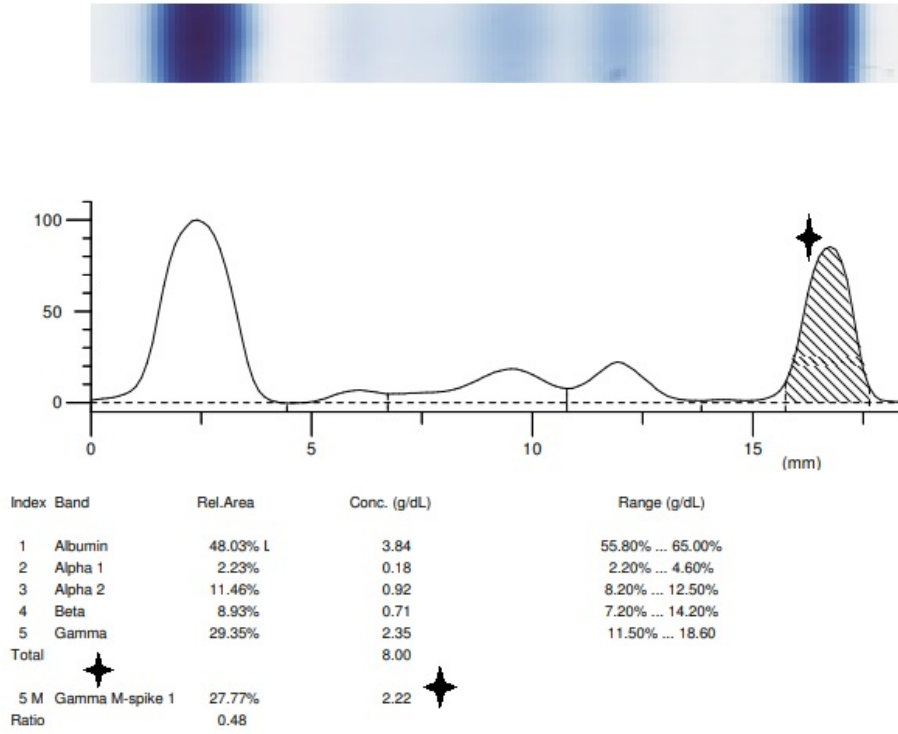
(+) Monoklonal bant izlendi. Bant alanına lokalizedir. İmmünfiksasyon elektrofrez çalışması uygundur.

(-) Monoklonal bant izlenmedi.

(?) Şüpheli monoklonal bant izlendi. Bant alanına lokalizedir.

Şüpheli olgular hastanın klinik doktoru ile birlikte değerlendirilmeli, değerlendirmenin sonucu detaylı bir şekilde rapora eklenmelidir. Bu olguların büyük kısmı immünfiksasyon elektrofrez çalışmasından fayda görecektir; yine de gerekliliğine laboratuvar uzmanı karar vermelidir. Pozitif ve şüpheli olgularda monoklonal bandın lokalizasyonu mutlaka raporda bulunmalıdır. Bu, takip SPE çalışmalarının sağlıklı değerlendirilmesi için elzemdir.

Jel elektrofrez raporlanması Türk Hematoloji Derneği Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzu gereklerini karşılamak üzere kalitatif ve kantitatif olarak yapılmalıdır. Kalitatif değerlendirme monoklonal bant izlendi veya izlenmedi şeklinde rapor edilirken kılavuzda da açıkça görüldüğü üzere hastanın tedavi ve takibini belirleyecek klinik sınıflandırması için monoklonal bant olarak tespit edilen M proteinin kantitatif ölçümü mutlaka gereklidir. Elektrofrez jelleri ticari programlar vasıtası ile dansitometrik yöntemle grafiklere çevrilip grafik altı alanlar yüzde olarak hesaplanabilmektedir (Şekil 2). Hastanın serum total protein miktarı bilindiği takdirde 5 bantlı jellerde albumin, alfa-1, alfa-2, beta ve gama fraksiyonlarındaki protein konsantrasyonları hesaplanabilir. Monoklonal bantların tespit edildiği örneklerde bandın karşılığı olan grafik piki manuel olarak ayrıldığında numunedeki M protein miktarı kantitatif olarak belirlenebilir. Pozitif olguda M protein konsantrasyonu mutlaka raporda bulunmalıdır. Birim olarak Türk Hematoloji Derneği Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzunda kullanılan g/dL tercih edilmelidir. M proteini ölçümü amacıyla uygulanan M protein piki grafik kesiminde standart bir yöntem yoktur (8,10,15,16). Önemli olan nokta hastada hangi yöntem tercih edilmişse onunla devam etmektir. Aynı hastanın takibinde farklı pik kesim yöntemleri kullanmak hastanın klinik doktoru için yanıltıcı olacaktır.



Şekil 2. Dansitometrik grafide gama alanında izlenen monoklonal bant ve M protein miktarı

Figure 2. Monoclonal band observed in gamma region on densitometric graph and M protein amount.

Her numuneye ait jel elektroforez kolonu (üstte) yazılımsal olarak dansitometrik grafiğe çevrilmiştir. Bantların grafik altı alanları toplamın yüzdesi olmak üzere hastanın serum total protein miktarı sisteme girildiğinde tüm fragmanların konsantrasyonu hasta sonuç raporunda görülebilmektedir. Olgunun jel elek-troforezinde gama alanında izlenen monoklonal bant grafikte baskılanmış gama alanında jel görüntüsü ile uyumlu bariz bir pik olarak görülmektedir. Dik düşüm tekniğiyle kesildiğinde pik alanı g/dL biriminde M protein miktarını vermektedir (Yıldız işaretli 2,22 g/dL). (Platinum yazılımı ile taranmış SPE, Helena Laboratu-varları, Birleşik Krallık)

Monoklonal bant mevcudiyeti, monoklonal bantın lokalizasyonu, gerekli ise immünfiksasyon elektroforezi önerisi rapora eklendikten sonra diğer alanlardaki patolojik görünüm rapor edilebilir. Gama alanındaki bantlar için gama alanının zemin durumu rapora eklenmelidir. Yoğun poliklonal zeminde ölçülen M protein konsantrasyonu tayininin güvenilirliğinin düşük olduğu klinik doktoruna bildirilmelidir. Yine takip SPE M protein tayininde poliklonal zeminin durumdaki değişiklikler M protein konsantrasyonu takibinde de dikkate alınmalıdır. Monoklonal bant izlenen veya izlenmeyen her numunede albuminden gama alanına kadar tüm jel dikkatle değerlendirilerek normal insanda olmaması gerektiği halde örnekte gözlenen veya normal insanda

bulunması gerektiği halde örnekte gözlenmeyen veya normalden farklı kayda değer tüm bulgular rapor edilmelidir.

SPE tümör tarafından üretilen immüno-globulin yapısındaki M proteini tespit etmek amacıyla yapılan bir testtir. MG %2 oranında M protein sentezlememektedir (non-sekretuar MM); dolayısı ile bu tümörler SPE ile saptanamazlar (17). M proteinin çok düşük konsantrasyonda olduğu bir kısım tümör de elektroforez alanlarının doğal elemanlarının oluşturduğu zeminde saptanamayabilir. SPE'in de bir saptama limiti olduğu akıld tutulmalıdır (18,19). Bu yazıda kapiller elektroforezden bahsedilmemiş olmakla birlikte SPE için bahsedilen temel prensipler bu test için de geçerlidir (20).

SONUÇ

2022 yılı Sağlık Uygulama Tebliği(SUT)'nde SPE, L106360 işlem kodu ile Biyokimya Laboratuvar İşlemleri kapsamındadır. Klinik biyokimya uzmanı testin ihale sürecinden testin laboratuvarında doğru uygulanması ve doğru raporlanmasına kadar tüm aşamalardan sorumludur. Önerdiğimiz 3 aşamalı değerlendirmesi ile son derece zaman ve emek gerektiren test, konsültasyon kapsamında ve hatta gelecekte klinik biyokimya polikliniği kapsamında değerlendirilebilir. Sorumlu uzman pozitif SPE sonrası immünfiksasyon testini refleks test olarak kontrolünde tutabilir. İlk aşamada gereksiz olarak değerlendirdiği testleri iyi laboratuvar uygulamaları kapsamında reddedebilir (21).

KAYNAKLAR

1. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15:e538-48.
2. Türk Hematoloji Derneği. Multipl Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzu, Sürüm 1.03 - Mart 2020.
3. International myeloma working group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *British J Haematol* 2003;121:749-757.
4. Edelman GM, Gally JA. The nature of Bence-Jones proteins. Chemical similarities to polypeptide chains of myeloma globulins and normal gamma-globulins. *J Exp Med* 1962;116:207-27.
5. Timchenko MA, Timchenko AA. Influence of a Single Point Mutation in the Constant Domain of the Bence-Jones Protein bif on Its Aggregation Properties. *Biochemistry (Mosc)* 2018;83:107-118.
6. Katzmann JA, Kyle RA, Benson J, Larson DR, Snyder MR, Lust JA, et al. Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 2009;55:1517-1522.
7. Willrich MAV, Katzmann JA. Laboratory testing requirements for diagnosis and follow-up of multiple myeloma and related plasma cell dyscrasias. *Clin Chem Lab Med (CCLM)* 2016;54:907-919.
8. Keren DF, Bocsi G, Billman BL, Ezzell J, Faix J, Kumar S, et al. Laboratory detection and initial diagnosis of monoclonal gammopathies: guideline from the College of American pathologists in collaboration with the American Association for Clinical Chemistry and the American Society for Clinical Pathology. *Arch Path Lab Med* 2022;146:575-590.

Ne yazık ki testin yurt çapında uygulanmasında standardizasyon ve harmonizasyondan bahsetmek oldukça zordur. Bu yazının bir amacı uygulayıcılara testin değerlendirilmesinde metodik bir yaklaşımın empoze edilmesidir. Diğer bir amaç raporlamada içerik anlamında bir minimal standardizasyon sağlamaktır. Bu konuda yol gösterici olarak Türk Hematoloji Derneği Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzu alınmıştır. Uygun şekilde değerlendirilip hazırlanan SPE raporu uluslararası standartlarda hastalığın sınıflandırmasında, tedavisinin ve takibinin planlanmasında gerekli tüm verileri klinik biyokimya uzmanının imzasıyla içermelidir.

9. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2003;78:21-33.
10. Morrison T, Booth RA, Hauff K, Berardi P, Visram A. Laboratory assessment of multiple myeloma. *Adv Clin Chem* 2019;89:1-58.
11. Christopher RM, Jacobsb JFM, Kerenc D, Caillond H, Dejoied T, Anderseneet K, et al. Recognition and management of common, rare, and novel serum protein electrophoresis and immunofixation interferences. *Clin Biochem* 2018;51:72-79.
12. International Myeloma Working Group. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009;23:215-24.
13. Rafae A, Malik MN, Abu Zar M, Durer S, Durer C. An overview of light chain multiple myeloma: clinical characteristics and rarities, management strategies, and disease monitoring. *Cureus* 2018;10:e3148.
14. Snyder JA, Willis MS, Grenache DG. Immunofixation reveals an apparent α heavy chain caused by precipitation of fibrinogen with IgA antiserum. *Clin Chim Acta* 2006;368:192-194.
15. Tate JR, Keren DF, Mollee P. A global call to arms for clinical laboratories - Harmonised quantification and reporting of monoclonal proteins. *Clin Biochem* 2018;51:4-9.
16. Singh G. Serum and Urine Protein Electrophoresis and Serum-Free Light Chain Assays in the Diagnosis and Monitoring of Monoclonal Gammopathies. *J Appl Lab Med* 2020;5:1358-1371.
17. Migkou M, Avivi I, Gavriatopoulou M, Cohen YC, Fatiou D, Kanellias N, et al. Clinical characteristics and outcomes of oligosecretory and non-secretory multiple myeloma. *Ann Hematol* 2020;99:1251-1255.

18. Jacobs JFM, Turner KA, Graziani MS, Frinack JL, Ettore MW, Tate JR, et al. An international multi-center serum protein electrophoresis accuracy and M-protein isotyping study. Part II: limit of detection and follow-up of patients with small M-proteins. Clin Chem Lab Med 2020;58:547-559.
19. Turner KA, Frinack JL, Ettore MW, Tate JR, Graziani MS, Jacobs JFM, et al. An international multi-center serum protein electrophoresis accuracy and M-protein isotyping study. Part I: factors impacting limit of quantitation of serum protein electrophoresis. Clin Chem Lab Med 2020;58:533-546.
20. Keren DF, Schroeder L. Challenges of measuring monoclonal proteins in serum. Clin Chem Lab Med 2016;54:947-61.
21. Genzen JR, Murray DL, Abel G, Meng QH, Baltaro RJ, Rhoads DD, et al. Screening and diagnosis of monoclonal gammopathies: an international survey of laboratory practice. Arch Path Lab Med 2018;142:507-515.