

Klinický význam hodnocení sérových hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu u monoklonálních gamapatií

Študla V.¹, Schneiderka P.², Pika T.¹, Minařík J.¹, Bačovský J.¹, Farbiaková V.³

¹III. interní klinika LF UP a FN, Olomouc

²Oddělení klinické biochemie LF UP a FN, Olomouc

³Hematologické oddělení, Nemocnice Třinec

SOUHRN

Náplní sdělení je souhrnná informace o klinickém významu kvantitativního vyšetřování sérových hladin volných lehkých řetězců (S-VLŘ) imunoglobulinu a jejich vzájemného poměru (index κ/λ) u jednotlivých forem monoklonální gamapatie (MG). Autoři popisují metodické aspekty automatizované kvantitativní imunochemické analýzy, využívající vysoce avidní polyklonální protilátku proti vnitřnímu epitopu molekul LŘ κ a λ , která umožňuje spolehlivé stanovení VLŘ. Je popsán stěžejní přínos vyšetřování S-VLŘ a indexu κ/λ pro diagnostiku Bence-Jonesova ne- a hyposekretorického i IgD typu mnohočetného myelomu (MM), ale i pro průběžné hodnocení vývoje, hloubky léčebné odezvy, trvání stabilní/plateau fáze pro časné rozpoznání relapsu/progrese a léčebné rezistence i pro vymezení hloubky kompletní remise tzv. stringent KR (sKR) u všech forem MM. Popsán je také význam pro diagnostiku a hodnocení léčebné odezvy u systémové AL-amyloidózy, primární makroglobulinémie a solitárního plazmocytomu; diskutována je i monoklonální gamapatie nejistého významu včetně její stratifikace do 3 rizikových skupin (low, intermediate, high risk), s odlišným prognostickým výhledem. Ze sdělení vyplývá, že zavedení této moderní imunochemické metody umožňující kvantifikaci S-VLŘ otevřelo bránu k novým klinickým aplikacím, zejména však k přesnější diagnostice a monitorování průběhu prakticky všech typů MG.

Klíčová slova: volné lehké řetězce imunoglobulinu, automatizovaná imunochemická analýza, monoklonální gamapatie, Bence-Jonesův myelom, nesekretorický myelom, AL-amyloidóza, primární makroglobulinémie, monoklonální gamapatie nejistého významu.

SUMMARY

Študla V., Schneiderka P., Pika T., Minařík J., Bačovský J., Farbiaková V.: Clinical importance of evaluating serum levels of free light chains of immunoglobulins in monoclonal gammopathies

The aim of the presented study is to display general information about the clinical significance of quantitative assessment of serum free light chains (S-FLC) of immunoglobulins and their mutual ratio (index κ/λ) in individual forms of monoclonal gammopathies (MG). The study describes methodical aspects of automatic quantitative immunochemical analysis using high avidity polyclonal antibody against the internal epitope of the molecules of LC κ and λ enabling reliable detection of FLC. It also demonstrates the fundamental contribution of assessment of S-FLC and the κ/λ index for the diagnostics of Bence-Jones, non- and hyposecretory and IgD multiple myeloma, and also for continual evaluation of the course of the disease, depth of therapeutic response, duration of stable/plateau phase, for early recognition of relapse/progression and therapy resistance as well as the assessment of the depth of therapeutic response (stringent complete remission, sCR) in all forms of MM. We also describe the significance for the diagnostics and evaluation of therapeutic response in systemic AL-amyloidosis, primary macroglobulinemia and solitary plasmacytoma, we also discuss the contribution for evaluation of monoclonal gammopathy of undetermined significance including its stratification to three groups (low, intermediate and high risk) with different prognosis. The presented study concludes that the introduction of this modern immunochemical method enabling the quantification of S-FLC makes the way for new clinical applications, especially for more precise recognition and monitoring of the course of practically all types of MG.

Key words: free light chains of immunoglobulins, automatic immunochemical analysis, monoclonal gammopathy, Bence-Jones myeloma, non-secretory myeloma, AL-amyloidosis, primary macroglobulinemia, monoclonal gammopathy of undetermined significance.

Úvod

Monoklonální gamapatie (MG) jsou stavy vyznačující se maligní nebo potencionálně maligní monoklonální proliferací elementů B-buněčné linie a charakterizované produkcí homogenního/monoklonálního proteinu (M-protein, M-komponenta, „paraprotein“), nebo jeho strukturálních komponent, tj. lehkých řetězců (LŘ) κ nebo λ , vzácně i těžkých řetězců molekuly imunoglobulinu typu α , γ , μ , δ [3, 11, 16, 38].

Z rozsáhlé analýzy souboru 1 056 nemocných provedené na Mayo klinice v roce 2002 vyplynulo, že nejčastější MG je monoklonální gamapatie nejistého vý-

znamu (MGNV, 59 %), vzácněji primární systémová AL-amyloidóza (asi 12 %), zatímco ve skupině maligních MG jde především o mnohočetný myelom (MM) a jeho variantní formy (~ 20 %), u ~3 % o zhoubné lymfoproliferativní stavy, tj. ne Hodgkinské lymfomy (NHL), chronickou lymfatickou leukémií (CLL), primární Waldenströmovou makroglobulinémií (2 %) a solitární plazmocytom (1 %), zatímco velmi vzácné (~ 3 %) jsou „nemoci z depozice lehkých řetězců“ a „nemoci těžkých řetězců“ [23, 38].

Odlišení jednotlivých typů MG se opírá v běžné klinické praxi o standardní diagnostická kritéria, přesto se vyskytují v běžné praktické rovině hraniční situa-

ce, které vyžadují další speciální diagnostické testy [2, 3, 16]. Zejména variantní formy MM, např. nese-kretorický a oligosekretorický typ nemoci, MM s izolovanou produkcí pouze strukturálních komponent monoklonálního imunoglobulinu (MIG), tj. Bence-Jonesův (B-J) typ, IgD typ a MM provázený depozity AL-amyloidu či solitární plazmocytom, jsou v klinické praxi rozpoznávány vzhledem k obtížně podchytilelné přítomnosti M-proteinu v elektroforeogramu nezdědká pozdě, složité je i sledování jejich vývoje a hodnocení léčebné odezvy [13].

Náročnost problematiky je umocněna i technickými a interpretačními limitacemi konvenčních běžně používaných metod jak v detekci, tak i v kvantifikaci MIG a jeho strukturálních komponent, tj. standardní elektroforézy, imunofixace, imunoprecipitačních postupů a kapilární elektroforézy [4, 5, 6, 11, 38]. V průběhu posledních let se dosavadní paleta analytických metod používaných k vyšetření lehkých řetězců rozšířila o velmi citlivou metodu automatizované imunochemické analýzy volných lehkých řetězců imunoglobulinu (VLŘ), která používá běžné proteinové analyzáto-ry a využívá specifickou detekční protilátku, např. souprava FreeLite™ Binding Site, Birmingham [4, 5]. Vhodným výběrem antigenů a postupnými „vysycovacími“ operacemi byla A. R. Bradwellem připravena v roce 2000 unikátní, vysoce avidní polyklonální protilátka proti vnitřnímu epitopu molekul lehkých řetězců κ a λ , která umožňuje pomocí nefelometrické nebo turbidimetrické techniky vysoce specifické a kvantitativní stanovení velmi nízkých koncentrací (již od 2 mg/l) obou volných lehkých řetězců [4, 5]. Exkluzivní vazba na vnitřní epitop molekul lehkých řetězců, který je v celkové molekule nepřístupný, znemožňuje zkříženou reaktivitu s lehkými řetězci vázanými v molekule intaktního imunoglobulinu, a umožňuje tedy spolehlivé stanovení skutečně volného LŘ [4, 5]. Nutno podotknout, že v současnosti probíhají na OKB FN v Hradci Králové úspěšné testy ověřující možnost kvantitativního stanovení S-VLŘ pomocí ELISA techniky.

Předložené sdělení se zaměřilo na poskytnutí souborné informace o praktických možnostech využití této nové, rychle se rozšiřující laboratorní techniky, která se během neobyčejně krátké doby zařadila do kmenové výbavy řady biochemických pracovišť a vyvolala upřímný zájem klinických hematologů, onkologů a internistů.

Charakteristika metody

Za fyziologických okolností je vytvářeno denně asi 500 mg VLŘ, které jsou velmi rychle rozprostřeny v intravaskulárním i extravaskulárním prostoru. Tvorba VLŘ je zhruba o 40 % vyšší než syntéza těžkých řetězců, dochází proto k jejich „rozpražení“, přičemž VLŘ typu κ jsou vytvářeny asi v dvojnásobném množství než VLŘ typu λ . Za normálních okolností jsou VLŘ séra (S-VLŘ) vylučována a následně metabolizována ledvinami, přičemž stupeň „očisty“ závisí na jejich molekulové hmotnosti. Monomerní typ VLŘ (většinou κ) je proto odstraňován v průběhu 2–4 hodin, zatímco dimerický VLŘ (většinou λ) je

katabolizován v průběhu 3–6 hodin a případně velké komplexní polymery jsou odstraňovány ještě podstatně pomaleji [4, 5]. Monomery κ jsou filtrovány asi 3krát rychleji než molekuly dimerického typu λ , takže přes nižší stupeň syntézy obsahuje normální sérum vyšší hladiny VLŘ typu λ , přičemž v případě renální insuficience se celý proces sérové „očisty“ prodlužuje na 2–3 dny [5]. VLŘ jsou téměř kompletně reabsorbovány a katabolizovány v oblasti proximálních tubulů, převýší-li ale množství VLŘ jejich absorpční kapacitu, dochází v distálních tubulech k tvorbě depozit a odliktových precipitátů vedoucích k poškození nefronu. V důsledku těchto procesů dochází k vzestupu hladin S-VLŘ s poklesem jejich koncentrace v moči, což může vést méně zkušeného lékaře k falešné interpretaci stability, nebo i zlepšení vývoje nemoci. Z výše uvedených důvodů, ale také z řady dalších přidružených příčin, má sledování VLŘ v moči podstatně nižší informační hodnotu než hodnocení hladin VLŘ v séru [5].

Automatizovaná imunochemická analýza S-VLŘ κ a λ pomocí vysoce specifické detekční protilátky se vyznačuje vysokou senzitivitou (98%), specificitou (95%), pohotovostí a přesností (96%) [5, 17]. Je podstatně citlivější než standardní elektroforéza (~ 100krát), imunofixační postupy (10–20krát) i kapilární elektroforéza, neboť tyto analytické postupy nezachycují asi 30–40 % patologických koncentrací monoklonálních S-VLŘ [5, 11]. Příklad grafického rozložení naměřených hodnot S-VLŘ u jednotlivých typů MG s porovnáním citlivosti elektroforetické, imunofluorescenční (IF) a imunochemické metody vyplývá z obrázku 1. Imunochemická metoda poskytuje kvantitativní výsledky i při negativitě IF, v izolované podobě je však nevhodná pro screening MG, neboť by mohlo dojít ke snížení zachytu některých jedinců s MG. Vyšetření S-VLŘ umožňuje výpočet poměru koncentrací dominantního a alternativního VLŘ κ/λ , tj. indexu monoklonality κ/λ . Normální hodnoty koncentrací S-VLŘ u zdravých dospělých jedinců jsou: κ – 7,3 (3,3–19,4), λ – 12,7 (5,7–26,3) mg/l, index κ/λ – 0,6 (0,26–1,65) [5, 17].

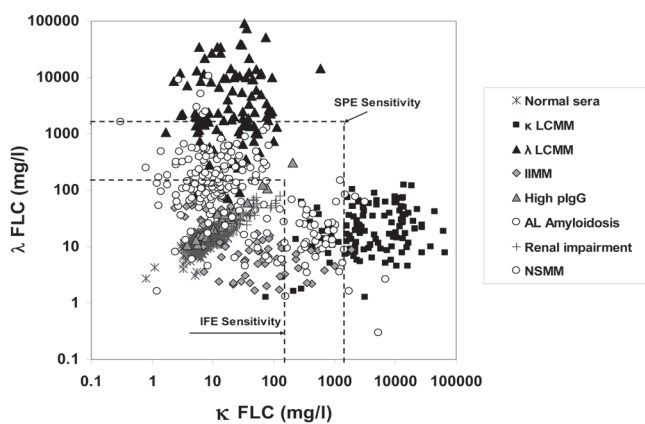


Fig. 1. Composite figure of serum free light chain (FLC) concentrations in various diseases (Courtesy AR Bradwell [5])
LCMM – light chain multiple myeloma; IIMM – intact immunoglobulin multiple myeloma; High plgG – polyclonal hypergammaglobulinaemia; NSMM – nonsecretory multiple myeloma.

Hladina dominantního S-VLŘ je nepřímým indikátorem celotělové masy neoplastických B-buněk (u MM myelomových plazmocytů), zatímco koeficient κ/λ je ukazatelem buněčné monoklonality, tj. poměru neoplastické monoklonální myelomové populace vůči suprimované reziduální populaci normálních plazmocytů. Koncentrace obou typů VLŘ v séru se může významně zvyšovat např. u různých imunopatologických stavů provázených zvýšenou syntézou polyklonálních imunoglobulinů, při poklesu glomerulární filtrace, ale i v důsledku snížené „clearance“ VLŘ v případě jejich polymerizace. V těchto situacích však nedochází ke změně poměru κ/λ [5]. Stanovení indexu κ/λ umožňuje zejména v případě výrazně abnormálních hodnot S-VLŘ rozlišit vzestup monoklonálního nebo polyklonálního typu VLŘ, tj. „monoklonálního“ či „polyklonálního“ stavu [4, 5]. Koncentrace obou typů S-VLŘ (κ/λ) nejsou odlišné v závislosti na pohlaví, věku (i když v období > 70 let dochází k mírnému vzestupu hladin úměrně k poklesu glomerulární filtrace, a to beze změny indexu κ/λ), koeficient κ/λ se rovněž nemění v případě biklonálního typu MG s proporcionální syntézou řetězců κ a λ . Vzhledem k tomu, že rozptýl koncentrací VLŘ i hodnot indexu κ/λ je v moči mnohem širší než v séru, je mnohem výhodnější analýza sérových hladin VLŘ [4, 6]. Analýza sérové hladiny VLŘ u MG je minimálně alternativním detekčním testem k vyšetření přítomnosti bílkoviny v moči [14]. Z uvedeného vyplývá, že u nemocných s malou velikostí neoplastické plazmocelulární masy je možno považovat vyšetřování a monitorování hladin S-VLŘ v diagnostice a v hodnocení průběhu MM za doslova revoluční změnu [8].

Klinický význam hodnocení hladin VLŘ v séru

Mnohočetný myelom

Imunochemické třídění MM odráží vcelku přirozené koncentrace jednotlivých tříd imunoglobulinů v organismu. Nejčastějším typem je IgG (59 %), podstatně méně častý je IgA (21 %) a B-J typ s izolovanou produkcí monoklonálního LŘ κ nebo λ (15 %), nejméně častý je nesekretorický (3 %) a vzácný biklonální či IgD typ s pouze ~ 1% výskytem [3, 23, 38]. Z praktického hlediska se jeví nejsložitěji diagnostika a hodnocení výsledků léčby především u nesekretorického a hyposekretorického, do jisté míry i B-J typu myelomu vyznačujícího se praktickými obtížemi s přesným určením denní diurézy a limitacemi běžných metodik používaných k hodnocení denního odbytu LŘ močí. Z dosavadních zkušeností vyplývá, že automatizovaná imunochemická metoda, umožňující kvantitativní hodnocení koncentrace S-VLŘ, našla uplatnění především u MM Bence-Jonesova, nesekretorického a IgD typu [5].

Bence-Jonesův („light chain“) mnohočetný myelom

U B-J typu MM lze s použitím elektroforézy s dobrou rozlišovací schopností prokázat přítomnost monoklonálního LŘ pouze asi u 50 % nemocných, neboť mi-

grační zóna může být umístěna v oblasti β - nebo α -globulinů, a tím překryta zónami jiných bílkovin [11]. Imunofixační metoda prokazuje S-VLŘ častěji (65–70 %), a proto je imunofixační vyšetření moče vhodnějším konvenčním vyšetřením v případě, kdy standardní analýza proteinurii neprokáže. V současnosti je však při podezření na MM B-J typu metodou volby kvantitativní imunochemická analýza séra prokazující v období diagnózy patologickou koncentraci jednoho z obou typů VLŘ v séru a/nebo změnu indexu κ/λ u prakticky 100 % nemocných [6, 28].

Předností automatizované imunochemické analýzy oproti imunofixační metodě je nejen vyšší citlivost, ale i schopnost kvantifikace S-VLŘ. V případě nízké produkce VLŘ a dobré „očistovací“ funkce ledvin nemusejí být VLŘ v moči detekovatelné a hodnocení rozsahu a změny nádorové masy odvozené z koncentrací S-VLŘ je podstatně směrodatnější [6]. Objevují se názory, že rozšíření elektroforetické a imunofixační analýzy séra o kvantitativní imunochemické stanovení hladin VLŘ v séru potlačuje v rámci diagnostického screeningu nezbytnost vyšetřování LŘ v moči, neboť nepodchytí pouze 0,5 % jedinců s prokázanou B-J uríí, a dochází tedy jen k minimální ztrátě diagnostické senzitivity [18]. Bylo prokázáno, že změna hladiny S-VLŘ je časnějším a přesnějším indikátorem stupně léčebné odezvy než odbyt VLŘ v moči, takže standardní analýza moče je v současnosti upotřebitelná jen výjimečně [6]. Vzhledem k pružné reakci na změnu celkového rozsahu myelomové tkáně se vyšetřování S-VLŘ neomezuje pouze na diagnostiku MM, ale i na monitorování výsledků léčby, neboť zpřesňuje dosavadní kritéria remise choroby (v případě KR normalizace sérových hladin a indexu κ/λ), trvání délky stabilní, „plateau“ fáze (stabilita hladin S-VLŘ a indexu κ/λ) i časné podchycení relapsu/progrese nemoci, protože ke změně koncentrací S-VLŘ a hodnoty indexu κ/λ dochází podstatně dříve než k nárůstu plazmocytů v kostní dřeni (KD) nebo k vzestupu hladiny intaktní formy M-proteinu v séru. V případě, že se nedosáhne úpravy indexu κ/λ a/nebo přetrvává elevace monoklonálního S-VLŘ, je nutno pomýšlet na perzistenci myelomového klonu. Při hodnocení je však nutno zohlednit i možný vliv rekonstituce polyklonálních plazmocytů v kostní dřeni po léčbě ovlivňující hladiny i vzájemný poměr obou VLŘ v séru. Z posouzení koncentrace alternativního typu LŘ v séru a poměru κ/λ lze usuzovat nejen na stav renální funkce, ale nepřímě i na aktuální poměry v kostní dřeni. Vysoká koncentrace VLŘ v séru a v moči přispívá nejen k rozpoznání „odlitkové“ formy myelomové nefropatie, ale i k rozhodnutí o zahájení léčby akutní renální insuficience každodenní hemodialýzou s použitím „high-flux“ dialyzátorů (Gambro HCO 1100) s vysokou permeabilitou pro VLŘ. V průběhu 2hodinové hemodialýzy dochází k poklesu S-VLŘ o 30–70 %, nutno však počítat s následnou reekvilibrací z extravazálních prostor. U části nemocných vede časná, každodenní dialýza k odstranění trvalé závislosti na dialyzační léčbě [15]. Analýza S-VLŘ má i rozměr diferenciatně-diagnostický, protože rozšiřuje paletu vyšetření používaných při

řešení bolestivých kostních stavů, patologických fraktur a onemocnění ledvin, zejména v případě nemožnosti získání močového vzorku. Zdá se, že pohnutý, více než 160letý příběh B-J bílkoviny, pravděpodobně 1. nádorového markeru, jenž předběhl ostatní ukazatele o více než jedno století, vstoupil do finální fáze [5].

Nesekretorická forma mnohočetného myelomu

Tato vzácná forma MM, která se vyskytuje ve 2 až 3 %, se podle konvenčních kritérií vyznačuje chyběním průkazu přítomnosti MIG nebo LŘ v séru a/nebo v moči při použití elektroforetických a imunofixačních metod, neboť citlivější techniky (např. imunohistochemické vyšetření plazmocytní kostní dřeni a metoda izoelektrické fokuzace) mohou stopovou produkci MIG prokázat téměř u 80–90 % případů [9, 31, 34]. U skutečně pravé nesekretorické formy MM (NSMM) prokazuje elektronmikroskopické vyšetření myelomových plazmocytní typický ultrastrukturální obraz [33]. Chybění MIG v séru a/nebo v moči u nesekretorické formy MM může být výsledkem neschopnosti exkrece nebo nízké syntetické kapacity pro MIG, ale i zvýšené intracelulární či rychlé extracelulární degradace paraproteinu [33]. Pouze 10–25 % nesekretorických forem MM je skutečně pravý „neprodukcující podtyp“, a nikoliv pouze neschopnost předání sekrečního produktu extracelulárně [30, 33]. Z rozsáhlé analýzy provedené British Medical Research Council Myeloma Trial v souboru 2 323 nemocných s MM vyplynulo, že NSMM byl zastoupen ve 2,8 %. U 68 % těchto nemocných byla zjištěna zvýšená hladina S-VLŘ a/nebo abnormální index κ/λ , další nemocní měli abnormálně nízké hodnoty alternativního LŘ a/nebo indexu κ/λ , takže změny hladin S-VLŘ a/nebo indexu κ/λ byly nalezeny celkem u 82 % nemocných s konvenčně stanovenou diagnózou NSMM [9]. Obdobně jako u B-J typu MM lze použít sledování pohybu hladin S-VLŘ a indexu κ/λ pro neinvazivní monitorování vývoje MM, tj. časné léčebné odezvy, progresu/relapsu, či stacionární, „plateau“ fáze choroby. Jde o mnohem přístupnější ukazatel než opakování radiografického, MR a FDG-PET/CT vyšetření nebo analýzu výskytu plazmocytní v kostní dřeni v krátkých časových intervalech. Bylo zjištěno, že úprava hladin S-VLŘ dobře koreluje s úpravou výsledku FDG-PET/CT vyšetření, a to asi s 1měsíčním předstihem [39]. V případě chybějící úpravy indexu κ/λ po léčbě je nutno pomýšlet na perzistenci myelomového klonu nebo neuspokojivou restituci „polyklonální/normální“ populace plazmocytní v KD [5]. Je zřejmé, že vyšetření hladin S-VLŘ se stalo naprosto přirozenou a integrální součástí diagnostického algoritmu při podezření na nesekretorickou nebo hyposekretorickou formu MM, přičemž negativní výsledek by měl být vždy doplněn o imunohistochemickou analýzu monoklonality plazmocytní (index κ/λ) v kostní dřeni k rozpoznání skutečně pravé „neprodukcující formy“ MM [11]. Dosavadní tradiční definice nesekretorické formy plazmocytního myelomu by měla být pozměněna s tím, že by nezahrnovala nemocné s přítomností klonálního S-VLŘ a/nebo abnormálního indexu κ/λ [33].

Mnohočetný myelom s intaktní molekulou monoklonálního imunoglobulinu

V případě MM s produkcí intaktní molekuly MIG jsou nacházeny VLŘ v séru méně často a s výjimkou renální insuficience i v nižších koncentracích než u B-J typu nemoci. V souboru 492 nemocných Myeloma Research Council Myeloma Trial bylo zjištěno zvýšení S-VLŘ u 88 % nemocných (IgG – 84 %, IgA – 92 % a IgD – 94 %), k obdobnému závěru, tj. výskytu u 81 % všech imunochemických typů MM, dospěla i analýza nemocných ze střední a severní Moravy [36]. U určité části jedinců byly tedy hladiny S-VLŘ v normálním rozmezí, nebo dokonce i snižené, přičemž index κ/λ byl abnormální jako výraz převahy klonálních myelomových plazmocytní vůči výskytu polyklonálních plazmocytní v KD. Abnormální koncentrace a/nebo patologický index κ/λ byly nalezeny u 96 % nemocných s MM s kompletním typem molekuly MIG [5, 36]. Bylo zjištěno, že vysoká bazální hodnota S-VLŘ i index κ/λ (volba poměru zvolena podle dominantního VLŘ) koreluje s hladinou kreatininu, laktátdehydrogenázy a stupněm infiltrace KD myelomovými plazmocyty a mají charakter nezávislého prognostického faktoru [31]. Zdá se, že prognostický význam S-VLŘ není vázán pouze na velikost myelomové masy a stupeň suprese normálních imunoglobulinů, ale i na vnitřní biologické vlastnosti myelomových buněk [21]. Rovněž byl zaznamenán diskrétní vztah k sérové hladině IgG a IgA typu M-proteinu [5].

Vzhledem k chybějící přítomnosti abnormálních hladin S-VLŘ u všech nemocných s MM s produkcí intaktní molekuly MIG je nutno považovat elektroforézu a imunofixaci séra, zejména u sekrečního typu MM, za naprosto nezbytnou diagnostickou metodu. V případě podezření na jakoukoliv formu MM se tedy doporučuje provést jak standardní elektroforézu a imunofixaci, tak i vyšetření S-VLŘ umožňující rozpoznání i méně obvyklých forem této nemoci. Všechny uvedené techniky mají své přednosti a navzájem se doplňují [5]. U MM se syntézou intaktní molekuly MIG lze vyšetření S-VLŘ využít obdobně jako u B-J a NSMM k pružnému hodnocení průběhu choroby, s možností časného rozpoznání příznivé léčebné odezvy s odhadem stupně selektivní cytoredukce myelomových buněk již po úvodních 1–2 cyklech terapie, tak i brzkého rozpoznání neúčinnosti zvolené léčby. Lze tak tedy přistoupit k výměně léčby např. u nemocných s negativitou imunofixačního vyšetření po vysokodávkované léčbě s autologní transplantací krevetvorných buněk (VL-ATKB) [13, 26, 27]. K význačnému poklesu hladin S-VLŘ o více než 25 % dochází již ~ 128 dnů před dosažením negativity imunofixační analýzy [27].

Ukazuje se, že přítomnost vysoké bazální hodnoty monoklonálního S-VLŘ jako výrazu pokročilého stadia MM spolu s jeho prudkým poklesem po VL-ATKB přispívá k rozpoznání nemocných s vysoce agresivní, prognosticky velmi nepříznivou formou nemoci [32]. Zjištění významného poklesu hladiny monoklonálního S-VLŘ umožňuje – vzhledem k jeho několikahodinovému poločasů katabolismu – rozpoznat nástup kompletní remise (KR) o několik měsíců dříve než monitorováním hodnoty M-komponenty, neboť úprava parametrů

S-VLŘ je považována za projev eradikace myelomového klonu [13]. U 2–5 % nemocných v relapsu může dojít k izolovanému nárůstu hladiny S-VLŘ bez adekvátního vzestupu koncentrace celé molekuly MIG (tzv. „Bence-Jones escape“).

Statisticky odlišné hladiny S-VLŘ byly rovněž zjištěny při porovnání stabilní vs aktivní formy MM [36]. V případě progresu myelomu již v průběhu chemoterapie lze záhy zaznamenat opětovný vzestup koncentrace monoklonálního S-VLŘ, takže monitorování jeho hladiny a indexu κ/λ umožňuje velmi brzké rozpoznání rekurence myelomu. Jako velmi zajímavé se ukázalo zjištění, že významnou oscilaci hladin S-VLŘ po autologní transplantaci krvetvorných buněk je možno považovat za potenciální indikátor rozvoje časné rezistence s reálnou hrozbou relapsu/progrese nemoci. Přítomnost abnormálních hodnot indexu κ/λ u 19 % nemocných splňujících konvenční kritéria KR vyzněla jako citlivý indikátor časného relapsu [35].

Ve studii British Medical Research Council Myeloma Trial byl zaznamenán abnormální index κ/λ u 31 % z 54 nemocných splňujících dosavadní kritéria KR, provázený nepříznivým vývojem nemoci a horší prognózou [5]. Dosažení stabilní/„plateau“ hladiny S-VLŘ může vést naopak k rozhodnutí o časném přerušení chemoterapie a tím i ke snížení rizika poškození krvetvorných kmenových buněk. Vyšetření hladin S-VLŘ zpřesňuje i hodnocení stupně léčebné odezvy u nemocných splňujících konvenční „elektroforetická“ kritéria KR. International Myeloma Working Group vypracovala v roce 2006 tzv. International Uniform Response Criteria zpřesňující předchozí kritéria KR. Byla vyčleněna nová kategorie tzv. stringent KR (sKR), která se vyznačuje normalizační hodnoty indexu κ/λ stanoveného z hladin S-VLŘ a vymizením myelomového klonu prokázaného imunohistochemickým nebo imunofluorescenčním vyšetřením KD [10]. Některé další ověřovací studie však poukázaly na obtížnost praktické aplikace vzhledem k tomu, že 1/3 nemocných s normální hodnotou indexu κ/λ měla pozitivní výsledek imunofixační analýzy séra [25].

Asymptomatická („dřímající/doutnající“) forma mnohočetného myelomu

Tato bezpříznaková forma MM je v současnosti zahrnována do I. stadia MM podle klasifikace Durieho-Salmona, vyskytuje se u ~ 4 % nemocných a vyznačuje se dlouhodobou, 12–32měsíční, případně i více než 10letou stabilitou bez potřeby specifické léčby. Zatím jen v rámci sporadických studií na početně omezených souborech bylo zjištěno, že abnormální hladiny S-VLŘ byly přítomny u 64–88 % a odchylný index κ/λ u 84–96 % jedinců [5]. Narůstající sérová hladina dominantního VLŘ a/nebo κ/λ indexu je považována za ukazatel progresu stavu. Jedinci s abnormální hodnotou indexu κ/λ mají podstatně horší prognózu než jedinci s hodnotou normální (celkové přežívání 24 vs 44 měsíců).

Primární systémová AL-amyloidóza

V rozsáhlé, retrospektivně pojaté studii v souboru 262 nemocných se systémovou AL-amyloidózou, provedené v London National Amyloidosis Centre, bylo

zjištěno, že 98 % nemocných mělo abnormální hladiny S-VLŘ [22]. Ve studii Mayo kliniky byla senzitivita imunochemického vyšetření S-VLŘ v souboru s průkazem AL-amyloidu v KD a s negativitou imunofixační elektroforézy séra 86% [1, 17]. Vzhledem k nízkému počtu plazmocytů v KD u systémové AL-amyloidózy je koncentrace S-VLŘ nízká (obvykle 30–500 mg/l), ale v případě renální insuficience zvýšená nezávisle na intenzitě syntézy LŘ. Srovnání koncentrací S-VLŘ vyšetřených pomocí imunoseje a elektroforézy vyznělo rozpačitě, neboť v 10 % byla zjištěna při imunochemické analýze normální hladina S-VLŘ, ačkoliv imunofixační elektroforéza byla pozitivní. Tento vzácný výskyt normální hladiny S-VLŘ u systémové AL-amyloidózy je vysvětlitelný mj. rychlým únikem VLŘ z cirkulace nebo vysokou afinitou molekul některých VLŘ k již vytvořeným depozitům amyloidu. Nejvyšší 99% senzitivitu má při rozpoznání systémové AL-amyloidózy současné použití imunochemické i imunofixační techniky. Počáteční hladina S-VLŘ koreluje obvykle s hodnotou troponinu a s rozsahem i četností postižených orgánů [8]. Monitorování hladin S-VLŘ v průběhu léčby systémové AL-amyloidózy je neobvykle přínosné, protože umožňuje pružné hodnocení nástupu a stupně léčebné odezvy, přičemž hodnocení absolutní hodnoty VLŘ v séru se jeví významnější než změna indexu κ/λ [8]. Pro zabránění tvorby a dosažení případné regrese depozit amyloidu je nutné potlačit plazmocelulární klon, což lze hodnotit podle snížení koncentrace S-VLŘ, přičemž žádoucí metou je pokles o 50–70 % (optimálně o 90 %), provázené podstatným prodloužením celkového přežívání (5leté přežívání u 88 % nemocných).

Nepříznivou prognózou a nejkratším celkovým přežitím se vyznačují jedinci s vysokou počáteční koncentrací S-VLŘ a/nebo jedinci s chybějícím poklesem hladiny S-VLŘ po intenzivní léčbě [8]. V případě progresu amyloidogenního procesu dochází k časnému vzestupu sérové hladiny monoklonálního VLŘ a indexu κ/λ jako výraz rekurence amyloidogenního plazmocelulárního klonu. Podle United Kingdom Guidelines pro léčbu systémové AL-amyloidózy je nutné dodržet následující zásady:

- a) k rozhodnutí o pokračování léčby znát hladinu S-VLŘ vždy 2 týdny po ukončení každého chemoterapeutického cyklu;
- b) chemoterapie by měla být přerušena, dojde-li k normalizaci hladiny S-VLŘ, nebo k poklesu S-VLŘ alespoň o 50–70 %, je-li přítomna „plateau“ hladina po dobu nejméně 1 měsíce a/nebo jsou-li přítomny projevy toxicity léčby;
- d) nedojde-li po 3 cyklech terapie k významnému poklesu hladiny S-VLŘ, je vhodné chemoterapii přerušit a zvolit alternativní režim [5,22].

Bylo zjištěno, že pokles hladiny S-VLŘ po chemoterapii včetně po VL-ATKB koreluje se zlepšením funkce postižených orgánů lépe než výsledek elektroforézy. U nemocných, u nichž nedojde po VL-ATKB k úplné úpravě celkové hodnoty S-VLŘ, by měla být zahájena další terapie [8]. Pro hodnocení zlepšení praktického výsledku léčby u systémové AL-amyloidózy byla přijata

ta na podkladě konsenzu mezinárodního společenství odborníků v Tours v roce 2005 Hematologická/immunologická kritéria léčebné odezvy, zahrnující i hodnocení hladin S-VLŘ a indexu κ/λ (tab.1). Předložená kritéria umožňují řešit především situace vyznačující se nízkou hodnotou sérové M-komponenty a znemožňující validní sledování poklesu v průběhu léčby [12]. Vyšetřování hladin S-VLŘ by mělo být metodou volby při jakémkoliv podezření na AL-amyloidózu i standardní technikou pro monitorování vývoje této nemoci včetně stavů po VL-ATKB [1].

Table 1. Haematologic (immunochemical) treatment response criteria in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL)

Complete response	Serum and urine negative for a monoclonal protein by immunofixation Free light chain ratio normal Marrow < 5% plasma cells
Partial response	If serum M component > 5 g/l, a 50% reduction If light chain in the urine with a visible peak and 100 mg/day and 50% reduction If free light chain > 100 mg/l and 50% reduction
Progression	From CR, any detectable monoclonal protein or abnormal free light chain ratio (light chain must double) From PR or stable response, 50% increase in serum M protein to > 5 g/l or 50% increase in urine M protein to > 200 mg/day; a visible peak must be present Free light chain increase of 50% to > 100 mg/l
Stable	No CR, no PR, no progression ^a

A consensus opinion from the 10th International symposium on amyloid and amyloidosis [12].

^aCR – complete response; PR – partial response.

Ložisková AL-amyloidóza

V případě ložiskového typu AL-amyloidózy jsou odchylky S-VLŘ i indexu κ/λ podstatně nižší a méně časté než u systémové formy nemoci [36]. Vyšetření S-VLŘ tedy přispívá k odlišení systémové a ložiskové formy, i když u ložiskové formy byly shledány značné rozdíly podle lokalizace i stupně orgánového postižení. Například při postižení skeletu bylo pozorováno zvýšení S-VLŘ v 88 %, u plic ve 23 % a v případě amyloidózy lymfatických uzlin u 31 % nemocných [5].

Méně obvyklé formy monoklonálních gamapatií

Solitární plazmocytom

Představuje pouze 3–5 % plazmocelulárních neoplazií, M-protein je přítomen při použití imunofixační elektroforézy séra nebo koncentrované moče asi u poloviny nemocných. Kostní i extramedulární forma plazmocytomu se vyznačuje patologickými hladinami S-VLŘ při použití kvantitativní imunochemické analýzy asi u 50 % jedinců s tím, že po úspěšné léčbě dochází k významnému poklesu. Hladiny S-VLŘ a indexu κ/λ u solitární vs diseminované formy plazmocytomu

jsou významně odlišné [36]. V případě nedostatečného poklesu hladin S-VLŘ po cílené lokální léčbě je nutno pomýšlet na přítomnost nádorové tkáně i v jiné lokalizaci, např. v rámci multifokálního plazmocytomu [5]. Přetrvávání patologické hodnoty indexu κ/λ po provedené léčbě je provázeno vysokým rizikem maligní transformace a krátkodobým přežitím.

Primární Waldenströмова makroglobulinémie

Zvýšení hladiny S-VLŘ a/nebo abnormální index κ/λ byly pozorovány u 97 % nemocných s Waldenströmovou makroglobulinémií (WM) s projevy hyperviskózního syndromu [5]. Nemocní s aktivní vs doutnající formou MM se vyznačují významně vyšší hladinou S-VLŘ a odchylností indexu κ/λ [36]. Stejně jako u jiných typů maligních MG lze monitorování hladin S-VLŘ využít jako ukazatele pro rychlé hodnocení výsledků léčby, tj. remise a stability léčebné odezvy i k detekci progresu/relapsu choroby a k rozpoznání nebezpečí rozvoje renální insuficience [5].

Nehodgkinské lymfomy B-typu

MIG se vyskytuje u nehodgkinských lymfomů (NHL) při použití standardní elektroforézy séra u 10–15 % nemocných, zatímco abnormální hodnoty S-VLŘ u 13 % nemocných. V případě zhoubného lymfomu plášťové zóny byly shledány patologické hodnoty S-VLŘ u 36 %, ovšem v koncentracích mnohem nižších než u MM [24]. U B-typu CLL mělo detekovatelné S-VLŘ 35 % a u malobuněčného lymfocytárního lymfomu 24 % nemocných [24]. Studie, které by vyhodnotily reálný praktický přínos S-VLŘ jako vhodný biomarker nemoci a jeho význam pro stanovení minimální reziduální nemoci a/nebo prognózu choroby, nejsou zatím k dispozici. Přesto je však zřejmé, že nefelometrické vyšetření VLŘ pomocí specifické imunoeseje zlepšuje – v kombinaci se standardní elektroforetickou a imunofixační analýzou – detekci M-proteinu [24].

Nemoc z depozice lehkých řetězců („light chain deposition disease“)

V případě tohoto raritního onemocnění, postihujícího především ženy středního věku a vedoucího k selhání ledvin, jde především o tkáňovou depozici řetězců typu κ . U některých nemocných se setkáváme s přítomností elektroforeticky či imunofixačně detekovatelného M-proteinu v séru nebo v moči. Zveřejněná studie našla v souboru 19 nemocných přítomnost S-VLŘ u 89 % jedinců a ověřila přínos monitorování sérových hladin v průběhu léčby [5, 17].

Monoklonální gamapatie nejistého významu

Monoklonální gamapatie nejistého významu (MGNV) tvoří 60 % všech MG a její výskyt narůstá významně s věkem. Vzhledem k tomu, že asi 1 % jedinců s MGNV přechází ročně v některou z jednotek z maligního spektra MG, vyžaduje klinická praxe vytyčení rizikových faktorů brzké maligní transformace. Vedle výše M-komponenty, IgM a IgA typu M-proteinu patří k významným předpovědním ukazatelům zhoubného vývoje i přítomnost exkrece monoklonálních LŘ močí

[7, 19, 20]. Poněvadž množství VLŘ v moči závisí do značné míry i na stupni renálního katabolismu, obrátila se pozornost badatelů k otázce hodnocení hladin VLŘ v séru jako vhodného ukazatele progresu, který eliminuje podíl případné „renální komponenty“ [37]. Bylo zjištěno, že 48–80 % sér jedinců s MGNV se vyznačuje abnormální hodnotou indexu κ/λ a 40–87 % vzestupem S-VLŘ [36, 37]. Ukázalo se, že i když index κ/λ se u MGNV a iniciálních stadií MM do značné míry překrývá, má výše koncentrace monoklonálního S-VLŘ a zejména patologického indexu κ/λ prediktivní význam pro pravděpodobnost maligní transformace, a to bez ohledu na výši S-MIG [29]. V případě progresu MGNV v některou z maligních forem MG v průběhu 5 let byly koncentrace S-VLŘ zvýšeny u 30 % pacientů a odchýlný index κ/λ mělo dokonce 67 % nemocných, zatímco v souboru jedinců bez známek maligní transformace bylo přítomno zvýšení monoklonálního S-VLŘ a/nebo abnormální index κ/λ pouze u 22 % nemocných. Index relativního rizika progresu má v případě odchýlného indexu κ/λ hodnotu 2,6, zatímco v případě zvýšené hodnoty monoklonálního S-VLŘ je 1,9 [29]. Výsledky kvantitativní imunochemické analýzy hladin S-VLŘ přivodily i změnu pohledu na existenci „idiopatické“ B-J proteinurie, neboť u těchto stavů bylo zjištěno současné zvýšení hladiny monoklonálního S-VLŘ a abnormální hodnota indexu κ/λ [5]. V případě „idiopatické B-J proteinurie“ jde zřejmě o vzácnou existenci MGNV s izolovanou přítomností monoklonálního typu volného lehkého řetězce κ nebo λ (B-J, respektive VLŘ-MGNV), nebo o doposud „pohřešovanou“ preklinickou fázi MM B-J typu nebo AL-amyloidózy [5, 18].

Bylo zjištěno, že nemocní s MGNV mají odlišný vývoj a odlišnou dobu do progresu podle výše hladiny S-VLŘ [20, 17, 18]. Rovněž abnormální hodnota indexu κ/λ je v případě MGNV nepříznivým ukazatelem klonální evoluce plazmocytů, s 2,5krát vyšším rizikem neoplastické transformace [29]. Přítomnost monoklonálního VLŘ v séru a patologického indexu κ/λ je vedle angiogeneze a přítomnosti klonálních plazmocytů v cirkulaci jedním z mála ukazatelů upozorňujících nejen na zvýšené riziko progresu, ale přispívající i k poznání patogeneze MGNV [29]. Podle studie provedené na Mayo klinice lze nemocné s MGNV rozdělit z hlediska rizika maligní transformace podle přítomnosti abnormálního indexu κ/λ , jiného než IgG izotypu MIG a hodnoty MIG ≥ 15 g/l do 3 rizikových skupin, tj. do skupiny s nízkým, středním a vysokým rizikem maligní transformace v průběhu 20 let (58, 37 a 21 % nemocných), zatímco v případě nepřítomnosti žádného z uvedených rizikových faktorů pouze u 5 % jedinců [29].

Příspěvek hodnocení S-VLŘ k diferenciální diagnostice

Z dosavadních zkušeností vyplývá, že hodnocení sérových hladin VLŘ a zejména indexu κ/λ lze využít i při řešení etiologicky nevyřešených stavů, např. nejasných bolestí, ložiskových lézí a patologických zlomenin skeletu, v případě nejasného poškození renální funkce (paraproteinemická a amyloidová nefropatie), v diagnostice AL-amyloidové kardiomyopatie a neuro-

patie, při řešení nejasného imunodeficientního stavu, k odlišení AL od AA typu amyloidózy, k objasnění nejasné hepatosplenomegalie a tumoru měkkých tkání, či v případě podezření na MG u nejednoznačného histologického hodnocení kostní dřeně [5].

Závěr

Z předloženého sdělení vyplývá, že hodnocení hladin monoklonálních S-VLŘ pomocí automatizované imunochemické analýzy se stalo přínosnou, metodicky snadno dostupnou a pohotovou metodou každodenní klinické praxe, která významně rozšiřuje dosavadní algoritmus parametrů používaných v diagnostice a monitorování léčby monoklonálních gamapatií. Ukazuje se, že hodnocení hladin S-VLŘ významně urychluje a zpřesňuje možnosti aktuálního hodnocení vývoje stavu a umožňuje pružnou úpravu nastavené léčby. Zavedení moderních metod pro kvantifikaci VLŘ v séru tak otevřelo bránu k novým aplikacím a ke zvýšení jejich klinického významu v rozpoznání i sledování vývoje prakticky všech MG [5].

Literatura

1. **Abraham, R. S., Katzmann, J. A., Clark, R. C., Bradwell, A. R., Kyle, R. A., Gertz, M. A.** Quantitative analysis of serum free light chains. A new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2003, 119, p. 274–278.
2. **Adam, Z., Česká myelomová skupina** Doporučení pro diagnostiku a léčbu mnohočetného myelomu. *Transfuz. Hematol. dnes*, 2003, 9, p. (S1) 3–33.
3. **Adam, Z., Krejčí, M., Hájek, R.** Mnohočetný myelom a další plasmocelulární malignity. In Adam, Z., Vorlíček, J., Vaniček, J. et al. Diagnostické a léčebné postupy u maligních chorob. 1. vyd., Praha: Grada Publishing 2002, s. 515–529.
4. **Bradwell, A. R., Carr-Smith, H. D., Mead, G. P. et al.** Highly sensitive automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin. Chem.*, 2001, 47, p. 637–680.
5. **Bradwell, A. R.** Serum free light chain analysis. 4th edit. Birmingham: The Binding Site Ltd. 2006, 285 p.
6. **Bradwell, A. R., Mead, G. P., Carr-Smith, H. D., Drayson, M. T.** Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet*, 2003, 361, p. 489–491.
7. **Cesana, C., Klersy, C., Barbarano, L. et al.** Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smouldering multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.*, 2002, 20, p. 1625–1634.
8. **Dispenzieri, A., Lacy, M. Q., Katzmann, J. A. et al.** Absolute values of immunoglobulin free light chains are prognostic in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*, 2006, 107, p. 3378–3383.
9. **Drayson, M. T., Tang, L. X., Drew, R., Mead, G. P., Carr-Smith, H. D., Bradwell, A. R.** Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood*, 2001, 97, p. 2900–2902.
10. **Durie, B. G. M., Harousseau, J.-L., Miguel, J. S. et al.** International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006, 20, p. 1467–1473.

11. Engliš, M. Stanovení volných lehkých řetězců imunoglobulinů v séru v diagnostice a monitorování monoklonálních gamapatií. Dostupné na WWW: http://www.cskb.cz/vzdelavani/light_chain.htm.
12. Gertz, M. A., Comenzo, R., Falk, R. H. et al. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International symposium on amyloid and amyloidosis. *Am. J. Hematol.*, 2005, 79, p. 319–328.
13. Gysel, M. V., Mariën, G., Verhoef, G., Delforge, M., Bossuyt, X. Free light chain testing in follow-up in multiple myeloma. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2006, 44, p. 1044–1046.
14. Hill, P. G., Forsyth, J. M., Rai, B., Mayne, S. Serum free light chains: an alternative to the urine Bence Jones proteins screening test for monoclonal gammopathies. *Clin. Chemistry*, 2006, 52, p. 1743–1748.
15. Hutchison, C. A., Cockwell, P., Reid, S. et al. Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma: in vitro and in vivo studies. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2007, 18, p. 886–895.
16. International Myeloma Working Group Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International myeloma working group. *Brit. J. Haematol.*, 2003, 121, p. 749–757.
17. Katzmann, J. A., Clark, R. J., Abraham, R. S. et al. 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.
18. Katzmann, J. A., Dispenzieri, A., Kyle, R. A. et al. Elimination of the need for urine studies in the screening algorithm for monoclonal gammopathies by using serum immunofixation and free light chain assays. *Mayo Clin. Proc.*, 2006, 81, p. 1575–1578.
19. Kyle, R. A., Therneau, T. M., Rajkumar, S. V. et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *New Eng. J. Med.*, 2002, 346, p. 564–569.
20. Kyle, R. A., Therneau, T. M., Rajkumar, S. V. et al. Long-term follow-up of IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2003, 102, p. 3759–3764.
21. Kyrtonis, M. C. H., Vassilakopoulos, T. P., Kafasi, N. et al. Prognostic value of serum free light chain ratio at diagnosis in multiple myeloma. *Brit. J. Haematol.*, 2007, 137, p. 240–243.
22. Lachmann, H. J., Gallimore, R., Gillmore, J. D. et al. Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy. *Brit. J. Haematol.*, 2003, 122, p. 78–84.
23. Malpas, J. S., Cavenagh, J. D. Clinical presentation, laboratory diagnosis, and indications for treatment. In Malpas, J. S., Bergsagel, D. E., Kyle, R. A. et al. *Myeloma Biology and Management*. 3rd edit. Philadelphia: Saunders 2004, p. 159–173.
24. Martin, W., Abraham, R., Shanafelt, T. et al. Serum – free light chain – a new biomarker for patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Translation Research*, 2007, 149, p. 231–235.
25. Mehta, J., Stein, R., Vickrey, E., Fellingham, S., Singhal, S. The relationship between serum free light chain assay and serum immunofixation electrophoresis. *Haematologica*, 2007, 92, p. (S2)203–204.
26. Mead, G. P., Carr-Smith, H. D., Drayson, M. T., Morgan, G. J., Child, J. A., Bradwell, A. R. Serum free light chains for monitoring multiple myeloma. *Brit. J. Haematol.*, 2004, 126, p. 348–354.
27. Mösbauer, U., Ayuk, F., Schieder, H., Lioznov, M., Zander, A. R., Kröger, N. Monitoring serum free light chains in patients with multiple myeloma who achieved negative immunofixation after allogeneic stem cell transplantation. *Hematologica*, 2007, 92, p. 275–276.
28. Nowrouzian, M. R., Brandhorst, D., Daniels, R. et al. Free light-chain measurement in serum compared with immunofixation of urine in patients with multiple myeloma. *Blood*, 2003, 102, p. A-5197.
29. Rajkumar, S. V., Kyle, R. A., Therneau, T. M. et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2005, 106, p. 812–817.
30. Raubenheimer, E. J., Dauth, J., Senekal, J. C. Non-secretory IgA-κ myeloma with distended endoplasmic reticulum: a case report. *Histochemistry*, 1991, 19, p. 380–382.
31. Reilly, B. M., Clarke, P., Nikolinos, P. Easy to see but hard to find. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 348, p. 59–64.
32. Rhee, F. V., Bolejack, V., Hollming, K. et al. High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood*, 2007, 110, p. 827–832.
33. Shaw, G. R. Nonsecretory plasma cell myeloma – becoming even more rare with serum free light-chain assay. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2006, 130, p. 1212–1215.
34. Sheehan, T., Sinclair, D., Tansey, P., O'Donnell, J. R. Demonstration of serum monoclonal immunoglobulin in a case of non-secretory myeloma by immunoelectrophoresis. *J. Clin. Pathol.*, 1985, 38, p. 806–809.
35. Sirohi, B., Powles, R., Kulkarni, S. et al. Serum free light chain assessment in myeloma patients who are in complete remission (CR) by immunofixation predicts early relapse. *Blood*, 2003, 102, p. A-5195.
36. Ščudla, V., Minařík, J., Schneiderka, P. et al. Význam sérových hladin monoklonálních volných lehkých řetězců imunoglobulinu v diagnostice a hodnocení aktivity mnohočetného myelomu a vybraných monoklonálních gamapatií. *Vnitř. Lék.*, 2005, 51, s. 1249–1259.
37. Tate, R. J., Gill, D., Cobcroft, R., Hickman, P. E. Practical considerations for the measurement of free light chains in serum. *Clin. Chem.*, 2003, 49, p. 1252–1257.
38. Tichý, M. *Laboratorní analýza monoklonálních imunoglobulinů (paraproteinů)*. Český Těšín: FINIDR 1997, 96 s., ISBN 80-902022-1-7.
39. Walker, R., Rasmussen, E., Cavallo, E. et al. Correlation of suppression of FDG PET uptake with serum free light chain levels – both FDG PET-CT and serum clonal free light chain response precede and predict the likelihood of subsequent complete remission in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood*, 2005, 106, p. A-3493.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR- NR 3500-3 a VVZ MSM 6198959205.

Do redakce došlo 12. 2. 2008.

Adresa pro korespondenci:
Prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.
3. interní klinika LF UP a FN Olomouc
I. P. Pavlova 6
775 20 Olomouc
e-mail: vlastimil.scudla@fnol.cz